

Innere Medizin

Michael Bader

Generierung und Charakterisierung von transgenen Mauslinien mit Kardiomyozyten-spezifischer Expression von dominant-negativem FADD

Geboren am 11.10.1975

Reifeprüfung 23.6.1995 in Krefeld, Nordrhein-Westfalen

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1996/97 bis SS 2002

Physikum am 16.9.1998 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Heidelberg, San Diego (USA), Philadelphia (USA) und New York (USA)

Staatsexamen am 20.11.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin, Kardiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. M. Haass

Die Rationale dieser Arbeit basierte grundsätzlich auf zwei wesentlichen Beobachtungen. Zum einen wurde bei Untersuchungen in der Myokardischämie und Herzinsuffizienz ein apoptotischer Untergang von Kardiomyozyten beobachtet, wobei die Rolle der Rezeptor-vermittelten Apoptose dabei bislang unzureichend untersucht ist. FADD zeichnet sich hierbei als integraler Bestandteil der Signaltransduktion aller Todesrezeptoren aus. Zum anderen wurde in FADD-defizienten Mäusen eine kardiale Dilatation mit früher intrauteriner Letalität beobachtet. Bislang ist jedoch unklar, ob der protektive Effekt von FADD auf die Embryonalentwicklung beschränkt ist oder ob FADD auch in der postnatalen Phase einen wichtigen Einfluß auf die Herzfunktion aufweist. Aus diesem Grund war es das Ziel dieser Arbeit, eine transgene Mauslinie zu generieren, die durch Überexpression des dominant-negativen FADD-Proteins eine Beantwortung dieser Fragen ermöglichen könnte. Im Verlauf dieser Arbeit wurde ein DNA-Konstrukt hergestellt, mit dessen Hilfe FADD-DN selektiv in Kardiomyozyten nach der Geburt einer transgenen Maus exprimiert werden kann. Diese DNA-Konstrukte wurden in Vorkerne von Mäusen injiziert und so transgene Mauslinien hergestellt.

Vier transgene Linien wurden generiert und analysiert. Es stellte sich heraus, daß eine dieser Linien, Linie 18, durch das Expressionsmuster des Transgens im Herzen annähernd ideale Voraussetzungen für eine kompetitive Blockade von Rezeptor-vermittelter Apoptose in Herzmuskelzellen bot. Diese Mauslinie exprimiert das transgene Protein mit hoher Intensität in fast jeder Herzmuskelzelle. Eine Expression des Transgens in anderen Geweben, außer in Gefäßen des Lungenhilus, ließ sich nicht nachweisen. Daher wurde diese Linie weiter charakterisiert. Die Tiere waren äußerlich unauffällig. Sie zeigten eine normale Aktivität sowie normales Freß- und Trinkverhalten. Außerdem hatten sie eine durchschnittliche Reproduktionsfähigkeit und Lebenserwartung. Die untersuchten Organe hatten ein normales Gewicht und waren makroskopisch sowie mikroskopisch unauffällig.

Weitere Untersuchungen sind notwendig um mit Hilfe der α -MHC-FADD-DN-transgenen Mauslinie die verschiedenen Fragestellungen beantworten zu können. Zunächst gilt es, die Transgenexpression unter dem Einfluß des α -MHC-Promotors zu verschiedenen Zeitpunkten zu verifizieren. Ebenso sollte die Funktion des aus *in vitro*-Daten bekannten Prinzips der Blockade von endogenem FADD durch die Überexpression von transgenem FADD-DN bei den Tieren überprüft werden. Sollte sich hierbei eine effektive Inhibition von endogenem FADD in Kardiomyozyten nachweisen lassen, so könnte mit dieser transgenen Mauslinie zunächst die Frage beantwortet werden, ob in der postnatalen Phase eine kontinuierliche Funktion von FADD in Kardiomyozyten für den Erhalt der Myokardfunktion erforderlich ist. Der Vorteil dieser Mauslinie besteht darin, daß sie das Transgen, FADD-DN, selektiv in Kardiomyozyten exprimiert. Sollte in den Tieren dadurch Rezeptor-vermittelte Apoptose von Kardiomyozyten effektiv geblockt sein, so spielte es keine Rolle, von welchem Rezeptor das Signal vermittelt wird, weil FADD an zentraler Stelle aller bekannten Mechanismen der proapoptischen Signaltransduktion distal der Todesrezeptoren steht. Dadurch könnte diese Mauslinie als Modell für die Charakterisierung der Rolle der Rezeptor-vermittelten Apoptose in der myokardialen Ischämie und der Herzinsuffizienz in Frage kommen.

Als lebender Organismus können an einer Maus auch funktionelle Parameter bestimmt werden. Mit Hilfe moderner bildgebender und physiologischer Untersuchungsmethoden wäre es dann auch möglich, die morphologischen und funktionellen Auswirkungen einer Hemmung der Rezeptor-vermittelten Apoptose an diesem Modell näher zu untersuchen. Dadurch könnte sich zukünftig das Wissen über Apoptose von Herzmuskelzellen durch Versuche *in vivo* erweitern lassen.