

Charlotte Wetzel

Dr. med. dent.

## **Neue Wirkmechanismen von Anserin: Hydrogendisulfid-Synthese und Schutz der zellulären Integrität**

Fach/Einrichtung: Kinderheilkunde

Doktormutter: Prof. apl. Dr. rer. nat. Verena Peters

In dieser Dissertationsarbeit wurden zwei neue Wirkmechanismen von Anserin aufgezeigt: Zum einen die Induktion der Hitzeschockprotein 70 (HSP70) -vermittelten Synthese von Hydrogendisulfid ( $H_2S$ ), welches verschiedene protektive Effekte besitzt, und zum anderen die Aufrechterhaltung der Integrität der epithelialen und endothelialen Zellbarriere.

In Anbetracht der in der Literatur bekannten gemeinsamen Interaktion mit HSP70 wurde eine mögliche Interaktion beider Dipeptide Anserin und Carnosin mit  $H_2S$  untersucht, experimentelle Daten zeigen eine protektive Wirkung von  $H_2S$  bei Diabetes mellitus, in klinischen Studien werden Thiosulfate als  $H_2S$ -Donatoren bereits bei kardialen Erkrankungen geprüft. Die Untersuchungen zum Einfluss von Anserin und Carnosin auf die HSP70- und  $H_2S$ -Achse erfolgten in renalen Tubulusepithel- und verschiedenen Endothelzellen, die weitestgehend den gesamten Gefäßbaum abbilden. Die Inkubation mit Anserin steigerte die  $H_2S$ -Synthesekapazität in allen untersuchten Zelllinien. Der Gasotransmitter  $H_2S$  reduzierte dosisabhängig die Abbauraten von Anserin und Carnosin durch die Serum- und rekombinante Carnosinase 1. Der endotheliale *Hsp70-Knock-Out* (KO) reduzierte die  $H_2S$ -Bildung und hob die Stimulation durch Anserin auf, welche jedoch durch eine *Hsp70*-Transfektion wiederhergestellt werden konnte.

Die *in vivo* Relevanz wurde in Nierengewebe von Mäusen mit *Hsp70*-KO und Carnosinase 1-KO nachgewiesen. Durch die selektiven KOs konnten spezifisch verringerte HSP70-Konzentrationen bzw. spezifische bis zu zehnfach erhöhte Anserin- und Carnosinkonzentrationen im Mausmodell erzielt werden. Bei weiblichen *Hsp70*-KO-Mäusen war die renale  $H_2S$ -Bildung um die Hälfte vermindert. Im Gegensatz dazu war die  $H_2S$ -Bildungskapazität der Nieren bei weiblichen Carnosinase 1-KO-Mäusen zwei- bis dreifach erhöht und korrelierte mit den Anserin- und Carnosinkonzentrationen. Bei diabetischen Carnosinase 1-KO-Mäusen waren die renalen Anserin- und Carnosinkonzentrationen sowie die

H<sub>2</sub>S-Bildungskapazität im Vergleich zu den nicht-diabetischen Wurfgeschwistern deutlich reduziert.

Unter MG-Stress stärkte die Behandlung mit Anserin die zelluläre Barriere und bot den besten Schutz vor Desintegration und Dysfunktion der Epithel- und Endothelbarriere, die durch Carbonylstress verursacht wurden. Anserin verhinderte die durch MG-induzierte Abnahme der transepithelialen und -endothelialen Resistenz sowie die Zunahme des transzellulären Transports. Aminoguanidin, ein bekannter MG-Auslöser, milderte den MG-induzierten Verlust der transendothelialen Resistenz nicht. Die MG-induzierten Störungen des *tight junction*-Proteins Zonula occludens 1 konnten *in vitro* erfolgreich durch Anserin verhindert werden, und die Bildung von Methylglyoxal-Hydroimidazolone Isomer 1 (einem Proteinaddukt unter MG-Stress) konnte auf Kontrollniveau reduziert werden.

Die hier vorliegende Arbeit zeigt erstmals die Bedeutung der Methylierung Histidin-haltiger Dipeptide auf. Die Experimente mit den jeweiligen Aminosäuren und die erhöhte Wirksamkeit von Anserin im Vergleich zu Carnosin verdeutlichen, dass nicht nur eine generelle Methylierung des Histidin-Bausteins von Anserin, sondern vielmehr die spezifische Position der Methylierung des Imidazolrings des Histidinanteils für die Wirksamkeit von Anserin beim Schutz vor MG-induzierten Verletzungen essenziell ist.

In allen Untersuchungen zeigte sich Anserin wirksamer als Carnosin. Die positive Rückkopplung von H<sub>2</sub>S, die den Abbau von Anserin und Carnosin durch die Carnosinase 1 hemmt, sowie die HSP70-spezifische H<sub>2</sub>S-Synthese und barriere-stabilisierenden Effekte beider Dipeptide, aber besonders Anserin, könnte die Wirksamkeit therapeutischer Interventionen mit Anserin, Carnosin und H<sub>2</sub>S-Donatoren erhöhen. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass die Funktion von Dipeptiden über die Funktion als reine Donatoren ihrer entsprechenden Aminosäurebausteine hinausgeht. Spezifische Dipeptide, und besonders Anserin, könnten daher einen innovativen therapeutischen Ansatz für Krankheiten darstellen. Die Eignung von Dipeptiden als Arzneimittel muss noch tiefergehend in Tiermodellen getestet werden, um ihre Wirkungen auf der Ebene eines gesamtfunktionellen Organismus besser zu verstehen.