



Univ.-Doz. Dr. Bernhard Metzler
Universitätsklinik für Innere Medizin III / Kardiologie
Anichstraße 35
6020 Innsbruck

Österreichischer Herzfonds
Türkenstraße 12/3
1090 Wien

Innsbruck, am 14.05.2013

Sehr geehrter Vorstand des Herzfonds!

Den Statuten des Österreichischen Herzfonds gemäß, darf ich einen Endbericht über das geförderte Projekt „Impact of Mitogen-activated Protein Kinase 7 in the Heart“ vorlegen.

Die Arbeit konnte bisher sowohl bei der ÖKG-Jahrestagung 2012 (in der Best Abstract Sitzung) als auch bei der Jahrestagung der Europäischen Kardiologischen Gesellschaft präsentiert werden.

- Haubner B, Reiner M, Streil K, Bader K, Koziardazki I, Pachinger O, Penninger J, Metzler B (2012).
MKK7 couples myocardial ischemia/reperfusion stress to necro(pto)tic cell death;
Jahrestagung der Österreichischen Gesellschaft für Kardiologie
30. Mai - 2. Juni 2012, Salzburg
Journal für Kardiologie 19(5-6): 133. *

Wir konnten zeigen, dass der Ischämie/Reperfusionsschaden in MKK7-Knockout-Mäusen signifikant geringer ist, verglichen zu dem in normalen Kontrollmäusen. Dies sowohl nach drei Stunden Reperfusionszeit als auch nach einer Woche Reperfusionszeit. Als dafür mitverantwortlicher Signaltransduktionsweg konnten wir phospho-p38 identifizieren. Hingegen scheinen AKT und ERK weder bei der I/R noch beim *transaortic constriction* Modell (TAC) eine relevante Rolle zu spielen.

In einer darauf aufbauenden Serie von Experimenten (die für eine Toppublikation von den Reviewern gefordert wurden) untersuchen wir derzeit den Phänotyp der MKK7 ko Myozyten *in vitro*.

Die ersten Ergebnisse unterstreichen die bisherigen *in vivo* Erkenntnisse. Sobald die Publikation veröffentlicht ist, senden wir Ihnen einen Sonderdruck zu. Selbstverständlich wird dort der Österreichische Herzfonds als Förderer genannt.

Die genau aufgeschlüsselte Verwendung der 39.750 EURO ist in einer Abrechnung vom Herzfonds, datiert mit 24. September 2012, ersichtlich. Die finanzielle Projekt-Abwicklung ist über die Chefsekretärin (Fr. D. Kurz) von der Universitätsklinik für Innere Medizin III / Kardiologie (Vorstand: Univ.-Prof. Dr. O. Pachinger) gemacht worden.

Die Förderung durch den Herzfonds hat die Durchführung dieses Projektes erst möglich gemacht, in diesem Projekt konnte ein PhD-Student sein Studium abschließen, weiters konnten drei Diplomanden ihre Diplomarbeit machen.

Für die wertvolle Unterstützung dieses Projektes danke ich dem Präsidium der Herzfonds aufrichtig.

Mit freundlichen Grüßen aus Innsbruck
verbleibt



Bernhard Metzler

Mitogen-Activated Protein Kinase Kinase 7 (MKK7) Couples Myocardial Ischemia/Reperfusion Stress to Necro(pto)totic Cell Death BAI

B. J. Haubner, M. Reiner, K. Streil, K. Bader, J. Voelkl, I. Koziardazki,
O. Pachinger, J. Penninger, B. Metzler
IMBA Penninger Lab Innsbruck, Universitätsklinik für Innere Medizin III/Kardiologie,
Medizinische Universität Innsbruck

Background Apoptosis has long been considered the sole form of programmed cell death during development and disease. Lately, necroptosis has been implemented as a novel mode of necrotic cell death that is executed in a regulated manner. We have previously demonstrated the benefit of muscle-restricted loss of MKK7 during myocardial ischemia and reperfusion (mi/R). However, the form of cell death that is regulated by MKK7 upon mi/R is largely unknown.

Methods Therefore, we subjected muscle-restricted MKK7 knockout (MKK7^{fl/fl};Mck Cre, termed MKK7MKO hereafter) compared to MKK7 control (MKK7^{fl/fl}) mice to experimental mi/R and analyzed the cardiac samples using electron microscopy (EM) and immunohistochemistry. In addition, immunoblotting was utilized in order to monitor the kinetics of MKK7 activation.

Results After 30 minutes of ischemia and 24 hours of reperfusion, MKK7^{fl/fl} cardiac EM samples displayed large areas of damaged cardiomyocytes with a typical necrotic phenotype, including rupture of the plasma membrane and an increasingly translucent cytoplasm.

In contrast, MKK7MKO EM specimen showed hardly any damaged cells within the area at risk. Typical ultrastructural characteristics found in MKK7MKO cardiomyocytes were changes of single mitochondria, previously described in the borderzone of the infarcted area. Furthermore, immunohistochemical stainings and immunoblotting for cleaved caspase 3 revealed the caspase independent cell death in our model.

Finally, c-Jun NH₂-terminal protein kinase (JNK) phosphorylation, as a marker of MKK7 activity, was significantly increased in the MKK7^{fl/fl} mice after 30 minutes of ischemia and 20 minutes of reperfusion. This mi/R stress induced JNK activation is completely lost in the MKK7MKO animals.

Conclusion Here, we demonstrate that in vivo mi/R leads to a caspase independent type of cell death with ultrastructural characteristics of necrosis. Moreover, this form of tissue injury can be experimentally regulated via the conditional knock-out of MKK7.

