

Martin Weinreuter
Dr. med.

Die Rolle der Calcium/Calmodulin-abhängigen Kinase II bei kardialer Ischämie/Reperfusion

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Johannes Backs

Der kardiale Ischämie/Reperfusionsschaden ist gekennzeichnet durch akuten nekrotischen und apoptotischen Zelltod. Im weiteren Verlauf kommt es durch Remodelingprozesse zur Ausbildung einer bindegewebigen Infarkt Narbe und einer Verschlechterung der Herzfunktion. Die Calcium/Calmodulin-abhängige Kinase II (CaMKII) wurde in diesem Zusammenhang als Apoptosevermittelndes Enzym beschrieben, welches die Infarktgröße bestimmt und zu einer Verschlechterung der kardialen Pumpfunktion beiträgt. Sowohl in tierexperimentellen Myokardinfarktmodellen als auch im Hochdruckmodell wurden protektive Effekte einer CaMKII-Inhibition beschrieben. Viele dieser Daten basieren jedoch auf Experimenten mit unspezifischen CaMKII-Hemmern. Die Rolle der CaMKII bei akuter und chronischer kardialer Ischämie/Reperfusion (I/R) wurde in vivo noch nicht mit Hilfe von spezifischen genetischen Modellen untersucht.

In der vorliegenden Arbeit wurde ein chirurgisches Maustier-I/R-Modell mit verschiedenen CaMKII-Knockout-Ansätzen und genetischen Reexpressionsmethoden kombiniert. Im Rahmen der Etablierung der Methoden war ein erstes Ziel der Arbeit, den zeitlichen Verlauf der Serumspiegel des hochsensitiven Troponin Ts (hsTnT) nach I/R der Maus darzustellen. Es zeigte sich eine Korrelation der hsTnT-Spiegel mit den nach 24 Stunden gemessenen Infarktgrößen.

Der Hauptteil der vorliegenden Arbeit befasste sich mit der Rolle der CaMKII bei akutem I/R-Schaden. Zunächst wurde gezeigt, dass die genetische Deletion der wichtigsten kardialen Isoform, CaMKII δ , keinen Effekt auf Infarktgröße, Apoptose und Nekrose 24 Stunden nach der Ischämieoperation hat. Es wurde außerdem eine zuverlässige Methode entwickelt, um mit Hilfe von Adenoassoziierten Viren des Serotyps 9 (AAV9) die CaMKII δ -Splicevarianten δB und δC auf Höhe der endogenen Spiegel in CaMKII δ -Knockout-Tieren zu exprimieren. Somit konnte die spezifische Deletion einer der beiden Splicevarianten bei I/R untersucht werden. Es zeigte sich hierbei überraschenderweise kein Effekt auf Infarktgrößen oder Zelltodmarker. Um redundante Effekte der kardialen CaMKII-Isoform CaMKII γ auszuschließen, wurden Doppel-Knockout-Mäuse (DKO) mit einer kardiomyozytenspezifischen Deletion beider Isoformen δ und γ verwendet. Auch hierbei zeigte sich kein protektiver oder maladaptiver Effekt der DKO-Tiere bei I/R. Ein weiteres Ziel der vorliegenden Arbeit war die Entwicklung eines induzierbaren Knockout-Mausmodells. Durch AAV9-vermittelten Gentransfer wurde die Cre-Rekombinase in vierfach „geflochten“ Tieren (CaMKII $\gamma^{loxP/loxP}$; CaMKII $\delta^{loxP/loxP}$) exprimiert, was zu einem zuverlässigen Knockdown beider CaMKII-Isoformen nach zwölf Wochen führte. Auch dieser induzierbare Knockout hatte keinen Effekt auf Infarktgröße oder Zelltod nach I/R.

In einem zweiten großen Teil der Arbeit wurden I/R-Experimente mit DKO-Tieren und einer verlängerten Reperfusionsdauer von 35 Tagen durchgeführt. Hierbei zeigte sich bei initial gleichen Infarktgrößen eine verbesserte echokardiographisch bestimmte Herzfunktion der DKO-Tiere ab der vierten Woche. Invasive Druck-Volumen-Messungen bestätigten die Verbesserung der Pumpfunktion nach Woche fünf. Auf histologischer Ebene zeigten sich kleinere Infarkt Narben der DKO-Tiere im Vergleich zu den Kontrollen. Zur molekularen Klärung des zu Grunde liegenden Mechanismus wurde mittels RT-PCR die Expression verschiedener Remodeling-assoziiierter Gene untersucht. Es zeigte sich hierbei eine

signifikant geringere Abnahme der Expression der microRNA29a im Randbereich der Infarktnarbe nach I/R bei DKO-Tieren im Vergleich zu Kontrolltieren. Andere Studien identifizierten die microRNA29a als antifibrotisch im Zusammenhang mit Myokardinfarkt. Somit scheint eine Verbindung zu CaMKII-abhängigen Signalwegen vorstellbar, da über eine NF κ B-abhängige Hemmung der microRNA29-Expression berichtet wurde, während NF κ B von CaMKII aktiviert werden kann.

Zusammenfassend wurde in der vorliegenden Arbeit gezeigt, dass die CaMKII keine Rolle spielt bei akuter kardialer I/R, wobei die genetische Deletion beider kardialer CaMKII-Isoformen δ und γ zu einer verbesserten Pumpfunktion und kleinerer Infarktnarbenbildung fünf Wochen nach 60-minütiger Ischämie führt. Der zu Grunde liegende Mechanismus dieser Effekte und die Frage, ob sich hieraus additive therapeutische Möglichkeiten zur Revaskularisationstherapie bei Patienten mit Myokardinfarkt ergeben, muss durch weitere Untersuchungen geklärt werden.