

Stefanie Lippl
Dr. med.

Charakterisierung des neuen Sarkomerproteins Calsarcin-2 -*in vivo*- Mögliche Bedeutung für die Pathogenese von Skelettmuskelerkrankungen

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Norbert Frey

Die Fasertypzusammensetzung der Skelettmuskulatur unterliegt einem dynamischen-regulatorischen Prozess, der eng an physiologische Gegebenheiten und Erfordernisse gekoppelt ist. Die Serin-Threonin-Phosphatase Calcineurin und ihre Zielproteine, die Transkriptionsfaktoren der NFAT-Familie, spielen eine bedeutende Rolle bei diesem Prozess, indem sie die Bildung von langsamen oxidativen, sogenannten „slow twitch“ Fasern induzieren. Calcineurin bindet an die Calsarcine, eine Familie spezifisch in quergestreifter Muskulatur exprimierter Proteine, welche an die sarkomerische Z-Scheibe lokalisieren. Um die Funktion der Calsarcins im Skelettmuskel *in vivo* aufzuklären, generierten wir Mäuse mit einer Defizienz für die in schnellen Muskelfasern exprimierte Isoform Calsarcin-2 (CS2). Interessanterweise zeigten CS2-„knockout“-Mäuse, trotz signifikant geringerem Körpergewicht und ebenfalls signifikant reduziertem Gewicht von Muskeln mit vorwiegend schnellen Fasern, bei histopathologischen Untersuchungen keinen Anhalt für einen klinisch relevanten myopathischen Phänotyp. Das Vorliegen einer gesteigerten Atrophieeigung konnte mittels Denervation durch Teilresektion des N. ischiadicus ausgeschlossen werden. Erstaunlicherweise zeigten hingegen Calsarcin-2-defiziente Mäuse im „treadmill“- bzw. Laufband-Experiment eine wesentliche Zunahme der Laufdistanzen, was wiederum konsistent ist mit einem „Ausdauer-Phänotyp“. Immunfluoreszenz-Analysen der CS2KO-Mäuse zeigten zusätzlich Unterschiede in der Fasertypzusammensetzung der Skelettmuskeln, eine Fasertypverschiebung von schnellen Typ II-, hin zu langsam Typ Ila- bzw. I-Fasern. Dieser Effekt ist womöglich auf die Zunahme der Calcineurin-Aktivität zurückzuführen. *In vitro*-Luciferase-Assays bestätigten die inhibitorische Funktion von Calsarcin-2 auf konstitutiv aktives und pharmakologisch aktiviertes Calcineurin in kultivierten Myoblasten. Übereinstimmend mit den *in vitro* Daten zeigten CS2-Mutanten zudem einen signifikanten Anstieg der Genexpression Calcineurin-abhängiger Transkriptionsfaktoren. Sowohl Rcan1-4 als auch nukleäres NFATc4, die beide Zielproteine der Phosphatase sind und damit Indikatoren für eine verstärkte Calcineurin Aktivität *in vivo* sind, waren signifikant hochreguliert. Um zu überprüfen, ob eine Calsarcin-2 Defizienz auch mit negativen Effekten assoziiert ist, kreuzten wir die CS-2KO-Mäuse in ein Mausmodell mit einem muskeldystrophischen Phänotyp, die sogenannte mdx-Maus. Hier führte die Calsarcin-2-Defizienz zu einer Exazerbation der funktionellen Beeinträchtigung der mdx-Mäuse, die schließlich in einem zunehmenden Funktionsverlust resultierte.

Zusammenfassend postulieren wir, dass Calsarcin-2 die Ausdauerleistung *in vivo* via Regulation der Calcineurin/NFAT-Aktivität und daraus folgend die Fasertypzusammensetzung der Skelettmuskulatur moduliert. Jedoch geht die verstärkte Fähigkeit zu Ausdauerleistungen der Calsarcin-2-defizienten Tiere auf Kosten einer zunehmenden Anfälligkeit für Muskeldystrophien.