

- Zusammenfassung -

Carl-Mattheis Martin Wahl
Dr. med.

Chronisch oxidativer Stress reguliert durch Induktion der mikroRNA-1 die Connexin-43-Expression in einem neuen Zellmodell ventrikulärer Arrhythmien

Fach/Einrichtung: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. rer. nat. Markus Hecker

Arrhythmien sind Symptome einer gestörten Erregungsleitung im Myokard. Eine mögliche Ursache liegt darin, dass Kardiomyozyten im Lauf des Lebens häufig systemischen Stressoren wie arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, psychischer Belastung und Herzinsuffizienz ausgesetzt sind. Während des Alterns können sich dabei degenerative Prozesse anhäufen, die die interzelluläre Erregungsleitung der Herzmuskelzellen beeinträchtigen und das Risiko kardialer Arrhythmien steigern lassen. Auf molekularer Ebene ließen sich dazu in der Vergangenheit zwei Beobachtungen feststellen: Die Kardiomyozyten wiesen einerseits erhöhte Werte an oxidativem Stress auf. Andererseits war die Expression der Gap Junctions, den interzellulären Verknüpfungspunkten, stark reduziert und lateralisiert. Gap Junctions, unter anderem aus Connexin-43 geformt, sind normalerweise stark an den polaren Enden der Zellen vertreten und damit entscheidend für die elektrische Signalweiterleitung im Herzen verantwortlich. Eine Reduktion kardialer Gap Junctions birgt die Gefahr, dass sich der elektrische Impuls nicht mehr zügig und gleichmäßig über das Gewebe ausbreitet. Damit steigt das Risiko von kreisenden Erregungen, die letztendlich kardiale Arrhythmien auslösen können. Derzeitige antiarrhythmische Therapieoptionen sind begrenzt und konzentrieren sich auf eine symptomatische Behandlung durch Antiarrhythmika und Katheterablation ektopter Foci. Doch trotz intensiver Forschung existiert bisher keine Heilungsoption für diese Arrhythmien.

Ziel dieser Studie war zu untersuchen, ob es einen funktionellen Zusammenhang zwischen kardialen Stress und verminderter Connexin-43-Expression gibt, der zu arrhythmogenen Symptomen führt. Dabei sollten die Signalwege identifiziert werden, die die Connexin-Expression steuern und Arrhythmien verursachen.

Daraus folgte die Hypothese, dass chronischer Stress die Connexin-43-Expression durch eine erhöhte Aktivität einer Connexin-43-regulierenden mikroRNA verändert.

In iPSC-Kardiomyozyten wurde mittels viraler Überexpression Connexin-43 gesteigert und diese Expression mittels Western Blot, Biotinylierung, Scrape Loading/Dye Transfer und Multi-Elektroden-Array untersucht. Als neues Arrhythmiezellmodell wurden iPSC-CMs mithilfe chronischer, hochfrequenter elektrischer Stimulation (Tachypacing) gestresst. Dabei generierte reaktive Sauerstoffradikale (ROS) wurden mit einem fluoreszierenden ROS-Indikator nachgewiesen. Ebselen, ein Glutathionperoxidase-mimetikum, diente zur Reduktion des oxidativen Stresses. Die Auswirkungen von chronischem Stress auf die Expression von Connexin-43 und miR-1 wurden mithilfe von Western Blot und PCR quantifiziert. Zuletzt wurde miR-1 durch die komplementäre anti-miR-1 spezifisch abgefangen und die Expression von Connexin-43 mittels Immunostaining und Western Blots untersucht.

Die Überexpression von Connexin-43 mittels AAV-Vektor beschleunigte den niedermolekularen Transport als auch die elektrische interzelluläre Kopplung in iPSC-CMs.

Das 24 h andauernde Tachypacing löste signifikant erhöhten oxidativen Stress in iPSC Kardiomyozyten aus und konnte durch gleichzeitige Anwendung von Ebselen vermindert werden. Die elektrische Stimulation über 48 h verminderte die Expression von Connexin-43 signifikant und steigerte die von miR-1. Unter gleichzeitiger Gabe von Ebselen konnte kein Anstieg an miR-1 festgestellt werden. Schließlich steigerte anti-miR-1 die Expression von Connexin-43 in iPSC-Kardiomyozyten.

Die hier erhobenen Daten zeigen, dass chronisch erhöhte ROS-Werte durch chronisch elektrisch hochfrequente Stimulation zu einer erhöhten Expression der mikroRNA miR-1 führen, die die Connexin-43-Expression in iPSC-Kardiomyozyten reguliert. Dies ist der erste experimentelle Nachweis, dass chronischer oxidativer Stress kausal mit der pathophysiologischen Remodellierung der Gap Junctions über miR-1 verbunden ist, woraus bei chronisch gestressten Kardiomyozyten ventrikuläre Arrhythmien entstehen (Sottas und Wahl et al. 2018; Wahl et al. 2022).