

Robert Christian Frauen

Dr. med.

Modulation myokardialer Hypertrophie durch das neue LIM-Domänen Protein Dyxin / LIM and cysteine-rich domains 1 *in vivo*

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Norbert Frey

Das Herz reagiert auf unterschiedliche physiologische und pathologische Belastungen mit der Entwicklung von Hypertrophie. Diese Zunahme an Muskelmasse ermöglicht zunächst die Aufrechterhaltung der kardialen Funktion. Zahlreiche klinische Studien haben jedoch gezeigt, dass die kardiale Hypertrophie im Langzeitverlauf einen unabhängigen Risikofaktor für ungünstige Folgeerscheinungen wie Herzinsuffizienz und Arrhythmien darstellt und die Mortalität erhöht. Kardiale Hypertrophie geht mit charakteristischen zellulären Veränderungen einher, führt zur Aktivierung eines typischen Genprogramms und beinhaltet letztendlich einen Umbauprozess der gesamten Organarchitektur. Die der kardialen Hypertrophie zugrundeliegenden intrazellulären Signalkaskaden sind in den letzten Jahren zunehmend entschlüsselt worden. Eine der zentralen Regulationsmechanismen der kardialen Hypertrophie ist der Signalweg über die Phosphatase Calcineurin. Daneben spielen eine Vielzahl weiterer Mechanismen eine Rolle, die ein komplexes Netzwerk aus sich gegenseitig modulierenden Signalkaskaden bilden. Dyxin/LMCD1 ist ein neuer Regulator der kardialen Hypertrophie. Dieses zuvor wenig untersuchte Protein gehört zur Familie der LIM-Domänen Proteine. Vertreter aus der Proteinfamilie nehmen vor allem durch Protein-Protein-Interaktionen mittels ihrer LIM-Domäne Einfluss auf eine Vielzahl von zellulären Prozessen in den unterschiedlichsten Organen. Aus umfangreichen Vorarbeiten mit Kardiomyozyten in Zellkultur war uns bekannt, dass Dyxin/LMCD1 sowohl hinreichend als auch notwendig für die Entwicklung von Hypertrophie *in vitro* ist. Darüber hinaus hatten die Vorversuche in Kardiomyozyten gezeigt, dass der Mechanismus, über den Dyxin/LMCD1 auf den hypertrophen Umbauprozess einwirkt, eine Aktivierung des Calcineurin-Signalweges beinhaltet. Dyxin/LMCD1 war in unseren mikroskopischen Untersuchungen unter anderem an der Z-Scheibe lokalisiert, einem elementar wichtigen Strukturelement der Sarkomere. In den letzten Jahren hat sich gezeigt, dass die Z-Scheibe komplexe Funktionen aufweist und dass Proteine der Z-Scheibe in diverse intrazelluläre Signalkaskaden involviert sind. In dieser Arbeit wurde der Einfluss von Dyxin/LMCD1 auf die Entwicklung von kardialer Hypertrophie *in vivo* untersucht. Dazu generierten wir transgene Mäuse mit myokardspezifischer Überexpression von Dyxin/LMCD1. In mehreren Linien unserer transgenen Tiere konnten wir eine stabile Überexpression von Dyxin/LMCD1 nachweisen. Durch die mikroskopische Untersuchung von Myokardschnitten aus den Herzen transgener Tiere haben wir gezeigt, dass Dyxin/LMCD1 auch bei Überexpression vorwiegend an der Z-Scheibe und am Sarkolemm lokalisiert ist. Dyxin/LMCD1 führte zur Entwicklung einer signifikanten kardialen Hypertrophie, die mit zunehmendem Alter der transgenen Tiere weiter zunahm. Es lag eine vermehrte Bildung von typischen Vertretern des hypertrophen Genprogramms vor. Eine Einschränkung der myokardialen Funktion der Dyxin/LMCD1-

transgenen Tieren in der Echokardiographie beobachteten wir hingegen nicht. Wir konnten zeigen, dass Dyxin/LMCD1 auch im Kontext von kardialer Hypertrophie *in vivo* eine Aktivierung des Calcineurin-Signalweges bewirkt. Zudem bestätigten wir *in vitro* durch mehrere experimentelle Ansätze das Zusammenspiel zwischen Dyxin/LMCD1 und dem Calcineurin-Signalweg in der Vermittlung der hypertrophen Reaktion auf verschiedene Stimuli. Obwohl Dyxin/LMCD1 als LIM-Domänen Protein zur Interaktion mit anderen Proteinen in der Lage ist, konnten wir keine direkte Bindung an Calcineurin zeigen. Wir gehen deshalb von einem indirekten Mechanismus aus, über den Dyxin/LMCD1 den Calcineurin-Signalweg aktiviert. Die in der Literatur beschriebene intranukleäre Wirkung von Dyxin/LMCD1 konnten wir im Rahmen der Vermittlung von kardialer Hypertrophie nicht bestätigen. Wir nehmen daher an, dass Dyxin/LMCD1 in unterschiedlichen Kontexten verschiedene intrazelluläre Lokalisationen aufweisen kann. Calcineurin-transgene Tiere haben einen starken kardialen Phänotyp mit erheblicher Hypertrophie. Wir kreuzten dieses Tiermodell für kardiale Hypertrophie mit unserer Dyxin/LMCD1-transgenen Linie. Dieses führte zu einer Exazerbation des kardialen Phänotyps in den doppelt-transgenen Tieren, was für einen potenten Einfluss von Dyxin/LMCD1 auf den hypertrophen Umbauprozess spricht. Insbesondere kam es im Vergleich zu den jeweils einfach transgenen Tieren zu einer erheblichen kardialen Funktionseinschränkung der doppelt-transgenen Tiere in der Echokardiographie. Mutationen in diversen an der Z-Scheibe lokalisierten Proteinen und in mehreren kardialen LIM-Domänen Proteinen sind als Auslöser von Kardiomyopathien bekannt. Aus diesem Grund und unter Berücksichtigung der Erkenntnisse über die kardiale Funktion von Dyxin/LMCD1 stellen wir die Vermutung auf, dass auch Mutationen in Dyxin/LMCD1 eine kausale Ursache in der Pathogenese von Kardiomyopathien haben könnten. Zusammenfassend haben wir die in der Fragestellung postulierte Wirkung von Dyxin/LMCD1 auf die kardiale Hypertrophie unter Beteiligung von Calcineurin *in vivo* bestätigt. Mit der Charakterisierung der kardialen Funktion von Dyxin/LMCD1 *in vivo* haben wir das Verständnis der intrazellulären Regulationsmechanismen kardialer Hypertrophie erweitert. Zur Untersuchung der Frage, ob die Wirkung Dyxin/LMCD1 obligatorisch für die Entwicklung von kardialer Hypertrophie *in vivo* ist, bietet sich die Generierung und Charakterisierung von Dyxin/LMCD1-Knockout-Mäusen im Anschluss an diese Arbeit an. Zudem sind weitere Untersuchungen zur Aufdeckung des genauen Mechanismus, über den Dyxin/LMCD1 seine kardialen Wirkungen entfaltet, erforderlich.