

Hanna Seifert

Dr. med.

Einfluss prohypertropher Signalwege auf die kardiale Expression des inotropen Faktors S100A1

Geboren am 31.01.1982 in Heidelberg

Staatsexamen am 09.05.2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Hugo A. Katus

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, Signalwege zu identifizieren, die zu einer Alteration der kardialen Expression des kalziumbindenden, inotrop wirksamen Proteins S100A1 führen. Im Stadium der terminalen Herzinsuffizienz ist eine signifikante Verringerung der Expression von S100A1 zu beobachten (Remppis A et al. 1996). Gleichartige Veränderungen konnten in mehreren experimentellen Tiermodellen der Herzinsuffizienz beobachtet werden und weisen eine verringerte Expression von S100A1 als pathognomonische molekulare Alteration insuffizienten Myokards aus (Most P et al. 2007). Mittels genetisch manipulierter kardialer S100A1 Expression im Tiermodell konnte der Nachweis erbracht werden, dass der progressive Abfall der S100A1 Konzentration in ischämisch geschädigten Herzen kausal mit dem progredienten Verlust kontraktiler Funktion verknüpft ist und den Übergang in das Stadium der kontraktilen Insuffizienz beschleunigt (Most P et al. 2006).

In der Zusammenschau weisen diese Studien S100A1 als einen kritischen Faktor der Regulation myokardialer Kontraktilität aus, der für eine funktionelle Adaptation geschädigten Myokards scheinbar unerlässlich ist, da sein progressiver Verlust den Übergang in eine kontraktile Insuffizienz dramatisch beschleunigt. Unklar sind bisher jedoch die Signalwege, die zu einer Suppression der kardialen S100A1 Expression führen. Die Aufklärung dieser Signalwege und Identifikation kritischer Komponenten erscheint jedoch vor dem Hintergrund der pathophysiologischen Relevanz von S100A1 als vielversprechender Ansatz, um neue therapeutische Strategien zu entwickeln, die einer alterierten S100A1 Expression entgegen wirken.

Zentrales Ziel dieser Arbeit war es daher, Signalwege zu identifizieren, deren chronische Aktivierung eine kritische Rolle in der Pathogenese der Herzinsuffizienz spielen. Diese umfassten neben $G_{q/11}$ -Protein-gekoppelten Signalwegen ebenso Serin/Threonin-abhängige Signalmechanismen, die mit der Proteinkinase C als Konvergenzfaktor einen gemeinsamen kritischen Faktor im Rahmen maladaptiver chronischer Signaltransduktion aufweisen.

Diese Fragestellung wurde in einem etablierten Tiermodell neonataler ventrikulärer Kardiomyozyten der Ratte bearbeitet. Die Kardiomyozyten wurden mit prohypertrophen Substanzen stimuliert und der Effekt der Aktivierung dieser Signalwege auf molekularer Ebene über einen Anstieg der ANP- und einen Abfall der SERCA2a-mRNA-Expression charakterisiert. Somit konnte gezeigt werden, dass das

Zellkulturmodell die wesentlichen Merkmale maladaptiven Wachstums erkrankter Herzen in vitro rekapituliert und eine direkte Analyse transkriptioneller und translationaler Regulationsmechanismen ermöglicht.

Die Expression des Proteins S100A1 wurde auf mRNA-Ebene mittels RT-PCR und auf Proteinebene mittels Western Blot bearbeitet.

Mit der vorliegenden Arbeit konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass die Expression des Proteins S100A1 über den $G_{q/11}$ - und den TBR I/II-gekoppelten Signalweg sowie über die in beiden Signalwegen enthaltene Proteinkinase C vermittelt wird. Eine Aktivierung dieser Signalwege führt zu einem Abfall der Expression auf mRNA- und Proteinebene, wodurch davon auszugehen ist, dass es sich um eine transkriptionelle Regulation handelt. Mögliche therapeutische Interventionen, die die Alteration der Expression von S100A1 verhindern, könnten demnach ihre Wirksamkeit vermutlich über Angriffspunkte auf transkriptioneller Ebene ausüben.

Zusammenfassend kann festgestellt werden, dass im Rahmen dieser Arbeit erstmals Signalwege identifiziert wurden, die eine Inhibition der kardialen Expression von S100A1 und eine Alteration weiterer S100 Isoformen in Herzmuskelzellen verursachen. Da eine chronische Aktivierung dieser Signalmechanismen in der Pathogenese kardialer Hypertrophie und insbesondere dem Übergang in das Stadium der kontraktile Insuffizienz eine klinisch etablierte Rolle spielen, liegt die Vermutung nahe, dass diese Wege kausal an der Verminderung der S100A1 Expression in insuffizientem humanen Myokard verantwortlich sein könnten. Das in unserem Modell evidente Muster einer parallelen Suppression von S100A1 mRNA und Proteinmenge, das in gleicher Weise in insuffizienten humanen Myokardproben beobachtet wurde, weist hierbei auf eine primäre Suppression der S100A1 Transkription als direkte Ursache der Abnahme der Proteinmenge hin. Unsere Daten weisen in diesem Kontext auf eine zentrale Rolle der Proteinkinase C hin, die als elementarer Faktor von allen getesteten Signalwegen gleichermaßen aktiviert wird und daher ein mechanistisches Bindeglied für das Verständnis der gleichartigen Wirkungen der unterschiedlichen prohypertrophen Signalwege auf die kardiale S100A1 Expression darstellen könnte. Die klinische Relevanz dieser Daten spiegelt sich insbesondere im gegenwärtigen Verständnis der Wirkungsweise klinisch-pharmakologischer Strategien zur Therapie der Herzinsuffizienz wieder. So legen unsere Daten nahe, dass Pharmaka z.B. mit blockierender Wirkung G_q - und PKC-abhängiger Signaltransduktion ihre therapeutische Wirkung nicht zuletzt durch Erhalt oder Rekonstitution kardialer S100A1 Expression vermitteln könnten.