

Julia Christina Wingert  
Dr. med.

## **Generierung und Charakterisierung Relaxin-Rezeptor überexprimierender transgener Mauslinien**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. med. Philip Raake

Das Hormon Relaxin wirkt im kardiovaskulären System vasodilatatorisch, anti-fibrotisch, anti-apoptotisch und anti-inflammatorisch sowie positiv inotrop, wobei sich die positiv inotrope Wirkung durch einen zellschonenderen Mechanismus von der  $\beta$ -adrenerger Stimulation unterscheidet. Rekombinantes Relaxin konnte im Rahmen der RELAX-AHF-Studienreihe die Langzeit-Outcomes bei dekompensierter Herzinsuffizienz jedoch nicht verbessern. Eine mögliche Erklärung liegt in der fehlenden Expression des entsprechenden Rezeptors, Relaxin-Rezeptor 1, in ventrikulären Kardiomyozyten. In menschlichen Herzen konnte der Rezeptor bislang nur in den Atrien nachgewiesen werden.

Die vorliegende Arbeit sollte zunächst die Grundannahme der isoliert atrialen Expression des Relaxin-Rezeptors 1 überprüfen. Ausgehend von dieser Tatsache wurden transgene Mäuse generiert, die den Relaxin-Rezeptor 1 ebenfalls im ventrikulären Myokard exprimieren. An diesen wurde untersucht, ob die Genveränderung sicher ist, ob ihr Einfluss steuerbar ist, ob sie therapeutische Effekte im Herzinsuffizienz-Modell vermittelt und ob diese Effekte geschlechtsabhängig sind.

Die Ergebnisse bestätigten, dass der Relaxin-Rezeptor 1 in menschlichen Ventrikeln molekular nicht nachweisbar ist. Folglich wurden transgene Mäuse generiert, die den humanen Relaxin-Rezeptor 1 kardiospezifisch sowie gesamt-kardial exprimierten. Die Expressionsstärken der verschiedenen Linien reichten von genterapeutisch erreichbaren Leveln bis zu einer 170-fach höheren Überexpression. Selbst bei höchster Überexpression waren die transgenen Mäuse unbelastet, allgemeiner Phänotyp sowie basale Herzfunktion unterschieden sich nicht von Wildtypen.

Durch Verabreichung von rekombinantem Relaxin an transgene Mäuse konnte eine signifikante Steigerung der linksventrikulären Kontraktilität nachgewiesen werden. Als molekulares Korrelat wurde eine Erhöhung der Phospholamban-Phosphorylierung an Serin 16 festgestellt. In-vitro steigerten sowohl rekombinantes Relaxin als auch der kleinmolekulare Agonist des Relaxin-Rezeptors 1 ML290 die Phospholamban-Phosphorylierung an Serin 16 in isolierten adulten Kardiomyozyten transgener Mäuse. Im Herzinsuffizienz-Modell der transversen Aortenkonstriktion blieben bei transgenen Mäusen der höchsten Überexpressionsstufe Herzfunktion und Ventrikelgeometrie signifikant besser erhalten als bei Wildtypen. Außerdem hatten transgene Mäuse signifikant weniger pulmonale Stauung und entwickelten seltener das Vollbild einer Herzinsuffizienz. Molekular wiesen die Herzen transgener Mäuse eine signifikant geringere Expression von fetalem Genprogramm sowie Fibrosemarkern auf. Diese

Effekte traten in transgenen Mäusen beider Geschlechter auf. Bei transgenen Mäusen einer niedrigeren Überexpressionsstufe waren die Effekte weniger ausgeprägt.

Eine Expression von endogenem Relaxin ließ sich bei Mäusen kardial sowie in den Reproduktionsorganen beider Geschlechter nachweisen.

Folglich führt eine ausreichende kardiale Überexpression des Relaxin-Rezeptors 1 auch ohne zusätzliche Verabreichung von rekombinantem Relaxin zu therapeutischen Effekten im Herzinsuffizienz-Modell. Die verbesserte Kontraktilität wird dabei durch einen Anstieg von cyclischem Adenosinmonophosphat mit Aktivierung der Proteinkinase A und konsekutiver Erhöhung der Phospholamban-Phosphorylierung an Serin 16 vermittelt, wodurch die Calcium-ATPase des sarkoplasmatischen und endoplasmatischen Retikulums 2a desinhibiert wird. Die beobachteten Effekte scheinen nicht geschlechtsabhängig zu sein, was auf eine Aktivierung des Rezeptors durch parakrin freigesetztes Relaxin hinweisen könnte.

Im Hinblick auf eine potenzielle gentherapeutische Verwendung des Relaxin-Rezeptors 1 im Herzen lassen die Erkenntnisse aus den transgenen Tieren auf ein hervorragendes Sicherheitsprofil der myokardialen Expression des Relaxin-Rezeptors 1 schließen. Die Therapieintensität wird sowohl durch die Stärke der Rezeptor-Expression als auch durch die Relaxin-Konzentration reguliert, was ein einzigartiges Maß an Steuerbarkeit bedingt.