

Mirko Völkers
Dr.med.

Entwicklung einer präklinischen S100A1-Gentherapie in einem Tiermodell der chronischen Herzinsuffizienz

Geboren am 23.4.1978 in Hannover
Studiengang der Medizin vom SS 1999 bis zum WS 2006/2007
Physikum am 20.3.2001 ab der Universität Heidelberg
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Heidelberg, Sydney (Australien) und Auckland (Neuseeland)
Staatsexamen am 13.10.2006 an der Universität Heidelberg

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

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Wirkung eines Gentransfers des kalziumbindenden Proteins S100A1 in der chronischen Herzinsuffizienz in vitro und in vivo zu untersuchen. Die bekannte Plastizität der Expression von S100A1 im Myokard (höchste S100A1-Konzentration im linksventrikulären Arbeitsmyokard), die verminderte Expression des Proteins in der chronischen Herzinsuffizienz und die positiv inotrope und lusitrope Wirkung von S100A1 im gesunden Myokard lassen auf eine Korrelation von S100A1 Proteingehalt und kardialer Funktion schließen.

Diese Fragestellung wurde hauptsächlich mit einem somatischen Gentransfer in vitro und in vivo bearbeitet. Durch eine linksventrikuläre Kryoablation wurde durch den Verlust an linksventrikulärer Masse zunächst ein Herzinsuffizienzmodell der Ratte etabliert und das Modell sowohl durch einen kombinierten Druck-Volumen-Katheter wie auch durch phänotypische und genotypische Untersuchungen charakterisiert. Mit Hilfe eines Adenovirus wurde dann klonierte humane S100A1-DNA in insuffizienten Kardiomyozyten und insuffizientes Myokard effizient integriert und damit der verminderte S100A1-Proteingehalt im insuffizienten Myokard ausgeglichen. Mit der vorliegenden Arbeit konnte zum ersten Mal eine Verbesserung der Funktion von insuffizientem Myokard durch einen S100A1-Gentransfer bestätigt werden. Die Normalisierung der verminderten S100A1-Expression in insuffizienten Zellen und im Myokard führte zu einer signifikanten Steigerung der systolischen und diastolischen Funktion in vitro und in vivo.

Als Grundlage dieses Ergebnisses konnte auf zellulärer Ebene eine Steigerung der intrazellulären Kalziumtransienten in Kardiomyozyten gefunden werden. Ursächlich scheinen eine Steigerung der sarkoplasmatischen Kalzium ATPase-Aktivität (SERCA2a) und eine Modulation der Funktion des Ryanodin-Rezeptors (RyR) zu sein. Eine kalziumabhängige Interaktion von S100A1 mit der SERCA führt zu einer Steigerung der Aktivität der SERCA2a.

In weitergehenden Experimenten mit Oligopeptiden, die als Modell der möglichen Bindungstellen des Proteins dienten, konnte der C-terminale Anteil des Proteins als wirkungsvollster Aktivator der SERCA2a identifiziert werden. Diese Steigerung der Aktivität führte zu einem signifikant erhöhten Kalziumgehalt im sarkoplasmatischen Retikulum und vielleicht zu einer verbesserten Kalziumbereitstellung. Die kalziumabhängige Interaktion von S100A1 mit dem RyR moduliert die Aktivität des RyR abhängig von der Kalziumkonzentration

biphasisch und ist möglicherweise ursächlich für den verminderten Kalziumverlust aus dem SR in der Diastole und kann neben der erhöhten Aktivität der SERCA2a den

gesteigerten sarkoplasmatischen Kalziumgehalt in S100A1-gentherapierten Kardiomyozyten erklären. Unter systolischen Kalziumkonzentrationen führt S100A1 dagegen zu einer vermehrten Offenwahrscheinlichkeit des RyR, was ein Erklärungsmodell für die gesteigerte Kalziumtransienten sein könnte.

Der Effekt einer S100A1-Gentherapie war nicht auf die Verbesserung der Kalziumhomöostase beschränkt. So war bereits 24 Stunden nach einem in vitro S100A1-Gentransfer in Kardiomyozyten das sog. reaktivierte fetale Genexpressionsmuster inhibiert. Sieben Tage nach einem in vivo Gentransfer in insuffizientes Myokard waren dann auch zentrale Proteine der Kalziumregulation in der Expression verändert und die Expression war nicht mehr von gesundem Myokard unterscheidbar. Insuffiziente Kardiomyozyten zeigten außerdem in weiteren Untersuchungen eine höhere intrazelluläre Natriumkonzentration, die zu der verschlechterten myozytären Funktion beiträgt. Durch einen S100A1-Gentransfer konnte diese Veränderung in der intrazellulären Natriumhomöostase rückgängig gemacht werden und die Natriumkonzentrationen unterschieden sich nicht mehr von gesunden Kardiomyozyten. Ob dieser Effekt indirekt über eine gesteigerte Aktivität der SERCA2a oder direkt über eine Interaktion mit dem NCX zurückzuführen ist, bleibt weiteren Studien überlassen. Erste Daten deuten aber auf eine indirekte Wirkung, möglicherweise auch über eine verbesserte Energieproduktion in den Mitochondrien und dadurch eine verbesserte Aktivität der energiefordernden SERCA2a hin.

Zusammenfassend kann fest gestellt werden, dass die Normalisierung der Expression von S100A1 zu einer signifikant gesteigerten systolischen und diastolischen Funktion in vitro und in vivo führt. Dies beruht im Wesentlichen auf einer Normalisierung der myozytären Kalziumhomöostase. Die therapeutischen Effekte betrafen aber auch die Verbesserung der Natriumhomöostase und die Inhibition des fetalen Genprogramms. Die Wirkung von S100A1 ist dabei unabhängig von der adrenergen Signalkaskade. Vor dem Hintergrund der verminderten S100A1-Proteinexpression in der Herzinsuffizienz erscheint S100A1 als eine neue Therapieoption in der chronischen Herzinsuffizienz. Weitere Studien unter Einsatz von verbesserten adenoviralen Systemen müssen nun die Langzeitwirkung einer S100A1-Gentherapie zum Thema haben, bevor ein klinischer Einsatz hoffentlich in greifbare Nähe rückt.