

Leonard Max Schanze
Dr. med.

Identifizierung Metabolismus-abhängiger Enhancer im Herzen

Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Lorenz Heyne Lehmann

Es gibt Hinweise auf einen epigenetischen Einfluss äußerer kardialer Stressfaktoren, die sich an der Veränderung der Expression metabolischer Gene manifestieren. Hierdurch kann eine Prägung für weitere Ereignisse stattfinden. Eine epigenetisch modulierte Region an *Adenosindiphosphat-Ribosylhydrolase Like 1* wurde in der vorliegenden Arbeit als Einzelregion beispielhaft charakterisiert. Sie wurde durch die Histondeacetylase 4 und eine Dimethylierung an Lysin 9 des Histons 3 epigenetisch reguliert. Im weiteren Verlauf der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob primär metabolischer Stress in Form einer Hochdosis-Fettdiät einen epigenetischen Einfluss auf Enhancer hat und wie eine solche Veränderung reversibel sein kann. Enhancer sind genomische Regionen, die mehrere Gene binden können und denen als übergeordnete Regulatoren ganzer Gen-Programme eine besondere Funktion zukommt. Zunächst sollten als Screeninguntersuchung durch Fett regulierte, metabolische Enhancer identifiziert und diese anschließend in ihrer biologischen Relevanz validiert werden.

In-vitro-Enhanceranalysen nach Palmitatbehandlung in Kardiomyozyten zeigten, dass 317 Enhancer fettsäureabhängig reguliert waren. Ein Tierversuch zur fettreichen Diät wurde mit Kontroll- und Interventionsgruppe durchgeführt. Zusätzlich simulierte eine weitere Gruppe eine Lebensstiländerung mit Gewichtszunahme sowie -abnahme. Die linksventrikuläre Ejektionsfraktion der mit fettreicher Diät behandelten adoleszenten Tiere nahm minimal ab mit gleichzeitig histologisch nachweisbarer milder kardiomyozytärer Hypertrophie. Sowohl Funktion als auch strukturelle Veränderung nach fettreicher Diät waren reversibel nach Gewichtsabnahme. Aus den isolierten Kardiomyozyten dieser mit Fettdiät behandelten Tiere wurden dann Enhancer-typische Histonmodifikationen bestimmt.

Das Screening nach Acetylierungsveränderungen an Lysin 27 des Histons 3 zeigte 330 genomische Regionen durch Hochdosis-Fettdiät *in vivo* reguliert. Diese spezifischen Acetylierungen zeigten sich stärker verändert nach der Diät als dies für die anderen gewählten Histonmodifikationen der Fall war. Über 99% dieser Regionen waren nicht persistent, also nach Gewichtsabnahme komplett reversibel. Zwei der identifizierten Enhancer blieben allerdings, auch nach Umkehr des Phänotyps, noch aktiviert und bildeten eine sogenannte Superenhancer-Region, die um den kodierenden Abschnitt von *Inhibitor of DNA-binding 1* liegt. *In vitro* zeigte sich die Enhanceraktivität von *Inhibitor of DNA-binding 1* stark abhängig von kardial relevanten Transkriptionsfaktoren sowie von einem Histondeacetylaseinhibitor. Innerhalb einer physiologisch vorhandenen, topologisch assoziierten Domäne interagierte die Enhancerregion mit neun Genen, die keine Konkordanz der Genexpression zur Enhancer-Acetylierung zeigten. Das *Inhibitor of DNA-binding 1*-Gen blieb also zunächst transkriptionell unreguliert, trotz stark aktiviertem Enhancer. Eine veränderte Genomstruktur unter

Hochdosis-Fettdiät mit veränderten Enhancerzielen ist eine mögliche Erklärung für diesen Befund.

Zur funktionellen Evaluation wurde ein Kardiomyozyten-spezifischer *Knockout* für das Gen *Inhibitor of DNA-binding 1* generiert. Es wurde mit diesen Tieren erneut ein Hochdosis-Fettversuch durchgeführt mit zusätzlich adrenergem Stress am Versuchsende. Unter Kontrolldiät zeigte sich bei Fehlen des *Inhibitor of DNA-binding 1*-Gens auch nach adrenergem Stress keine funktionelle oder strukturelle Herzschädigung. Durch fettreiche Diät allerdings nahm die Herzfunktion im *Knockout* im Verlauf ab.

Somit konnte ein epigenetisches Gedächtnis nach metabolischem Stress im Herzen identifiziert werden. Funktionell scheint eine noch nicht genauer bekannte kardioprotektive Funktion mit diesem Enhancer im Zusammenhang zu stehen. Die Entschlüsselung des zugrunde liegenden Mechanismus steht der weiteren Forschung als Grundlage bereit.