

Lina Frischbier
Dr. med.

Histoneacetylase 4 und 5 als epigenetische Regulatoren alternativen Spleißens

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Johannes Backs

In vorliegender Arbeit wurden die beiden Histoneacetylases HDAC4 und HDAC5 im Hinblick auf ihre physiologische Funktion im alternden Herzen, sowie bei der Entstehung von kardialer Hypertrophie und Herzinsuffizienz bei β -adrenergem Stress im Mausmodell untersucht. Geprüft werden sollte, ob HDAC4 und HDAC5 eine protektive Funktion im alternden Herzen übernehmen und ob es eine funktionelle Redundanz beider Histoneacetylases gibt. Zusätzlich sollte die Frage untersucht werden, inwiefern die Ca^{2+} /Calmodulin-abhängige Kinase II δ (CaMKII δ), welche die beiden HDACs bei kardialem Stress phosphoryliert und funktionell inaktiviert, durch die Histoneacetylases selbst in ihrem Spleißprozess verändert wird. Dies würde einer Art Rückkopplungsmechanismus entsprechen, bei dem HDAC4 und -5 die Kinase, durch die sie auf posttranslationaler Ebene reguliert werden, selbst auf transkriptioneller Ebene beeinflussen können.

Es wurde erfolgreich eine Mauslinie mit genetischer Deletion von HDAC4 und -5 generiert. Diese entwickelte schon im frühen Alter eine beginnende Dysregulation fetaler Gene und zeigte im Verlauf in den echokardiographischen und invasiven Druck-Volumen Messungen eine zunehmende kardiale Leistungseinschränkung in Form einer reduzierten Pumpfunktion. Begleitend wurde eine Hypertrophie der Kardiomyozyten nachgewiesen. Tiere mit genetischer Deletion nur einer Histoneacetylase entwickelten zu diesem Zeitpunkt keine reduzierte Pumpfunktion und auch keine zelluläre Hypertrophie. Es konnte somit gezeigt werden, dass die Deletion beider HDACs zu einer erhöhten Vulnerabilität des Herzens führt, auch wenn die Tiere keinem zusätzlichen kardialen Stress ausgesetzt sind. Es lässt sich daraus schließen, dass HDAC4 und -5 unter basalen Bedingungen gleiche Funktionen in der Zelle übernehmen können, da nur bei Wegfall beider ein kardialer Phänotyp entsteht. Dies deutet auch auf eine protektive Funktion von HDAC4 und HDAC5 im alternden Herzen hin, da bei ihrer Deletion die kardiale Beeinträchtigung nicht von Beginn an, sondern erst im zeitlichen Verlauf auftrat. Singuläre Deletion von HDAC5 führt zwar zu einer kardialen Hypertrophie, allerdings erst zu einem deutlich späteren Zeitpunkt. Da auch HDAC5-*Knock-Out*-Tiere eine Dysregulation fetaler Gene zeigten, kann die Beeinträchtigung im HDAC4/5-Doppel *Knock-Out* nicht allein durch genomische Veränderungen mit der Folge einer fetalen Genaktivierung erklärt werden. Kardiales *Remodeling* ist ein vielschichtiger Prozess. In diesem wirken HDACs mutmaßlich sowohl als Histonmodifikatoren, als auch auf transkriptioneller und translationaler Ebene. Es ist daher wahrscheinlich, dass zwei kardiale Stressoren benötigt werden, um einen Phänotyp entstehen zu lassen. Im HDAC4/5-Doppel-*Knock-Out* zeigte sich, zusätzlich zur Aktivierung des fetalen Genprogramms, eine Dysregulation von alternativen Spleißprozessen der CaMKII δ , mit Reexpression der fetalen A-Isoform. Diese spezifische Isoform wird direkt in Verbindung mit kardialer Schädigung und pathologisch verändertem Ca^{2+} -Haushalt von Zellen gebracht. Die CaMKII δ A Isoform wurde nur im HDAC4/5-Doppel *Knock-Out* vermehrt exprimiert, nicht aber in den Kontrolltieren. Das Ergebnis wurde durch zwei Methoden bestätigt, mittels RNA-Sequenzierung und durch eine qualitative PCR.

Alternatives Spleißen der CaMKII δ kommt damit als zweiter potentieller kardialer Stressor in Frage, der in Kombination mit erhöhter genomischer Empfänglichkeit bei dereprimiertem Transkriptionsfaktor *Myocyte enhancer factor-2* (MEF2) letztlich zu einem kardialen Phänotyp führt. Der Spleißfaktor *Serin/arginin-rich splicing factor 1* (ASF/SF2) ist für das alternative Spleißen der CaMKII δ vorbeschrieben. Aktivierung führt zur Exklusion der Exone 14, 15 und 16 und letztlich zur Synthese der CaMKII δ C Isoform. Protein Kinase A phosphoryliert ASF/SF2 und verstärkt so seine Aktivität, mit konsekutiver Verminderung der Isoformen A und B.

Basierend auf den hier erhobenen Daten könnte eine alternative Therapiestrategie der Herzinsuffizienz entwickelt werden, die durch funktionelle Aktivierung der Klasse II HDACs 4 oder -5 die Reexpression der CaMKII δ A Isoform inhibiert und damit pathologische Umbauprozesse reduziert.