

Einleitung

Klinische Manifestation der Hypertrophen Kardiomyopathie

HCM ist eine der am weitesten verbreiteten, genetisch bedingten Erkrankungen des Herzmuskels, deren Prävalenz sich auf einen von 500 Erwachsenen beläuft, und die autosomal dominant vererbt wird. (34) Sie ist histologisch durch eine auffallend unregelmäßige Myofibrillenstruktur, Hypertrophie der einzelnen Myozyten und interstitielle Fibrose gekennzeichnet. Während die Dicke des linken Ventrikels beim Gesunden 12mm oder weniger beträgt, liegt sie bei HCM im Bereich von 13mm oder mehr. (32) Die Symptomatik der Patienten mit HCM ist höchst verschiedenartig. Während manche Patienten während ihres ganzen Lebens asymptomatisch bleiben, entwickeln andere die Symptome der HCM. Wiederum andere Patienten jedoch (ca. 0,7% aller Patienten mit HCM) erleiden den plötzlichen Herztod, der sich in vielen Fällen nicht durch vorhergehende Symptome ankündigt. (7)

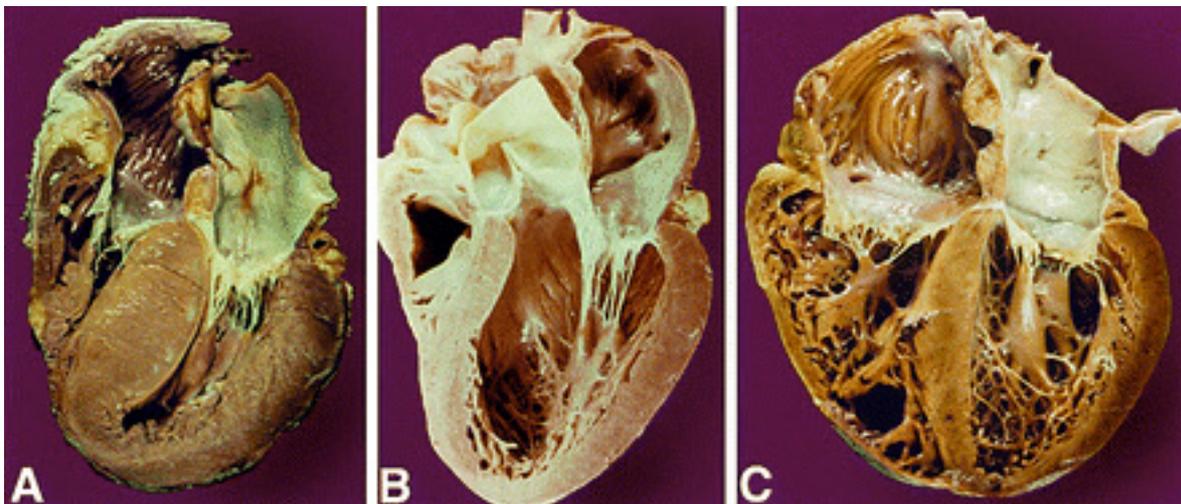


Abbildung 1: Umformung des Herzmuskels bei HCM und DCM

Die Abbildung veranschaulicht, in welchem Ausmaß der Herzmuskel eine morphologische Umformung erfahren kann. Diese kann das Resultat sowohl genetischer Ursachen, wie auch anderer erworbener Krankheiten sein. Im Vergleich mit dem gesunden Herzen (B) erkennt man einerseits die deutliche Zunahme der Dicke der Ventrikelwand im hypertrophierten (A) und andererseits die deutliche Zunahme des Ventrikelvolumens im dilatierten Herzen(C). (Abbildung aus Cell (20))

Es bestehen große interindividuelle Unterschiede im Grad der Ausprägung der Hypertrophie sowie auch in der Morphologie (apikale, konzentrische, asymmetrische HCM). Ebenso gibt es Unterschiede bezüglich der Penetranz, des Alters, in dem die Hypertrophie beginnt, und des klinischen Verlaufs. (2) Anhand morphologischer

Kriterien können mehrere Varianten der HCM unterschieden werden: Die meisten Patienten (70%) weisen eine asymmetrische Hypertrophie des interventrikulären Septums und der Vorderwand des linken Ventrikels auf (subaortische Variante). Bei 15-20% der Patienten ist der basale Anteil des Septums hypertrophiert. Diese Form geht bei älteren Patienten oftmals mit arterieller Hypertonie einher und wird deshalb auch als *“hypertensive variant”* bezeichnet. In 8-10% der Fälle liegt eine konzentrische Hypertrophie des linken Ventrikels vor (diffuse Variante). Die apikale Variante der HCM ist sehr selten (2%) in der westlichen Welt, ist aber sehr verbreitet (25%) in Japan. Zusätzlich zu der subaortalen Obstruktion können eine diffuse Hypertrophie des Septums in der Ventrikelmitte und der Papillarmuskeln auftreten. Wenn die Krankheit fortschreitet, kann bei 10-15% der Patienten die Hypertrophie des Herzens auch in eine Dilatation umschlagen (DCM-artige Variante). (8)

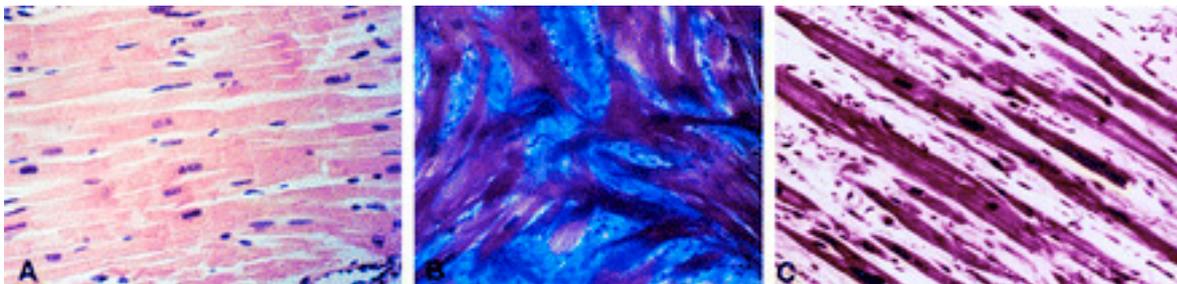


Abbildung 2: Histopathologie von HCM und DCM

Während die Herzmuskelzellen im gesunden Gewebe (A) gleichmäßig angeordnet sind und minimale Fibrosierung aufweisen, erkennt man im hypertrophierten Herzen (B), daß die Zellen (rot) vergrößert sind und eine ungeordnete Gewebsarchitektur mit einer Zunahme an interstitieller Fibrosierung (blau) aufweisen. Im dilatierten Herzen (C) sind die Muskelzellen ebenfalls vergrößert, aber der geordnete Gewebsverband bleibt erhalten. Man erkennt degenerierte Zellen (dunkelrot) und eine Zunahme an interstitieller Fibrosierung (blaßrosa). (Abbildung aus Cell (20))

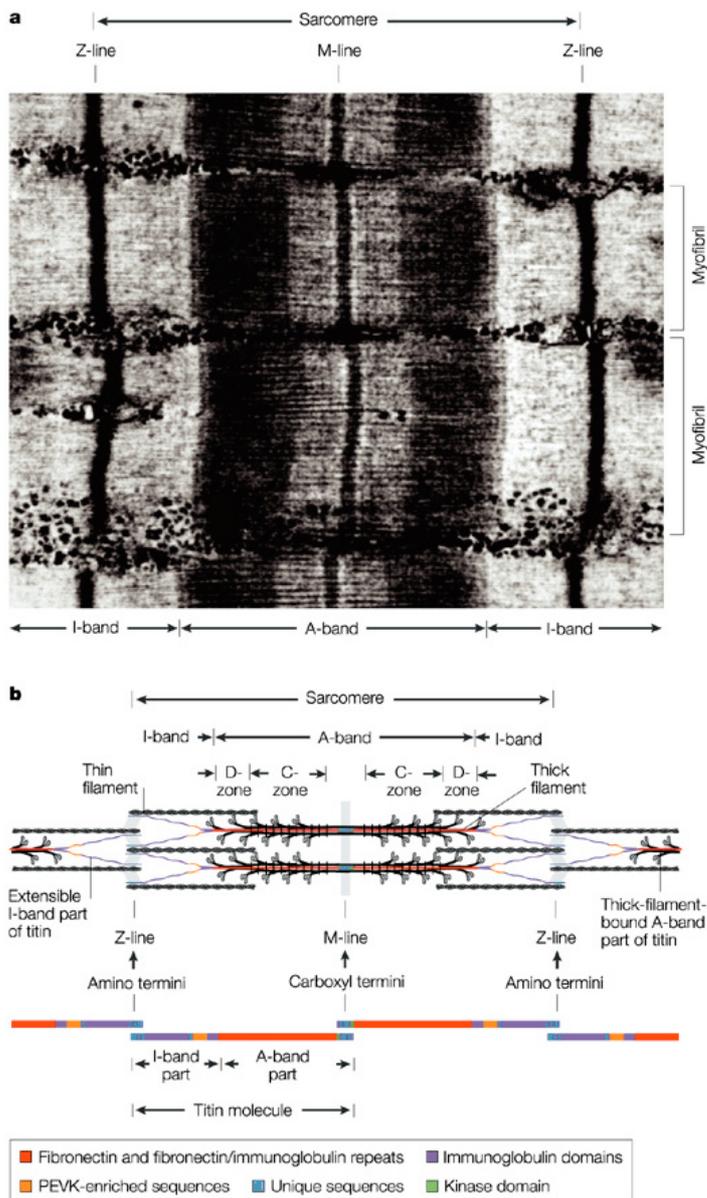
Die hervorstechendsten Symptome, die mittels eines Herzkatheters erkannt werden können, sind zum einen diastolische Dysfunktion und zum anderen mitrale Regurgitation. Darüberhinaus findet sich in 25% aller Fälle eine Obstruktion des linksventrikulären Ausflußtraktes, die zu dem Aufbau eines systolischen Druckgradienten zwischen der Aorta und der linken Ventrikelkammer führt. Die auffälligen Symptome der HCM (wie z.B. Dyspnoe, Angina, Synkopen, etc.) können in unterschiedlichen Altersgruppen auftreten oder gänzlich ausbleiben. Es hängt teilweise von dem jeweiligen betroffenen Gen ab, in welchem Alter die Symptome auftreten. (7) So führt z.B. eine Mutation im Gen der schweren Myosinkette (β MHC) dazu, daß die Symptome üblicherweise in den ersten 20 Lebensjahren auftreten,

während eine Mutation im Gen des kardialen Myosin-bindenden Protein-C (cMyBP-C) oftmals zu Symptomen in einem Alter von 50 bis 70 Jahren führt. (39) Die Diagnose der HCM erfolgt oftmals infolge des Auftretens von Herzgeräuschen bzw. eines auffälligen EKGs. Das EKG ist bei der HCM meist auffällig, obwohl bei 15% der Patienten auch unauffällige EKGs auftreten, besonders dann, wenn nur eine moderate Hypertrophie des Herzens vorliegt. (4) Die häufigsten Besonderheiten sind Abnormalitäten im Bereich des ST-Segmentes und der T-Welle, sowie auffällige QRS-Komplexe. Die wichtigste diagnostische Methode zur Identifizierung einer HCM ist die transthorakale Echokardiographie, mit deren Hilfe die morphologischen Gegebenheiten (z.B. Verteilungsmuster der septalen Hypertrophie) sowie funktionelle Aspekte (z.B. Hyperkontraktilität des linken Ventrikels) erfaßt werden können. (33) Außerdem können unter Zuhilfenahme der Doppler-Echokardiographie hämodynamische Gegebenheiten analysiert werden (z.B. Ausmaß des Ausflußgradienten). Da die Echokardiographie eine einfache und risikolose Untersuchungsmethode ist, eignet sie sich dazu, Reihenuntersuchungen an den Verwandten eines Patienten mit HCM durchzuführen, um auf diese Weise feststellen zu können, inwieweit die Erkrankung vererbt worden ist.

Molekulare Grundlagen

HCM – wie auch die primäre DCM - sind genetisch heterogene Krankheiten. Diese genetische Heterogenität korreliert mit der auffälligen Unterschiedlichkeit des klinischen Erscheinungsbildes der Krankheit. Bis heute sind 12 Gene bekannt, die an der Entstehung der HCM beteiligt sind. (7) Davon kodieren 10 Gene für kardiale Sarkomerproteine. Das Sarkomer ist die kontraktile Funktionseinheit sowohl des Skelett- als auch des Herzmuskels. Obwohl die Pathogenese der HCM noch größtenteils unbekannt ist, geht man also weitestgehend davon aus, daß die HCM durch eine Störung der Krafterzeugung verursacht wird, die auf ein fehlerhaftes Protein des Sarkomers zurückgeführt werden kann. Die Hypertrophie wird dieser Theorie zufolge als Kompensationsreaktion des Herzens aufgefaßt, um die mangelnde Leistungsfähigkeit auszugleichen. Um die Tragweite der Auswirkung einer einzigen Aminosäureveränderung eines Sarkomerproteins nachvollziehen zu können, muß man wissen, daß das Sarkomer als funktioneller Grundbaustein einer Muskelzelle einen hochkomplexen Apparat darstellt. Dessen einzelne Bestandteile, also die verschiedenartigen Proteine, die an seinem Aufbau beteiligt sind, sind

äußerst präzise aufeinander abgestimmt. Daher können sich auch kleinere Veränderungen auf seine Funktionstüchtigkeit unter Umständen gravierend auswirken. Herzmuskelzellen enthalten Bündel von longitudinal angeordneten Myofibrillen, die wiederum aus hintereinander liegenden, miteinander verbundenen Sarkomeren bestehen, welche zur Kontraktion befähigt sind und insofern die Kontraktilität und Funktionalität der Herzmuskelzelle ermöglichen.



Nature Reviews | Molecular Cell Biology

Abbildung 3: Das Sarkomer – Grundeinheit der quergestreiften Muskelzelle

Bereits in der elektronenmikroskopischen Aufnahme (a) erkennt man den regelmäßigen Aufbau der quergestreiften Muskelzelle aus hintereinandergereihten Sarkomeren. Deren prinzipieller Aufbau ist in der Abbildung b schematisch dargestellt. Erklärungen: siehe Text. (Abbildung aus Nature Reviews) (51)

Das Sarkomer besteht aus zahlreichen ineinander greifenden dicken und dünnen Filamenten. Die dicken Filamente bestehen aus Myosinproteinen, welche sich aneinanderlagern und zu den Seiten hin die Myosinköpfchen, also die Kopfdomänen, die auch ATPase-Eigenschaften haben, herausragen lassen. Die dicken Filamente enthalten auch noch die myosinbindenden Proteine C, H und X. Die dünnen Filamente bestehen aus kardialem Actin, α -Tropomyosin und den Troponinen C, I und T. Die dicken Myosin-Filamente befinden sich in der Mitte, die dünnen Actin-Filamente sind zu beiden Seiten des Sarkomers angeordnet. Die Myosin-Filamente weisen im zentralen Bereich des Sarkomers die sogenannte M-Bande auf, einen schmalen Bereich, der aus Proteinen besteht, die der zentralen Aufhängung der Myosine und deren Verbindung mit dem Cytoskelett dienen. Dahingegen wird die seitliche Begrenzung des Sarkomers von der sog. Z-Linie gebildet. Diese enthält die Proteine α -Actinin, Filamin, Nebulette, Telethonin und Myotilin, welche ihrerseits die Organisation der Myofilamente aufrechterhalten, indem sie die Aktinfilamente untereinander und mit den Strukturen benachbarter Sarkomere quervernetzen und diese auch mit Titin verbinden. Titin seinerseits ist ein enorm großes Protein, das von der Z-Linie bis zur M-Bande reicht und als wesentlicher Bestandteil der elastischen Komponenten des Sarkomers fungiert. Der Kontraktionsmechanismus des Sarkomers vollzieht sich gemäß der Sliding-Filament-Theorie nach Huxley (1957). (18) Dabei gleiten die dicken und dünnen Filamente teleskopartig ineinander, was durch die periodisch ablaufenden Querbrückenschläge der Myosinköpfchen angetrieben wird, die sich unter ATP-Verbrauch in schneller Folge an Bindungsstellen der Aktinfilamente anlagern und wieder abspalten, wobei sie sich am Aktin entlangziehen. (19, 27) Die Interaktion von Myosin und Aktin wird durch den Troponin-Tropomyosin-Komplex reguliert. (47) Die dünnen Filamente bestehen aus einzelnen globulären Aktinmolekülen, die sich aneinander anlagern und perlschnurartig umeinander wickeln. Tropomyosin seinerseits legt sich in den Graben zwischen diesen Aktinschnüren und blockiert im Ruhezustand des Muskels die Bindungsstellen für die Myosinköpfchen. Der Troponinkomplex ist über Troponin T und Troponin I an Tropomyosin gebunden, und das Ca^{2+} -sensitive Troponin C verbindet Troponin T und I miteinander. Während der Systole wird Ca^{2+} freigesetzt, welches sich an das Troponin C anlagert und eine Konformationsänderung des Troponinkomplexes bewirkt. Dadurch gibt das Tropomyosin die Myosinbindungsstellen frei, und der Querbrückenzyklus des Myosins kann ablaufen.

Im ersten Schritt des Zyklus ist der Myosinkopf fest an Aktin gebunden und steht im Winkel von 45° vom Rest des Myosins ab. Sobald sich ATP an ihn anlagert, löst sich der Myosinkopf. Im Zuge der hydrolytischen Spaltung des ATP, welche durch die in ihm enthaltene ATPase durchgeführt wird, verlagert sich die Position des Köpfchens nach vorne in eine 90° Position; es wird wie eine Sprungfeder gespannt. Die Ablösung des ADP + P ermöglicht dem Köpfchen die erneute Anlagerung an eine weiter vorn gelegene Stelle des Aktins. Sobald es sich dort angelagert hat, kehrt es schnell wieder in die stabile 45° Position zurück. Im Zuge dieses letzten Schrittes, bei dem das Myosinköpfchen sich wie eine Sprungfeder wieder entspannt, zieht sich das Myosinfilament am Aktin nach vorne. Solange Ca^{2+} und ATP vorhanden sind, läuft dieser Zyklus kontinuierlich ab, und das Myosin wandert am Aktin entlang. Die Filamente schieben sich ineinander, und das Sarkomer verkürzt sich. Das Myosin ist also dasjenige Protein, welches als krafterzeugender Motor des Sarkomers fungiert. Es war auch das erste Protein, bei dem ein Zusammenhang mit der Entstehung von HCM gefunden wurde. 1989 haben Geisterfer-Lowrance et al. erstmals entdeckt, daß eine Mutation im β -MHC-Gen für das Zustandekommen der familiären HCM verantwortlich ist. (11) Seitdem wurden auch Mutationen in mehreren anderen Genen identifiziert, die HCM auslösen, wie z.B. die Gene für das kardiale Aktin (42), die Troponine T (50) , I (21) und C (15), α -Tropomyosin (50) und andere für Sarkomerproteine codierende Gene. Allerdings wurden auch Mutationen in zwei weiteren Genen gefunden, die an der Entstehung von HCM beteiligt sind, die aber nicht für Sarkomerproteine codieren. Es sind dies einerseits das zum Zytoskelett der Muskelzelle gehörende LIM-Protein (9) und andererseits ein Teil einer AMP-aktivierten Proteinkinase. (3) Letzere löst eine HCM-Variante aus, die mit frühzeitiger ventrikulärer Erregung einhergeht (Wolff-Parkinson-White-Syndrom). Allerdings scheint dieses Krankheitsbild eher durch einen Stoffwechseldefekt zu entstehen. (7) Diese Entdeckungen lassen die Komplexität der Pathogenese der HCM erkennen. Die alleinige Assoziation mit defekten Sarkomerproteinen reicht nicht zum kompletten Verständnis der Erkrankung aus.

Tabelle 1: HCM: Chromosomale Loci und Krankheitsgene

Chromosomaler Locus	Gen	Protein
1q32	TNNT2	Kardiales Troponin T
2q31	TTN	Titin
3p21	MYL3	Essentielle leichte Myosinkette
3p21 – p14	TNNC1	Kardiales Troponin C
7q36	PRKAG2*	AMP-aktivierte Proteinkinase
11p11	MYBPC3	Kardiales myosinbindendes Protein C
11p15	CLP	Kardiales Muskel-LIM-Protein
12q23 – q24	MYL2	Regulatorische leichte Myosinkette
14q12	MYH7	β -Myosin-schwere Kette
15q14	ACTC	Kardiales α -Aktin
15q22	TPM1	Alpha-Tropomyosin
19q13	TNNI3	Kardiales Troponin I

Diese Tabelle zeigt eine Übersicht der bisher bekannten Krankheitsgene.

*Neuere Daten lassen erkennen, daß Patienten mit PRKAG2-Mutationen eher an einer myokardialen Stoffwechselerkrankung leiden als an einer HCM.

(Tabelle übernommen aus Physiological Reviews (7))

Die molekularen Mechanismen, die dafür verantwortlich sind, daß ein Protein mit einer veränderten Aminosäure dazu führt, daß eine Hypertrophie des Herzmuskels auftritt, sind zum gegenwärtigen Zeitpunkt noch unklar. Da die meisten der bisher entdeckten Krankheitsgene für Sarkomerproteine kodieren, wird angenommen, daß die Hypertrophie ein Kompensationsmechanismus des Herzens ist, der in Erscheinung tritt, sobald das Sarkomer in seiner Funktion beeinträchtigt ist. Während des letzten Jahrzehnts sind vielfache Untersuchungen durchgeführt worden mit dem Ziel, grundlegende Mechanismen der Pathogenese der HCM ans Licht zu bringen. Dabei sind so unterschiedliche Ansätze erprobt worden wie z.B. die in-vivo-Untersuchung der Sarkomerfunktion in genetisch veränderten Mausmodellen einerseits und in-vitro-Studien der Interaktion einzelner Aktin- und Myosin-Proteine andererseits. Es bestehen prinzipiell zwei unterschiedliche Hypothesen zu den Entstehungsmechanismen. Zum einen ist es vorstellbar, daß ein mutiertes Protein einen dominanten negativen Einfluß auf die Funktionsfähigkeit des Sarkomers ausübt. Man spricht in diesem Fall von einem *“poison polypeptide”*, welches im gleichen Verhältnis wie das Wildtypprotein ins Sarkomer eingebaut wird und die Funktion des nicht mutierten Proteins stört. Zum anderen könnte die Funktion des Sarkomers auch dadurch beeinträchtigt sein, daß entweder mutierte Allele inaktiviert

werden, oder funktionsuntüchtige bzw. verstümmelte Proteine entstehen. Dies führt dazu, daß durch den Mangel an Wildtypprotein ein Ungleichgewicht in der Stöchiometrie der Proteine und somit eine Haploinsuffizienz vorliegt, ohne daß das mutierte Protein sich direkt schädlich auf die Wechselwirkungen der Sarkomerbestandteile auswirkt. In beiden Fällen ist die Fähigkeit des Sarkomers zur Krafterzeugung beeinträchtigt. Dieser Umstand stellt wahrscheinlich den Stimulus dar, welcher die Herzmuskelzelle dazu veranlaßt, zu hypertrophieren, um auf diese Weise den Mangel an Kraft zu kompensieren. (7) Die Faktoren, die zur Hypertrophie führen, könnten sowohl extrinsisch als auch intrinsisch sein. Jedenfalls wird durch diese Faktoren eine intrazelluläre Signalkaskade ausgelöst, die als "*hypertrophic response*" bezeichnet wird und zu einer Zunahme an Zellmasse des Myozyten führt, sowie Veränderungen der Zellkommunikation sowohl zwischen den Myozyten untereinander als auch zwischen ihnen und anderen Zellbestandteilen des Myokards bewirkt. Außerdem führt sie zu Veränderungen der Genexpression und auch zu einer lokalen Apoptose. (17) Es ist bisher noch nicht gelungen, die Faktoren, die zur hypertrophischen Antwort des Myokards führen, zu identifizieren. Zu untersuchen sind in diesem Zusammenhang sowohl die Signalwege, die auf bestimmte Veränderungen innerhalb des zellulären Geschehens der Herzmuskelzelle reagieren, als auch die komplexen Wechselwirkungen der Bestandteile des Sarkomers, die durch ihre stabilisierenden mechanischen Aufhängungsapparate und Verbindungen mit dem Cytoskelett auch selbst mit dem restlichen intrazellulären Milieu interagieren.

M-Bande und Myomesin

Während das intrazelluläre Zytoskelett, bestehend aus verschiedenen Proteinen wie z.B. Desmin, Dystrophin und zytoplasmatischem Aktin, die Aufgabe hat, die Sarkomere innerhalb der Zelle zu stabilisieren und mit den übrigen Bestandteilen des intrazellulären Milieus zu verbinden, stellt das sarkomere Zytoskelett selbst einen Aufhängungsapparat für die Sarkomerproteine dar, der entscheidend am Aufbau und Erhalt der hochgeordneten Myofibrillenstruktur beteiligt ist. Die Komponenten des sarkomeren Cytoskeletts sind einerseits die Z-Scheibe, die für die Organisation der dünnen Filamente zuständig ist, und andererseits die M-Bande, die die dicken Myosinfilamente miteinander verbindet. Außerdem werden diese beiden Strukturen durch Titin stabilisiert, welches als elastisches Element beide Hälften des Sarkomers integriert. (41) Während die Proteine, die die Z-Linie bilden, schon etwas eingehender untersucht worden sind, ist den Strukturen, die die M-Bande bilden, noch vergleichsweise wenig Aufmerksamkeit beigemessen worden. Dies ist erstaunlich, wenn man um die besondere Bedeutung der M-Bande sowohl beim Aufbau als auch der Erhaltung der Sarkomerstruktur weiß. Daher sollen nun zunächst die einzelnen Bestandteile der M-Bande im einzelnen näher betrachtet werden.

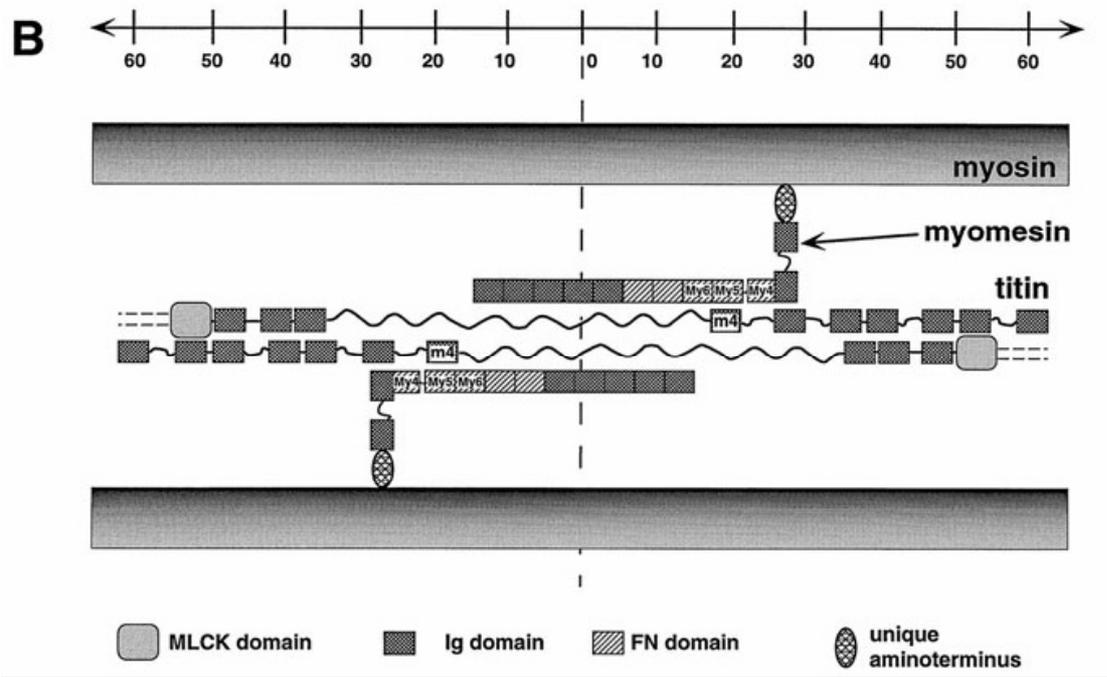


Abbildung 4: Die M-Bande – Zentraler Aufhängungsapparat des Sarkomers

Die Abbildung veranschaulicht schematisch, wie das Myomesin in der M-Bande angeordnet ist. Es ist noch nicht hinreichend geklärt, welche genaue strukturelle Anordnung die Proteine haben. Auch weiß man noch nicht genau, welche Rolle das M-Protein spielt, welches hier nicht eingezeichnet ist. Es ist jedoch bekannt, daß Myomesin mit Titin und Myosin wechselwirkt, und daß es eine die Struktur des Sarkomers stabilisierende Funktion erfüllt. (Abbildung aus The EMBO Journal (41))

Das Riesenprotein Titin reicht, nachdem es von der Z-Linie kommend das Sarkomer durchquert hat, mit seinem carboxyterminalen Köpfchen bis in die M-Bande hinein. Dort interagiert es mit zwei unterschiedlichen Proteinen, deren Hauptfunktion darin besteht, die dicken Filamente miteinander zu verbinden. Es sind dies zum einen das M-Protein und zum anderen das Myomesin, welche zu einem Anteil sequenzhomolog sind und den gleichen strukturellen Aufbau haben. Sie bestehen beide aus 13 Domänen. Die Kopfdomäne ist bei beiden Proteinen unterschiedlich. Sie wird gefolgt von 12 Domänen, die eine starke Homologie einerseits zu Fibronektin Typ III (Motiv I) und andererseits zu Immunglobulin C2 (Motiv II) aufweisen. Diese Domänen sind in der Reihenfolge –Kopf-II-II-I-I-I-I-I-II-II-II-II- angeordnet. In diesen 12 Domänen sind die Sequenzen von M-Protein und Myomesin zu über 50% identisch. Eine Splice-Variante des Myomesins ist das Skelemin, ein Strukturprotein, welches die M-Bande mit dem Cytoskelett verbindet. (48) Die folgende Abbildung stellt ein Modell dar, wie man sich die Anordnung des Myomesins in der M-Bande vorstellt. Über die genaue

Anordnung insbesondere des M-Proteins herrscht noch keine einheitliche Meinung vor. Man kann jedoch anhand der Identifizierung funktioneller Bereiche dieser Proteine bestimmte Aussagen treffen. Diese Untersuchung beschäftigt sich mit dem Myomesin. Daher soll zunächst der Stand des Wissens im Bezug auf dieses Protein erörtert werden. Myomesin enthält zunächst eine Myosinbindungsstelle in der Kopfdomäne, mit der sie fest mit dem dicken Myosin-Filament verbunden ist. Darüberhinaus interagiert es mit einer spezifischen Domäne des Titins, mit der es über die Domänen 4 bis 6 verbunden ist. Diese Interaktion wird durch eine Phosphorylierungsstelle des Myomesins reguliert, welche sich zwischen den Domänen 4 und 5 befindet. Die Phosphorylierung an dieser Stelle durch cAMP-abhängige Kinase blockiert die Bindung an Titin. Vermutlich spielt dieser Steuerungsmechanismus eine wichtige Rolle für den Aufbau und die Anordnung des Sarkomers. Darüberhinaus haben Obermann et al. eine weitere Phosphorylierungsstelle entdeckt, die sich in der letzten Domäne befindet, über deren Funktion aber bislang noch nichts bekannt ist. (41)

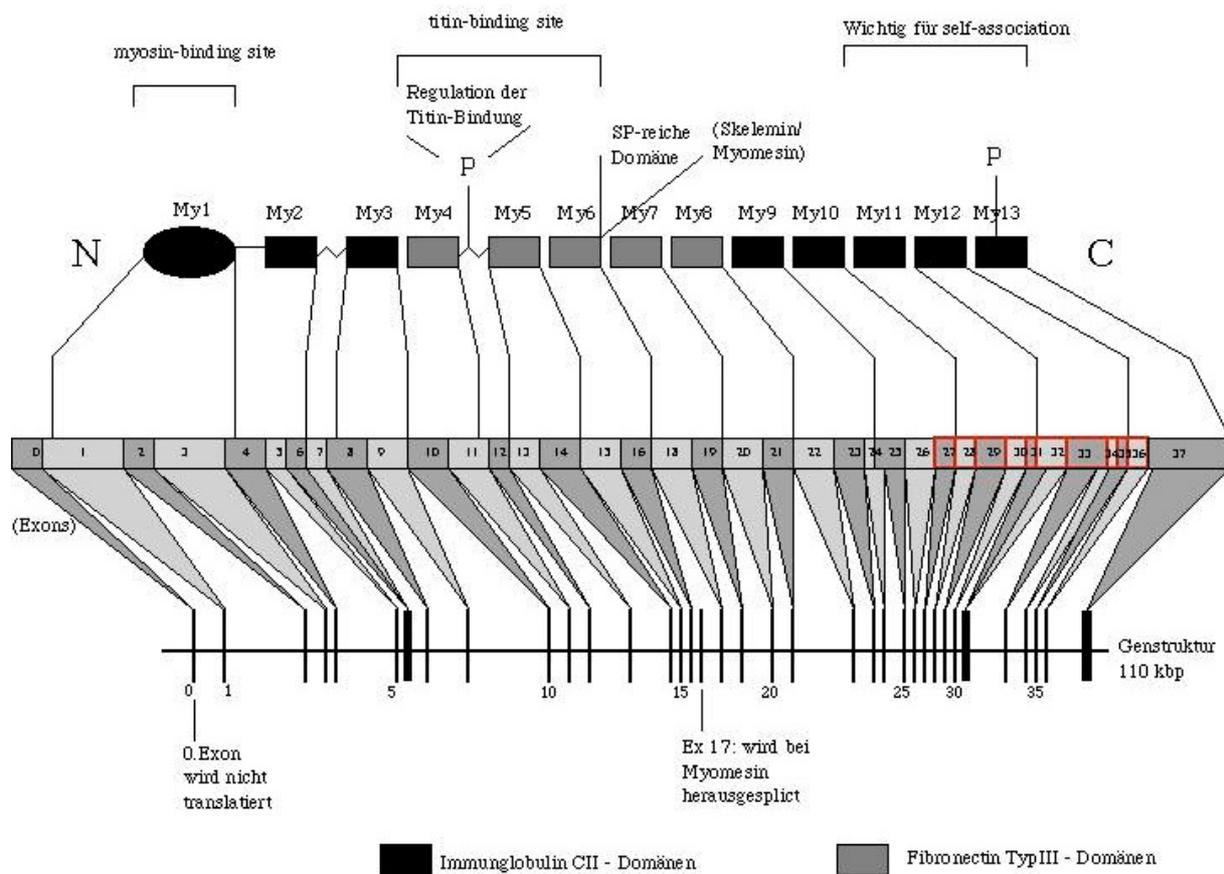


Abbildung 5: Myomesin: funktionelle Domänen und Genstruktur.

Die Abbildung zeigt den Domänenaufbau sowie die Genstruktur des Myomesins. Darüberhinaus sind funktionelle Domänen beschriftet (siehe Text). Exon 17 codiert für eine Serin/Prolin-reiche Sequenz zwischen den Domänen 6 und 7. Dieses Exon wird beim Myomesin herausgespliced, während es beim Skelemin erhalten bleibt. Die Domänen 11, 12 und 13 spielen eine Rolle bei der *self-association* des Myomesins. Phosphorylierungsstellen sind als „P“ abgekürzt.

Das Vorhandensein dieser funktionellen Gruppen läßt erahnen, daß Myomesin ein Protein ist, das auch über seine Eigenschaften als integraler Bestandteil des sarkomeren Cytoskeletts hinaus interessant ist. Ob es auch modifizierende Eigenschaften auf die Vorgänge bei der Interaktion der Sarkomerproteine hat, muß noch untersucht werden. Jedenfalls scheint Myomesin auch deshalb eine wichtige Rolle beim Aufbau des Sarkomers in der Embryogenese zu spielen, weil es schon in den frühesten Phasen der Myofibrillogenese exprimiert wird. (46) Es drängt sich daher die Frage auf, ob im Falle des Vorhandenseins einer Mutation im Myomesin, die Interaktion der Proteine des Sarkomers so weit beeinträchtigt ist, daß es zu Funktionsstörungen kommt, die sich möglicherweise in Form einer Hypertrophie manifestieren. Es ist also ein interessanter Ansatz, ein Kollektiv von HCM-Patienten im Hinblick auf Mutationen im Myomesin zu untersuchen.

Genotyp-Phänotyp-Vergleichsanalysen

Vergleicht man die unterschiedlichen Krankheitsgene und ihre phänotypischen Auswirkungen, so stellt man fest, daß der Schweregrad der Ausprägung der HCM je nach den verschiedenen Genen variiert. Mutationen im *b-Myosin-heavy-chain*-Gen manifestieren sich in einem jüngeren Alter und verursachen im allgemeinen eine ausgeprägtere Hypertrophie, die auch mit einem größeren Risiko einhergeht, den plötzlichen Herztod zu erleiden (28) als Mutationen im MyBPC- oder α -Tropomyosin-Gen. (39) Mutationen im Troponin-T-Gen verursachen eine moderate Hypertrophie, die andererseits mit einem erhöhten Risiko des plötzlichen Herztodes verbunden ist. (54) Die phänotypische Auswirkung und Schwere der Erkrankung hängt auch von der Position der Mutation im jeweiligen Gen ab. Im β -MyHC-Gen treten Mutationen auf (L908V, G256E und V606M), die einen günstigen klinischen Verlauf haben. Andererseits gibt es in demselben Gen auch solche Mutationen (R403Q, R453C und R719W) (28), die die Lebenserwartung der Patienten um bis zu 50% verringern, verglichen mit jenen günstigeren Mutationen. Es wurden verschiedene Tierexperimente und Funktionsanalysen durchgeführt, die zeigen, daß die verschiedenen Mutationen im β -MHC-Gen die mechanischen Eigenschaften der Muskelfasern auf unterschiedliche Weise beeinflussen (24, 6) bzw. den Aufbau des Sarkomers beeinflussen. (30) In der folgenden Tabelle sind einige Mutationen aufgelistet, die eine unterschiedliche Prognose im Bezug auf den plötzlichen Herztod haben. (43)

Tabelle 2: Mutationen mit unterschiedlicher Prognose

	Prognose		
Sarkomerprotein	günstig	intermediär	Ungünstig
β -Myosin Heavy Chain	Gly256Glu Leu908Val Val606Met Phe513Cys Asn232Ser	Arg249Gln Glu930Lys Val606Met	Arg403Gln Arg719Trp Arg453Cys Arg723Gly
Cardiales Troponin T	Ser179Phe	Phe110Ile	Arg92Gln Arg92Trp Ile79Asn DelGlu160 Ser179Phe (homozygot)
Myosin binding Protein-C	Alle außer SASint20	SASint20	
α -Tropomyosin	Asp175Asn		
Myosin light chains		Daten unvollst.	

In der Tabelle werden verschiedene Mutationen gegenübergestellt, die eine unterschiedliche Prognose haben. In demselben Gen können verschiedene Mutationen auftreten, die sich phänotypisch unterschiedlich auswirken. (Tabelle übernommen aus Circulation (43))

Die Unterschiedlichkeit der phänotypischen Krankheitsausprägung bei Individuen, die genau die gleiche Mutation tragen, läßt den Schluß zu, daß die Ausprägung von HCM, abgesehen von den bisher genannten Ursachen, auch auf den Einfluß verschiedener anderer Faktoren zurückzuführen ist, wie z.B. *Modifier Genes* oder auch Umwelteinflüsse. (31) Bekannte *Modifier Genes* sind die Gene für *Angiotensin-1- converting enzyme*, Endothelin-1 und verschiedene Wachstumsfaktoren. (29)

Aufgabenstellung

Kardiomyopathien sind Erkrankungen des Herzmuskels, die mit einer Einschränkung der Funktionstüchtigkeit des Herzens einhergehen. Diese Untersuchung beschäftigt sich mit der hypertrophen Kardiomyopathie.

Es wird die Fragestellung untersucht, ob Mutationen im Myomesin-Gen HCM verursachen können.

PCR-Optimierung

Es sollten die Exons 27 bis 36 des Myomesin-Gens untersucht werden. Diese codieren für die C-terminalen Domänen 11, 12, 13, sowie für einen Teil der Domäne 10. Für die zu untersuchenden Exons sollte jeweils ein spezifisches Primerpaar mit dem Computerprogramm OLIGO entwickelt werden. Es sollten die optimalen PCR-Bedingungen für diese Primer gefunden werden.

Screening

Die mittels PCR amplifizierte DNA der Exons sollte mittels SSCP auf das Vorhandensein von Mutationen untersucht werden. Zur Erhöhung der Sensitivität sollten jeweils zwei unterschiedliche Laufbedingungen der SSCP verwendet werden.

Sequenzierung

In der SSCP auffällige Proben sollten mittels automatischer DNA-Sequenzierung untersucht werden. Falls eine Mutation vorhanden wäre, sollte diese anhand eines Restriktionsenzymverdau bestätigt werden.

Untersuchung der Familie

Die Familie eines von einer Mutation betroffenen HCM-Patienten sollte analysiert werden, um zu analysieren, ob eine Cosegregation zwischen der Mutation und der hypertrophen Kardiomyopathie vorliegt.

Alle Patienten wurden vor den genetischen Untersuchungen aufgeklärt und willigten in die Untersuchungen ein. Ein entsprechendes Votum der Ethikkommission der Charité bzw. der Silesian School of Medicine liegt vor.