

Carolin Lerchenmüller  
Dr. med.

## **S100A1: Ein zentraler Regulator postischämischer Angiogenese im Mausmodell**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Hugo A. Katus

Es war das Ziel der vorliegenden Arbeit, den Einfluss des kalziumbindenden Proteins S100A1 auf die postischämische Angiogenese zu untersuchen. Grundlage der vorliegenden Arbeit waren Studien von Pleger et al. (2008) und Desjardins et al. (2009), die zeigten, dass S100A1, durch die Erhöhung der IP<sub>3</sub>-vermittelten Ca<sup>2+</sup>-Freisetzung aus dem Endoplasmatischen Retikulum und damit Aktivierung der Ca<sup>2+</sup>-abhängigen endothelialen NO-Synthase, eine Schlüsselrolle in der NO-Homöostase einnimmt. In S100A1<sup>-/-</sup>-Mäusen wurde eine abnormale endotheliale NO-Produktion in vitro und in vivo nachgewiesen, welche zu eingeschränkter arterieller Relaxierung und Blutdruckregulation führt. Vor dem Hintergrund der zentralen Bedeutung der endothelialen NO-Homöostase für die postischämischen Angiogenese wurde der Einfluss von S100A1 auf diese untersucht.

Aufgrund dieser Fragestellung wurde die Femoralarterienresektion eines Hinterlaufes bei der Maus, im Vergleich von S100A1<sup>-/-</sup>- zu WT-Mäusen, als Modell für vaskuläre Erkrankungen, im Speziellen für periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK), angewendet. Kommt es aufgrund einer Gefäßokklusion (FAR) zu Gewebehypoxie, führt dies zu einer vermehrten Expression des angiogenetischen Wachstumsfaktors VEGF. Dieser führt in der Endothelzelle zur Stimulation der angiogenetischen Signalkaskade, welche in einer Aktivierung der endothelialen NO-Synthase und Produktion von NO resultiert. Es erfolgt eine Vasodilatation, Endothelzellen proliferieren, migrieren und formieren sich zu Kapillaren.

In dieser Studie wurden die genannten zentralen Abfolgen der Angiogenese in An- und Abwesenheit von S100A1 untersucht. Dazu wurde nach durchgeführter Femoralarterienresektion mit Hilfe eines klinischen Index der postoperative Status der Tiere verglichen und zudem die Reperfusion und Kapillarisation untersucht. Dabei fielen bei S100A1<sup>-/-</sup>-Mäusen erhöhte Nekroseraten und Autoamputationen auf. Dies lag begründet in einer erniedrigten Reperfusion und Kapillarisation des ischämischen Muskelgewebes, untersucht mit Hilfe eines Mikrosphärenaufnahmeversuchs, Anfärbung der Kapillaren und Doppleruntersuchung. Weiterhin wurde in ischämischem Muskelgewebe die VEGF-Proteinexpression und eNOS Aktivität bestimmt. In S100A1<sup>-/-</sup>-Muskelgewebe zeigte sich unter ischämischen Bedingungen eine erhöhte VEGF und auch eNOS Proteinexpression, wobei es sich vermutlich um einen Kompensationsversuch der Zelle handelt, denn die eNOS befand sich hier in einem inaktiven Stadium, weshalb es zu einer insuffizienten NO-Produktion kommen musste. Dies wurde im Versuch mit kultivierten Endothelzellen bestätigt, es kam zu einer erniedrigten NO-Synthese unter Hypoxie und durch VEGF-Stimulation. Die vermuteten resultierenden Endothelzell dysfunktionen wurden mit speziellen Proliferations-, Migrations- und Angiogeneseassays untersucht. Hier zeigte sich eine eingeschränkte Endothelzellproliferation, -migration, als auch Netzwerkformierung. Schließlich wurde ein Therapieversuch durch peri- und postoperative NO-Substitution erfolgreich unternommen, wodurch in S100A1<sup>-/-</sup>-Mäusen eine Autoamputation des Hinterlaufes post-FAR verhindert werden konnte.

Zum ersten Mal konnte mit dieser Studie gezeigt werden, dass Schlüsselemente der Angiogenese in Abwesenheit von S100A1 gestört sind. Es wurde gezeigt, dass S100A1 direkten Einfluss auf das Aktivitätsstadium der endothelialen NO-Synthase hat, indem es zu einer Ser1177 Phosphorylierung und Thr495 Dephosphorylierung führt. Unter hypoxischen Bedingungen kommt es nur in Anwesenheit von S100A1 zu einem ununterbrochenen

intrazellulären Ablauf der angiogenetischen Signalkaskade und nach Aktivierung der eNOS zu einer adäquaten Freisetzung von NO, worauf eine Vasodilatation stattfindet und Endothelzellen proliferieren, migrieren und Netzwerke formieren, um das Grundgerüst eines neuen Gefäßes zu bilden. Bleibt diese NO-Produktion aus, wie bei S100A1-defizienten Mäusen, kommt es zu einer erfolglosen kompensatorischen Erhöhung von VEGF und eNOS (inaktiv). S100A1 ist ein zentraler Regulator postischämischer Angiogenese. Die Ergebnisse dieser Studie als klinisch relevantes Modell für pAVK in Kombination mit in vorangegangenen Studien durchgeführter S100A1-Gentherapie und erfolgreicher Rekonstitution der endothelialen NO-Produktion zeigen viel versprechende therapeutische Angriffspunkte auf. Dadurch könnten Patienten mit pAVK, aber auch koronarer Herzkrankheit oder zerebraler Ischämie, profitieren.