

1 Zusammenfassung

Herzkreislauferkrankungen wie z.B. hypertrophe und dilatative Kardiomyopathie oder Erkrankung der Herzkranzgefäße sind die Haupttodesursache in Industrienationen. Ihre Ursachen sind vielfältig und noch nicht im Detail verstanden, führen jedoch eventuell zu veränderten kontraktile oder elastischen Eigenschaften des Herzens.

Das Herz ist aus Kardiomyozyten aufgebaut. Sie kontrahieren durch das Energieverbrauchende aneinander entlanggleiten der Aktin- und Myosin-Filamente im Sarkomer, der kleinsten funktionsfähigen Einheit im Muskel. Die elastischen Eigenschaften des Sarkomers basieren auf Titin, das mit ca. 3 MDa das größte bekannte Protein ist und das halbe Sarkomer durchspannt, indem es an Z-Scheibe und M-Bande überlappt. Hierdurch bildet es ein kontinuierliches Filamentsystem. Durch seinen molekularen Aufbau aus steifen und elastischen Domänen ist Titin in der Lage, sowohl Stützfunktionen, als auch elastische Funktionen zu übernehmen. Durch seine Lage im Sarkomer, sowie dem Vorhandensein von elastischen und Signal-Domänen wurde Titin eine Rolle in der längen abhängigen Kontraktion des Herzens (Frank-Starling-Mechanismus) und der Umwandlung mechanischer Dehnung in biochemische Signale zugeschrieben.

Um den Einfluss Titins auf die mechanischen Eigenschaften des Sarkomers und damit auf die Herzfunktion *in vivo* zu untersuchen, wurden im Rahmen dieser Arbeit zwei Titin-Knockout-Modelle generiert. Dazu wurden zwei Federelemente deletiert: die herzspezifische N2B-Region und die PEVK Region. Zusätzlich zu den elastischen Eigenschaften kann die N2B Region, über FHL2 auch Hypertrophie-Signaltransduktion beeinflussen, während die PEVK-Region durch die Interaktion mit Aktin als molekulare Bremse dient.

In beiden Knockouts ist die Embryonalentwicklung normal, was nahe legt, dass die elastischen Domänen nicht die Sarkomerogenese beeinflussen. Anatomisch sind die Knockout Herzen normal, bis auf eine verringerte Herzgröße im N2B Knockout, die mit einer veränderten Hypertrophie-Signaltransduktion einhergeht (reduzierte FHL2 Proteinmenge und erhöhter ANP Spiegel). Die Herzstruktur bis hinunter zur Ebene des Sarkomers ist im N2B Knockout unverändert, abgesehen von der geringeren Ruhelänge des Sarkomers in isolierten Muskelfasern des Knockouts. Elektronenmikroskopische Untersuchungen zeigen, dass die PEVK-Region und die Immunglobulindomänen nach Verlust der N2B-Region kompensatorisch gedehnt

werden. Die Steifheit der N2B defizienten Muskelfasern wird dabei jedoch erhöht. Damit bestimmt Titins N2B-Region die Ruhelänge und mechanischen Eigenschaften des Sarkomers.

Die erhöhte Steifheit der Muskelzellen und letztendlich des Ventrikels wird teilweise durch erhöhte Expression der schlafferen N2BA Isoform ausgeglichen. Trotzdem resultiert aus der N2B Deletion eine diastolische Fehlfunktion, die durch echokardiographische Analyse dokumentiert wurde. Der kleinere, steifere Ventrikel erreicht durch erhöhte Kontraktion das Pumpvolumen des Wildtyps. Die systolische Funktion des N2B defizienten Ventrikels ist im isoliert arbeitenden Herzen unverändert. Somit hat die Deletion der N2B-Region keinen Einfluss auf die Dehnungsabhängige Pumpfunktion des Herzens (Frank-Starling Mechanismus). Der PEVK Knockout zeigt ebenfalls eine diastolische Fehlfunktion in der Echokardiographie, die jedoch durch eine erhöhte Pulsfrequenz kompensiert wird.

Die isolierten Kardiomyozyten von N2B und PEVK Knockout zeigen unterschiedliche kontraktile Eigenschaften. Während die Zellen des PEVK Knockouts eine gesteigerte Kontraktilität besitzen, ist sie in homozygot N2B defizienten Kardiomyozyten reduziert, möglicherweise über FHL2 und dessen Einfluss auf den Sarkomer-Stoffwechsel.

Nach Deletion der N2B oder PEVK-Region ist die Lokalisierung der jeweiligen Bindungspartner unverändert. Die FHL2-Proteinmenge unterscheidet sich jedoch abhängig von der vorliegenden Deletion. Bei Verlust der N2B-Region ist FHL2 stark reduziert, während der Verlust der PEVK-Region zur verstärkten Expression führt. Somit scheint die Regulation der Expression von FHL2, welches auch in Herzerkrankungen unterschiedlich stark exprimiert wird, von der I-Bande abhängig zu sein.

Die in der vorliegenden Arbeit erzeugten Tiermodelle zeigen eine Funktion von Titin sowohl im Hypertrophie-Signalweg als auch in der elastischen Funktion des Herzens. Sie sind die ersten genetischen Modelle um die diastolische Dysfunktion zu studieren und ermöglichen es neue Ansätze zur Therapie der diastolischen Herzerkrankung zu etablieren.