

Friederike Pfisterer

Dr. med.

Das Glyoxalase-1-Homolog vermindert die mitochondriale Proteinmodifikation und verlängert die Lebensspanne in *Ceanorhabditis elegans*

Geboren am 11.05.1979 in Freudenstadt

Staatsexamen am 03.05.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. P.P.Nawroth

Advanced Glycation End Products (AGEs) werden in der Literatur im Zusammenhang mit Erkrankungen wie Diabetes mellitus, Urämie und Atherosklerose als entscheidende Faktoren in der Pathogenese beschrieben. In *C. elegans* ist mit zunehmendem Lebensalter eine Akkumulation von AGEs, z.B. CEL und CML, quantitativ nachweisbar. Die Bildung dieser AGEs erfolgt beschleunigt unter hyperglykämischen Kulturbedingungen, einhergehend mit einer Verkürzung der Lebensspanne.

In dieser Arbeit wurde untersucht, ob die Bildung von AGEs und die Aktivität der Glyoxalase-1 als AGE-Vorstufen abbauendes Enzym kausal an der Begrenzung und Bestimmung der Lebensspanne beteiligt sind. Mit zunehmendem Lebensalter konnte in Wildtyp *C. elegans* eine Akkumulation von AGEs (CML, CEL, Nitrotyrosin) nachgewiesen werden. Unter hyperglykämischen Bedingungen (300mM Glucose) war die AGE-Bildung signifikant gesteigert, einhergehend mit einer Verkürzung der Lebensspanne. Nach Identifikation eines Homologs der Glyoxalase-1 in *C. elegans* (CeGly) wurden CeGly überexprimierende *C. elegans* hergestellt, die eine deutlich gesteigerte enzymatische Aktivität der Glyoxalase-1 aufwiesen. Dies führte auch zu einer gesteigerten Akkumulation von d-Laktat als Endprodukt des Glyoxalase-Pathways, gleichzeitig war die Bildung von von Methylglyoxal abgeleiteten AGEs (MG-H1, CEL) und von CML signifikant vermindert. Damit einhergehend war eine signifikant verlängerte Lebensspanne nachweisbar. Mit Hilfe der RNA-Interferenztechnik wurde gezeigt, dass die Ausschaltung des Glyoxalase-1-Homologs (CeGly) in *C. elegans* neben einer Akkumulation von AGE's (CML, CEL, Methylglyoxal) zur Verkürzung der Lebensspanne bei Wildtyp *C. elegans* bzw. zur Aufhebung des lebensverlängernden Effekts durch CeGly Überexpression führt. Transgene *C. elegans* können somit durch suffiziente Detoxifikation auch unter hyperglykämischen Bedingungen

(Glucose 300mM) die Akkumulation von Methylglyoxal und die Induktion von oxidativem Stress reduzieren, sind besser vor oxidativem Stress geschützt und leben länger. In *daf-2* RNA<sub>i</sub> Versuchen in CeGly überexprimierenden transgenen *C. elegans* wurde gezeigt, dass ein additiver Effekt in Bezug auf die Verlängerung der Lebensspanne auftritt. Dies belegt, dass der Glyoxalase-1 Pathway von der Insulinsignaltransduktionskaskade als einem der wichtigsten Mechanismen zur Determinierung der Lebensspanne unabhängig ist.

Die Modifikation mitochondrialer Proteine durch MG-H1, einem von Methylglyoxal abgeleiteten AGE-Protein, konnte in den Mitochondrien an Komplex III lokalisiert werden, einhergehend mit einer verstärkten Bildung von ROS. Glyoxalase-1 Überexpression schützt vor dieser mitochondrialen Proteinmodifikation. Mit Hilfe von FCCP und Myxothiazol konnte der mitochondriale Komplex III als wichtigster Ort der Superoxidbildung identifiziert werden.