

Sulfite Metabolism in Health and Disease: Biogenesis, Biochemical Changes and Mitochondrial Morphology

Zusammenfassung

Isolierte Sulfitoxidase Defizienz (ISOD) und Molybdän-Cofaktor-Defizienz (MoCD) sind autosomal rezessiv vererbte Stoffwechselstörungen, die durch fortschreitend schwere, neurodegenerative Symptome wie pharmakoresistente Anfälle gekennzeichnet sind und häufig zum frühen Kindheitstod führen. Die molekulare Ursache für beide Erkrankungen ist der Verlust des mitochondrialen Enzyms Sulfitoxidase (SO), welches den letzten Schritt im Cysteinkatabolismus, die Oxidation von Sulfit zu Sulfat, katalysiert. Sulfit ist ein starkes Nukleophil und wird seit langem als Zellgift betrachtet. Es ist bekannt, dass Sulfit durch die Reaktion mit Cystin das Neurotoxin S-Sulfocystein (SSC) bildet, welches eine wichtige Rolle bei der bei SO-Defizienz beobachteten Neurodegeneration spielt.

Trotz neuen Erkenntnissen gibt es jedoch noch viele offene Fragen bezüglich des zellulären Sulfit-Stoffwechsels: Erstens ist unklar, welches Enzym des Cysteinkatabolismus für die Biogenese von Sulfit verantwortlich ist. Zweitens ist zwar allgemein bekannt, dass Sulfit mit Disulfiden unter Bildung von S-Sulfonaten reagiert, jedoch ist der Einfluss dieser Reaktionen auf das zelluläre Redox-Gleichgewicht unbekannt. Schließlich ist, trotz erster Hinweise, dass Sulfit den Energiestoffwechsel der Mitochondrien beeinträchtigen kann, die genaue Wirkung von Sulfit auf Mitochondrien unzureichend definiert. In dieser Arbeit wurden daher diese drei wichtigen Aspekte des Sulfit-Stoffwechsels genauer untersucht.

Zunächst wurde ein umfassender Übersichtsartikel über den zellulären Cysteinkatabolismus angefertigt (Kapitel II). Dabei wurden Verbindungen zwischen Sulfit Stoffwechsel und einem zweiten Zweig des Cysteinstoffwechsels, die H₂S Homöostase, herausgearbeitet und dadurch die theoretische Basis für die weiteren experimentellen Arbeiten geschaffen.

Es wurde bereits vermutet, dass die beiden Glutamat-Oxaloacetat-Transaminase Isoenzyme GOT1 (zytosolisch) und GOT2 (mitochondrial) zur zellulären Sulfitproduktion beitragen könnten. Mit Hilfe einer verbesserten Sulfit-Nachweismethode und neu erzeugten Zelllinien konnte das zytosolische Protein GOT1 als Hauptproduzent von Sulfit identifiziert werden (Kapitel III). Um mögliche Auswirkungen der Sulfit-Akkumulation auf die Regulation des Cysteinkatabolismus zu untersuchen, wurden darüber hinaus Expressionsstudien von Schlüsselenzymen des Cysteinkatabolismus durchgeführt. Diese Studien zeigten eine Deregulation des zellulären Cysteinkatabolismus in SO-defizienten Zellen und deckten auf, dass mitochondriales GOT2 zu erhöhten H₂S Leveln in SO-defizienten Zellen beiträgt.

Was den Einfluss von Sulfit auf das Redox-Gleichgewicht betrifft, so werden in Kapitel IV zwei neue Mechanismen beschrieben, wie Sulfit die zelluläre Glutathion-Homöostase zelltypspezifisch beeinflusst. Zum einen wurde ein Sulfit-induzierter Anstieg von zellulärem Glutathion festgestellt, der von der Aufnahme von SSC über den x_c⁻ Antiporter abhing. Andererseits schützte die Behandlung mit Sulfit vor der Glutathion-Oxidation bei akutem H₂O₂-Stress, wahrscheinlich durch die Reaktion mit oxidiertem Glutathion zu S-sulfonyliertem Glutathion, was zu einer schnelleren Wiederherstellung von reduziertem Glutathion führte.

Zuletzt wurde die Wirkung von Sulfit auf Mitochondrien in Kapitel V analysiert. Es wurde festgestellt, dass Mitochondrien in Zellkulturmodellen der SO-Defizienz veränderte morphologische Merkmale und eine beeinträchtigte ATP-Produktion aufweisen. Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass Sulfit die Morphologie der Mitochondrien dosisabhängig

verändert, indem es bei Konzentrationen unter 50 μM ein hypertubuläres mitochondriales Netzwerk, bei höheren Konzentrationen die mitochondriale Fragmentierung und schließlich den Zelltod induziert. Diese Befunde charakterisieren daher zusammengefasst MoCD und ISOD als neuartige mitochondriale Krankheiten.