

Mareen Salz  
Dr. med.

## **Auswirkungen eines S100A1-, Orai1- und STIM1-Mangels durch siRNA in neonatalen Kardiomyozyten**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Patrick Most

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es zunächst die Auswirkungen eines selektiven S100A1-Mangels mittels siRNA in einem in vitro-Modell an neonatalen Kardiomyozyten zu untersuchen. Die Herunterregulation von S100A1 konnte als spezifisch und effizient verifiziert werden. Zudem konnten ein Energiemangel und eine gestörte Kalziumhomöostase als zwei entscheidende Charakteristika eines S100A1-Mangels in insuffizienten Kardiomyozyten, die Auswirkungen auf die Funktion der Zelle haben, bestätigt werden.

Entsprechend des nachgewiesenen Energiemangels waren die Kardiomyozyten atroph und zeigten eine erhöhte Apoptoseneigung.

Weiter im Fokus der Untersuchungen stand der Einfluss eines S100A1-Mangels auf die Genexpression verschiedener die Apoptose und das Zellwachstum regulierender Proteine. Es zeigte sich in den durchgeführten Versuchsreihen eine stabile bis verminderte Expression des fetalen Genprogramms. Somit ist anzunehmen, dass S100A1 während der Herzinsuffizienz nicht direkt die Genexpression von fetalen Genen beeinflusst. Vielmehr könnte es möglich sein, dass S100A1 bei insuffizienten Kardiomyozyten in Zusammenspiel mit anderen Faktoren eine Situation herstellt, in der indirekt eine übermäßige Genexpression des fetalen Genprogramms unterbunden wird. Da es in Zusammenschau der bisherigen Ergebnisse mit den Beobachtungen in dieser Arbeit unwahrscheinlich ist, dass S100A1 direkt die Transkription der prohypertrophen, fetalen Gene beeinflusst, stellte sich die Frage, welche weiteren Signalwege involviert sind.

Bezüglich der die MAP-Kinasen einschließenden Signalwege konnte zwischen S100A1-defizienten Kardiomyozyten und der Kontrollgruppe kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Somit spielen die MAP-Kinasen keine bedeutende Rolle bei dem proatrophem Effekt des S100A1-Mangels.

Allerdings konnte erstmals nachgewiesen werden, dass die durch den S100A1-Mangel bedingte Atrophie durch eine gesteigerte Expression von Atrogin und Hemmung von Calcineurin bedingt ist.

Zudem gelang es in dieser Arbeit Hinweise zur Erlangung, wie der Energiemangel in S100A1-defizienten Kardiomyozyten zur Atrophie beitragen kann.

Ausgehend von dem Nachweis, dass in den S100A1-defizienten Kardiomyozyten ein ATP-Mangel vorliegt, konnte eine dazu passend tendenziell verminderte AMPK-Aktivität gezeigt werden, die die gesteigerte Genexpression von Atrogin mit bedingen kann. Zudem konnte ebenfalls eine tendenziell verminderte Aktivität eines anderen von der AMPK ausgehenden Signalweges über Inhibition von mTORC1 mit konsekutiver indirekter Hemmung der  $\text{s6}$ -Kinase und des  $\text{s6}$ -ribosomalen-Proteins gezeigt werden, was zu einer reduzierten Proteinsynthese führt.

Zusammenfassend lässt sich anhand der vorliegenden Arbeit schlussfolgern, dass ein selektiver S100A1-Mangel in neonatalen Kardiomyozyten zur Atrophie und einer gesteigerten Apoptoserate führt. Dies ist durch eine Verschiebung der Kalziumhomöostase und durch einen Energiemangel der Kardiomyozyten bedingt. Beide Faktoren führen letztlich zur Hemmung von Calcineurin und konsekutiv zur Atrophie der Zellen.

Es ergab sich im Zuge der Untersuchungen zur Regulation des Zellwachstums unter einem S100A1-Mangel die Frage, inwiefern andere den Kalziumhaushalt regulierende Proteine ebenfalls einen Einfluss auf das Zellwachstum der neonatalen Kardiomyozyten haben.

Eine Veränderung der Kalziumhomöostase konnte auch unter Orail- und STIM1-Mangel nachgewiesen werden. Es zeigten sich unter einem Orail-Mangel ein proatropher Effekt sowie ein antihypertropher Effekt unter Orail- und STIM1-Mangel nach pathologischem Zellstress. Die Hemmung des Zellwachstums ist, zumindest unter einem Mangel von Orail, durch eine Inaktivierung von Calcineurin erklärbar. Es ist anhand der Ergebnisse dieser Arbeit allerdings noch keine Schlussfolgerung möglich inwiefern die Regulation von Zellwachstum durch SOCE eine Rolle bei der kardialen Insuffizienz spielt. Sie geben aber einen weiteren Einblick, unter welchem komplexen Zusammenspiel unterschiedlicher Faktoren das Zellwachstum von neonatalen Kardiomyozyten steht.

Durch diese Arbeit konnte ein besseres Grundverständnis der Regulation von Atrophie und Hypertrophie unter dem Einfluss von S100A1 in Kardiomyozyten gewonnen werden. Des Weiteren konnte ein Einfluss von Orail und STIM1, als zwei weitere die Kalziumhomöostase regulierende Proteine, auf das Zellwachstum der neonatalen Kardiomyozyten beschrieben werden.