

Lin Ding

Dr. med.

AAV-mediated gene transfer of OCTN2 and L2HGDH in mice
ameliorates heart failure in a pressure overload model

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Oliver Müller

Bei der Herzinsuffizienz kommt es auf metabolischer Ebene zu einer Umschaltung der Energiegewinnung von der Oxidation langkettiger Fettsäuren (LCA) zugunsten einer vermehrten Glucose-Oxidierung. Ein zentraler Schritt für die Oxidation langkettiger Fettsäuren ist die Aufnahme von Carnitin aus dem Plasma in die Mitochondrien, welche vom Organischen Kation/Carnitin Transporter 2 (OCTN2) vermittelt wird. Die kardiale OCTN2 Expression ist sowohl in Patienten mit Herzinsuffizienz als auch in Mausmodellen der Herzinsuffizienz herunterreguliert und ist daher als Bestandteil der pathologischen metabolischen Umbauprozesse bei Herzinsuffizienz eine vielversprechende therapeutische Zielstruktur.

Weniger offensichtlich ist die Bedeutung einer Herunterregulierung der L2-Hydroxyglutarat-Dehydrogenase (L2HGDH) und der damit assoziierten Anreicherung ihres Substrates L-2-HG im Herzmuskelgewebe von Mäusen mit Herzinsuffizienz durch Nachlasterrhöhung bei experimenteller Aortenkonstriktion. Die L2HGDH trägt zur Energiegewinnung im Zitratzyklus bei, indem sie L-2-Hydroxyglutarat (L-2-HG) zu α -Ketoglutarat (α -KG) katalysiert. Der Zusammenhang zwischen einer kardialen L-2-HG Anreicherung und L2HGDH Herunterregulierung mit der Entwicklung einer Herzinsuffizienz wurde bisher noch nicht untersucht.

Ziel der Arbeit war die Untersuchung, ob durch kardialen Gentransfer der L2HGDH bzw. OCTN2 mittels adeno-assoziiierter viraler (AAV) Vektoren des Serotyp 9 die Entwicklung einer Herzinsuffizienz im Mausmodell der Nachlasterrhöhung durch Ligatur der transversalen Aorta (TAC-Operation) abgeschwächt werden kann.

Hierzu wurden C57BL/6N Mäuse randomisiert einer intravenösen Vorbehandlung mit AAV9-L2HGDH, AAV9-OCTN2, sowie AAV9-Luciferase als Kontrolle unterzogen. Nach zwei Wochen erfolgte die TAC-Operation, deren Effizienz nach zwei Tagen mittels Echokardiographie nachgewiesen wurde. Parallel erfolgte in weiteren Mäusen

eine sham-Operation zur Kontrolle. Im Verlauf erfolgte die serielle Erfassung der linksventrikulären Funktion und der kardialen Morphologie mittels Echokardiographie bis zur Sektion Woche 6 nach TAC-Operation.

6 Wochen nach der TAC-Operation wiesen die drei TAC-operierten Gruppen im Vergleich zur *sham*-Gruppe eine Abnahme der linksventrikulären Funktion auf sowie eine linksventrikuläre Hypertrophie und Fibrose. Die Überexpression von L2HGDH von etwa 30% in der AAV9-L2HGDH-Gruppe war mit einer signifikanten Verbesserung der kontraktile Parameter wie Ejektionsfraktion (EF) ($36,18 \pm 6,63\%$, $n=12$, versus $20,14 \pm 8,24\%$, $n=15$, $p < 0,001$) und Verkürzungsfraktion (FS) ($16,72 \pm 4,01\%$, $n=12$ versus $12,66 \pm 6,66\%$, $n=15$, $p < 0,05$) am Studienende assoziiert. Darüber hinaus war sowohl das Herzgewicht zu Tibialängen-Verhältnis (HW/TL) als Hinweis auf eine kardiale Hypertrophie und das Lungengewicht zu Tibialängen-Verhältnis (LW/TL) als Hinweis auf eine Herzinsuffizienz in der AAV9-L2HGDH-Gruppe gegenüber der AAV9-Luciferase-Kontrollgruppe signifikant reduziert (jeweils $p < 0,01$). Ebenso zeigte sich eine Reduktion der Querschnittsfläche der Kardiomyozyten ($p < 0,001$). ANP, BNP, RCAN1.1, und RCAN1.4 als molekulare Indikatoren einer Herzinsuffizienz waren in AAV9-L2HGDH-behandelten Mäusen ebenfalls signifikant reduziert ($p < 0,05$). Schließlich zeigte sich auch nach Quantifizierung der Masson Trichrom-Färbungen von kardialen Gewebeschnitten eine signifikante Reduktion der perivaskulären ($p < 0,01$) wie auch interstitiellen ($p < 0,001$) Fibrose.

Die kardiale Überexpression von OCTN2 (ebenfalls ca. 30% auf Proteinebene) verbesserte die Ejektionsfraktion nach TAC-Operation gegenüber den AAV9-Luciferase-Kontrollen signifikant ($28,49 \pm 8,69\%$, $n=11$ versus $20,14 \pm 8,24\%$, $n=15$; $p < 0,05$). Zudem war die OCTN2-Überexpression mit einer signifikanten Reduktion der perivaskulären wie auch interstitiellen Fibrose (jeweils $p < 0,05$) assoziiert. Eine signifikante Reduktion der Myokardhypertrophie konnte in der AAV9-OCTN2-Gruppe jedoch nicht nachgewiesen werden.

Schlussfolgernd ist festzustellen, dass beide Ansätze die Entwicklung einer kardialen Fibrose und Herzinsuffizienz im Mausmodell einer induzierten Nachlasterhöhung durch TAC-Operation abmildern konnten und der AAV9-vermittelte Gentransfer von L2HGDH darüber hinaus auch noch einen eindrucksvollen antihypertrophischen Effekt hat. Somit stellt insbesondere die Hochregulierung von L2HGDH einen vielversprechenden Ansatz zur künftigen Behandlung der Herzinsuffizienz dar.