

## **I. Einleitung**

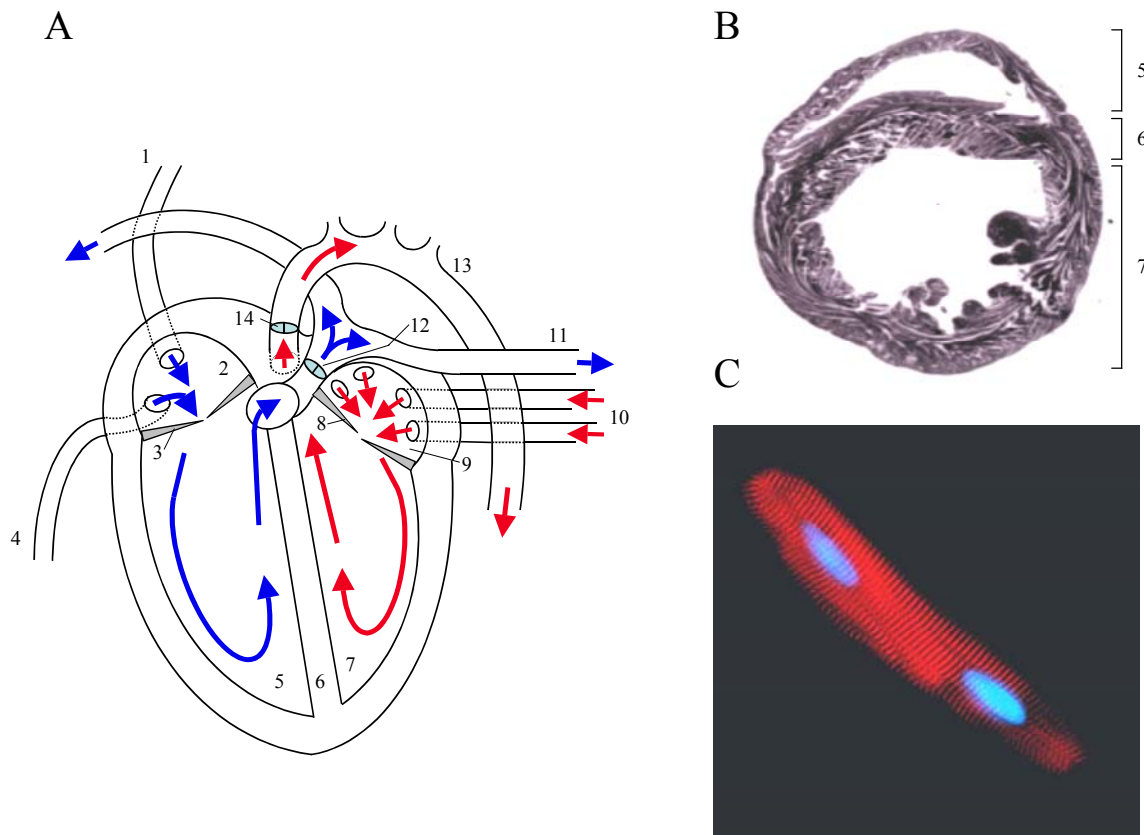
Der Herzmuskel ist für die Sauerstoff- und Nährstoffversorgung sämtlicher Organe zuständig. Eine Beeinträchtigung der Herzfunktion hat negative Folgen für den gesamten Organismus. Diese Arbeit beschäftigt sich mit den molekularen Grundlagen der krankhaften Herzvergrößerung. Zunächst werden die Anatomie, Physiologie und die Entwicklung des Herzens dargestellt. Es folgt die Beschreibung des Phänotyps und der Ursachen, sowie die Aufzählung der wichtigsten, bekannten Signalmoleküle bei der krankhaften Herzvergrößerung. Im letzten Teil der Einleitung wird die Zielsetzung der vorliegenden Arbeit dargestellt.

### **1.1 Anatomie und Physiologie des Herzens**

#### **1.1.1 Der makroskopische Aufbau des Herzens und die Pumpfunktion**

Der Herzmuskel ist eine aus zwei Kammern (Ventrikel) bestehende Pumpe: Die dünnwandige rechte Herzkammer pumpt das Blut durch den Lungenkreislauf; die kräftigere linke Herzkammer treibt das Blut zu allen anderen Organen. Beide Ventrikel sind durch die Herzscheidewand (Septum cardiale) getrennt (Abb. 1A und B). Jedem Ventrikel ist ein Vorhof (Atrium) vorgeschaltet; beide werden jeweils durch eine Segelklappe (Trikuspidalklappe in der rechten Herzhälfte bzw. Mitralklappe in der linken Herzhälfte) getrennt (Abb. 1A). Über grosse Venen fließt das sauerstoffarme Blut des gesamten Körpers (ausser der Lunge) passiv und durch Kontraktion des rechten Atriums durch die geöffnete Segelklappe in den rechten Ventrikel. Das Schliessen der Trikuspidalklappe verhindert einen Rückstrom des Blutes in das rechte Atrium. Durch Kontraktion des rechten Ventrikels wird das Blut im nächsten Schritt über die Lungenschlagader in die Lunge gepumpt. Rechter Ventrikel und Lungenschlagader sind durch eine Taschenklappe (die sogenannte Pulmonalklappe) voneinander getrennt, die den Blutrückfluss vom Gefäss in den Ventrikel verhindert. Nach Anreicherung mit Sauerstoff in der Lunge fließt das Blut über die Lungenvenen in das linke Atrium, von wo aus es über die geöffnete Mitralklappe passiv und durch Kontraktion des Atriums in den linken Ventrikel gelangt. Die Kontraktion des linken Ventrikels befördert das Blut in die grosse Körperarterie (Aorta), von wo es über die immer feiner werdenden Verästelungen der Arterien alle Teile des Körpers erreicht. Auch linker Ventrikel und Aorta sind durch eine Taschenklappe, die sogenannte Aortenklappe, getrennt. An der Stelle, wo die Aorta das Herz verlässt, zweigen die beiden Hauptarterien für die

Blutversorgung des Herzens ab, die rechte und linke Koronararterie. Die sich immer weiter verästelnden Arterien werden in ihrer Gesamtheit als Herzkranzgefäße bezeichnet.



### Abb. 1: Anatomie und Zellularität des Herzens

**(A) Schematische Darstellung des Herzens.** Obere Hohlvene (1), Rechtes Atrium (2), Trikuspidalklappe (3), Untere Hohlvene (4), Rechter Ventrikel (5), Septum cardiale (6), Linker Ventrikel (7), Mitralklappe (8), Linkes Atrium (9), Lungenvenen (10), Lungenschlagader (11), Pulmonalklappe (12), Aorta (13), Aortenklappe (14). Blaue Pfeile: Sauerstoffarmes Blut. Rote Pfeile: Sauerstoffreiches Blut. **(B) Querschnitt eines Mausherzens.** Zuordnungen wie bei A. **(C) Immufärbung eines adulten Kardiomyozyten.** Die Immufärbung erfolgte mit einem TRITC(rot)-gekoppelten Antikörper gegen Myomesin und mit DAPI zur Färbung der beiden Kerne. Myomesin ist ein sarkomerisches Protein. 40fache Vergrößerung (Ausschnitt).

Die Pumpfunktion des Herzens lässt sich in vier Phasen unterteilen.

- Entspannungsphase: Das Blut strömt aus den Venen in die Vorhöfe. Dabei sind alle Klappen geschlossen.
- Diastole (Füllungsphase): Die Ventrikelmuskulatur ist erschlafft und es herrscht ein niedriger Druck in den Ventrikeln. Durch die geöffneten Segelklappen fließt das Blut aus den Atria in die Ventrikel. Die Taschenklappen bleiben geschlossen.
- Systole (Anspannungsphase): Die Muskulatur der Ventrikel kontrahiert, was durch die geschlossenen Taschenklappen zur Druckerhöhung im Ventrikel und zum Schliessen der Segelklappen führt.

d) Systole (Austreibungsphase): Durch den steigenden Druck in den Ventrikeln öffnen sich die Taschenklappen und das Blut wird über die Schlagadern in den Körper getrieben.

### **1.1.2 Die Zellularität des Herzens**

Der Herzmuskel besteht aus mehreren Zelltypen, darunter ein Drittel Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten). Adulte Kardiomyozyten sind quergestreifte, langgestreckte Zellen, die ca. 10-30 µm breit und 80-150 µm lang sind (Abb. 1C). Sie sind die grössten Zellen im Herzmuskel und machen bis zu 75 % seines Volumens aus (1). Adulte Kardiomyozyten besitzen in der Regel zwei Kerne (Abb. 1C). Die fädigen Strukturen im Inneren der Kardiomyozyten sind Myofibrillen, die aus hintereinander geschalteten kontraktile Einheiten (Sarkomeren) bestehen. Sarkomere setzen sich aus dicken und dünnen Filamenten zusammen. Die dicken Filamente bestehen aus Myosin schwere-Kette (myosin heavy chain, MHC), Myosin leichte-Kette (myosin light chain, MLC) und Myosin-bindenes Protein C (myosin binding protein C, MBP-C). Dünne Filamente setzen sich aus Aktin, dem Troponinkomplex und Tropomyosin zusammen.

Zu den Nichtmyozyten im Herzmuskel gehören Fibroblasten, Endothelzellen und glatte Gefässmuskelzellen der Herzkranzgefässe sowie Macrophagen und Mastzellen (2). Der Raum zwischen den Kardiomyozyten, das sogenannte Interstitium, enthält Fibroblasten, Blutgefäße, Lymphgefäße, adrenerge Nervenenden und extrazelluläre Matrixproteine (ECM-Proteine). ECM-Proteine werden vornehmlich von Fibroblasten produziert und bilden ein Netzwerk, das hauptsächlich aus Kollagen I und III besteht. Dieses gewährleistet die Ausrichtung der Myofibrillen innerhalb der Kardiomyozyten durch die Integrin-vermittelte Verbindung zwischen extrazellulärem Kollagen und intrazellulären Myofibrillen sowie die Übersetzung der individuellen Myozytenverkürzungen in die Pumpfunktion des Herzens (3). Zusätzlich bewirkt es eine passive Steifigkeit der Ventrikelwand, die der Verkürzung der Kardiomyozyten entgegenwirkt und den Ventrikel in der Diastole seine entspannte Form einnehmen lässt (1).

## **1.2 Das Wachstum des Herzens vor und nach der Geburt: Mitose und physiologische Hypertrophie**

### **1.2.1 Das embryonale Herz wächst durch Zellteilung (Mitose)**

Während der Embryogenese entstehen Kardiomyozyten aus mesodermalen Vorläuferzellen (4). Bei der Ratte treten die ersten kontrahierenden Kardiomyozyten im 8 Tage alten Fötus auf. Diese unvollständig differenzierten, einkernigen Zellen besitzen nur im Fötus und

neugeborenen (neonatalen) Tier Mitoseaktivität. Im Zeitraum zwischen Entwicklungstag E15 und der Geburt verzehnfacht sich ihre Anzahl durch Teilung; das Herz wächst durch eine Zunahme der Zellzahl (Hyperplasie) (5). In den ersten drei Tagen nach der Geburt erhöht sich die Anzahl an Kardiomyozyten durch Mitose nochmal um 68 % (6). Danach erlischt die Teilungsaktivität von neonatalen Kardiomyozyten. Auch enddifferenzierte Kardiomyozyten im adulten Organismus haben keine Fähigkeit zur Zellteilung mehr.

Die Arretierung der Zellteilung während der postnatalen Herzentwicklung spiegelt sich in der Regulation des Zellzyklus bei Kardiomyozyten wieder. Generell lässt sich der Zellzyklus im Säugetier in die G0/G1-(Ruhephase), die S-(DNA-Synthese), die G2-(Zwischenphase) und die M-Phase (Mitose) unterteilen. Die einzelnen Phasen sowie die Übergänge werden durch die Interaktion von Zyklinen, Zyklin-abhängigen Kinasen (CDKs) sowie Zyklin-abhängigen Kinaseinhibitoren (CKIs) gesteuert. Zykline und CDKs fördern dabei den Fortgang des Zellzyklus.

Kardiomyozyten, die aus ein oder zwei Tage alten Ratten isoliert wurden, enthalten sowohl auf mRNA- als auch auf Proteinebene deutlich nachweisbare Mengen an mitosesteuerndem Zyklin A und Zyklin B (7). Im adulten Herz sind beide mRNAs nicht mehr nachweisbar. Auf Proteinebene ist eine drastische Abnahme von Zyklin A und B bereits ab einem Alter von 2 Tagen zu beobachten und die Proteine sind bei 6 Tage alten Tieren kaum noch nachweisbar. Die Aktivitäten von CDK 2 und CDK 4 sinken ähnlich deutlich während der ersten beiden Tage nach der Geburt (7).

Die CDK Inhibitoren lassen sich in die INK4- und die CIP1/KIP1-Familie einteilen. INK4 Proteine inaktivieren CDK4 und CDK6 durch Bildung binärer Komplexe, während CIP1/KIP1 Inhibitoren verschiedene CDKs regulieren. Knockout Mäuse, die ubiquitär defizient für INK4 oder CIP1/KIP1 ( $p27^{Kip1}$ ) sind, zeigen durch Hyperplasie allgemein vergrößerte Organe (8,9). Das Herzgewicht von homozygoten  $p27^{KIP1}$  knockout Mäusen ist bereits zwei Tage nach der Geburt um 40% erhöht und die Herzen enthalten eine 2-3 fache erhöhte Anzahl an Kardiomyozyten (10). In Wildtyp-Ratten ist die Menge an  $p27^{KIP1}$  Protein im Herzen ab der Geburt verstärkt nachweisbar (11).

Die Arretierung des Zellzyklus bei Kardiomyozyten ist vor allem in Bezug auf die Regeneration des Herzens nach Verletzung von Bedeutung. Abgestorbene Kardiomyozyten (z.B. durch Infarkt) können nicht durch Proliferation ersetzt werden. Auch unter Stressbedingungen mit erhöhter Arbeitsbelastung entstehen keine neuen Kardiomyozyten. In beiden Fällen wird eine Leistungssteigerung des Herzmuskels ausschliesslich durch Größenwachstum der vorhandenen Kardiomyozyten erreicht.

### **1.2.2 Postnatal wächst das Herz nur noch durch Zellvolumenzunahme (Hypertrophie)**

Allgemein gesehen stellt die Hypertrophie des Herzmuskels die Anpassung an eine Druck- oder Volumenüberbelastung des Ventrikels dar. Die verstärkte Dehnung der Ventrikelwand (mechanischer Stress), sowie sekundäre neurohormonale Veränderungen bewirken bei Kardiomyozyten ein Grössenwachstum, mit dem eine Zunahme an kontraktilen Elementen einhergeht (Hypertrophie). Oftmals findet auch eine Kernteilung (Karyogenese) statt. Die Zellteilung (Zytokinese) bleibt jedoch aus. Aus dem Größenwachstum der Kardiomyozyten resultiert ein Dickenwachstum der Herzwände (Abb. 2). Hypertrophie findet sowohl unter physiologischen als auch unter pathologischen Bedingungen statt.

### **1.2.3 Ein gesteigerter Stoffwechsel verursacht die physiologische Hypertrophie im neugeborenen und adulten Organismus**

Im neonatalen Organismus verursacht das Körperwachstum erhöhte Anforderungen an die Pumpleistung des Herzens. Nach Einstellung der Teilungsfähigkeit der Kardiomyozyten kurz nach der Geburt, wächst das Herz ausschliesslich durch Hypertrophie. Rattenkardiomyozyten zeigen bis mindestens 12 Tage nach der Geburt eine kontinuierliche Volumenzunahme. Diese wird zwar weiterhin von DNA-Synthese und Kernteilung begleitet, die Zellteilung bleibt jedoch aus. Zwölf Tage nach der Geburt sind mehr als 90 % der Kardiomyozyten binukleär (6).

Im adulten Organismus wird die physiologische Hypertrophie durch regelmässige, sportliche Höchstleistungen verursacht. Der linke Ventrikel von Hochleistungsradfahrern weist 45% mehr Masse als der von Kontrollindividuen auf (12). Bei Frauen wird die physiologische Hypertrophie auch durch Schwangerschaft ausgelöst (13). Im Gegensatz zur pathologischen Hypertrophie ist die physiologische Hypertrophie im adulten Organismus reversibel, da der Auslöser zeitlich begrenzt ist.

## **1.3 Die pathologische Hypertrophie: Ursachen und Merkmale**

### **1.3.1 Dauerstress verursacht die pathologische Hypertrophie im adulten Herzen**

Pathologische Hypertrophie wird durch chronische Stresssignale oder eine Verletzung des Herzens ausgelöst. Man unterscheidet extrinsische Ursachen/Stimuli wie Bluthochdruck (Hypertonie), Verengung der Aorta (Stenose), Klappeninsuffizienz, Teilverlust des Herzmuskels durch Infarkt etc. sowie intrinsische Ursachen wie Mutationen in für sarkomerische Proteine kodierenden Genen. Während Hypertonie und Aortenstenose zu einer

Drucküberbelastung führen, sind Klappeninsuffizienz und Infarkt Auslöser für eine Volumenüberbelastung des Ventrikels.

### 1.3.2 Extrinsische Ursachen der pathologischen Hypertrophie

Auslöser für den **Herzinfarkt** ist der Verschluss eines der Herzkranzgefäße, der zu einer unzureichenden Sauerstoff- und Nährstoffversorgung (Ischämie) des umliegenden Muskelgewebes führt. Die betroffenen Zellen sterben durch Nekrose (passiver Zelltod) (14) und Apoptose (aktiver, programmierter Zelltod) (15). Die verdünnte Ventrikelwand im Bereich des Infarktes ist einem gesteigertem mechanischem Stress ausgesetzt. Dieser, sowie die durch die geringere Pumpleistung ausgelöste Hypotonie, bewirken die Freisetzung von Peptidhormonen wie Angiotensin. Angiotensin ist neben mechanischem Stress ein wichtiger Hypertrophiestimulus (14). Es kommt zur Hypertrophie im verbliebenen Gewebe.

Bei der **Aortenstenose** handelt es sich um eine Einengung der Aortenklappe nach einer Entzündung oder durch Verkalkung. Sie führt zur Behinderung des systolischen Blutauswurfs, was zu einer Zunahme des Druckes innerhalb des linken Ventrikels führt. Im Mausmodell wird die Stenose durch teilweisen Verschluss der Aorta mittels einer Ligation herbeigeführt. Nach 4 Wochen Stenose ist das Gewicht des linken Ventrikels um 50 % erhöht und der intraventrikuläre Druck hat sich verdoppelt (16).

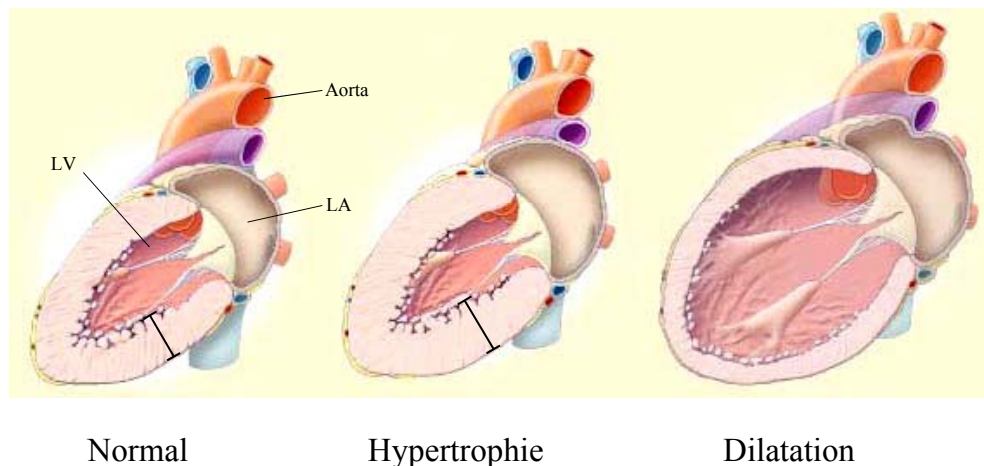
Bei der **Klappeninsuffizienz** schliesst sich die Aortenklappe nach Auswurf des Blutes nur unvollständig. Dadurch fließt schon ausgeworfenes Blut während der Diastole aus der Aorta in den Ventrikel zurück. Dieses verursacht zusammen mit dem durch das linke Atrium einfließende Blut eine Volumenüberbelastung des Ventrikels.

Die Ursachen von **Hypertonie** sind in den meisten Fällen nicht offensichtlich. Neben Lebensstilfaktoren (Übergewicht, hoher Salzkonsum etc.) kann eine genetische Veranlagung der Auslöser sein. In 10-20% der Fälle entsteht die Hypertonie sekundär in Folge einer Organ- oder Systemerkrankung (Nierenleiden, Diabetes mellitus). Auch arterieller Bluthochdruck führt zu einer Drucküberbelastung des linken Ventrikels. Bei Menschen mit normalem systolischen Blutdruck (< 140 mm Hg) beträgt das Risiko eine linksventrikuläre Hypertrophie zu bekommen 1,3-1,6 %. Bei gemäßigtem Hochdruck (140-160 mm Hg) oder bei hohem Blutdruck (> 180 mm Hg) steigt dieses Risiko auf 2,7-5,6% bzw. auf 12-19% (17). Im Tiermodell entwickeln spontan hypertensive Ratten eine Hypertrophie (18).

### 1.3.3 Intrinsische Ursachen der pathologischen Hypertrophie

Der sogenannten familiären Hypertrophie liegen über 100 Mutationen in 10 für sarkomere Proteine kodierenden Genen zugrunde. Diese betreffen in 75 % der Fälle das MHC-, das MBP-C- oder das Troponin T-Gen (19). Die veränderten Proteine beeinträchtigen allgemein den Kontraktionsvorgang der Kardiomyozyten, z. B. durch Desensibilisierung für kontraktionsauslösendes Kalzium (20).

Durch verminderte Kontraktion gerät das Herz unter eine zunehmende Arbeitsbelastung. Die geschätzte Verbreitung der genetisch bedingten hypertrophen Kardiomyopathie in der Bevölkerung beträgt 0.2 %.



**Abb. 2: Schematische Darstellung von Hypertrophie und Dilatation.**

Bei der Hypertrophie sind die Wände des linken Ventrikels verdickt. Bei der Dilatation hat eine Verringerung der Wanddicke und eine Vergrößerung des Ventrikelvolumens stattgefunden. LV: Linker Ventrikel, LA: Linkes Atrium. Verändert nach Jessup et al. 2003.

### 1.3.4 Phänotypische Merkmale der pathologischen Hypertrophie

**a) Makroskopische Merkmale:** Makroskopisch zeichnet sich die Hypertrophie durch eine Zunahme des Herzgewichtes aus (Abb. 2). Bei Erwachsenen werden linke Ventrikel die schwerer als 143 g/m (Männer) bzw. 102 g/m (Frauen) sind, als hypertrophiert angesehen. Das Herzgewicht wird mittels Ultraschall bestimmt (21).

**b) Zelluläre Merkmale:** Auf zellulärer Ebene ist das wesentliche Merkmal das Größenwachstum der Kardiomyozyten. Die Hypertrophie der Kardiomyozyten zieht strukturelle Anpassungen des umgebenden Gewebes nach sich, die das Kollagennetzwerk, Blutgefäße und Nervenenden betreffen. Eine wichtige Rolle spielt dabei die Proliferation von Fibroblasten, die die Hauptproduzenten extrazellulärer Matrixproteine darstellen. Im *in vitro* Modell wird Volumenüberbelastung durch mechanischen Stress simuliert, was zu einer Hyperplasie von Fibroblasten führt (22).

**c) Molekulare Merkmale:** Auf molekularer Ebene umfasst die Ausbildung der Hypertrophie die Expression von Proto-onkogenen (sog. immediate-early genes), die Reexpression fötaler Gene, eine gesteigerte Proteinsynthese, sowie eine Vervielfachung und eine verstärkte Organisation der Sarkomere.

Die **Protoonkogene** c-fos und c-myc, sowie das Hitzeschockgen hsp70 werden im Rattenherz bereits ein bis zwei Stunden nach dem Hypertrophiestimulus verstärkt exprimiert (23).

Bei den reexprimierten **fötalen Genen** unterscheidet man kontraktile Proteine-kodierende ( $\beta$ -myosin heavy chain ( $\beta$ -MHC),  $\alpha$ -skeletal actin ( $\alpha$ -skA), und andere) und nicht-kontraktile Proteine-kodierende (atrial natriuretic peptide (ANP), brain natriuretic peptide (BNP), und andere). Wird bei Ratten Hypertrophie durch teilweisen Verschluss der Aorta induziert, kommt es bereits zwei Tage nach dem Eingriff zu einer verstärkten kardialen Expression von fötalem  $\beta$ -MHC (24) und von  $\alpha$ -skA (23). Fötale und adulte Isoformen kontraktiler Proteine haben teilweise unterschiedliche mechanische Eigenschaften. Bei der Maus bewegt sich die  $\beta$ -Isoform von MHC, im Vergleich zur adulten Isoform ( $\alpha$ -MHC), mit zweifach geringerer Geschwindigkeit am Aktin entlang (25), während beide Isoformen in ihrer Kraftentwicklung vergleichbar sind. Beim Aktin besitzt das fötale  $\alpha$ -skA ein grösseres Kontraktionspotential als seine adulte Isoform ( $\alpha$ -cardiac actin) (26). Zusammengefasst bedeutet der Wechsel zu fötalen Isoformen bei den kontraktilen Proteinen eine Ökonomisierung beim Energieverbrauch. Bei den nicht-kontraktilen Proteinen werden ANP und BNP während der Hypertrophie *in vivo* im Herzen reexprimiert (23) (27). Allerdings haben ANP und BNP im Tiermodell *in vivo* eine antihypertrophische Wirkung (28,29).

Eine gesteigerte **Proteinsynthese** lässt sich in isolierten Herzen aus juvenilen Ratten sowohl nach Erhöhung des intralinksventrikulären Drucks als auch nach Perfusion mit dem Hypertrophie-auslösenden Peptidhormon Angiotensin II nachweisen (30).

Die verstärkte **Organisation von Sarkomeren** während der Hypertrophie wurde in neonatalen Kardiomyozyten in Kultur gezeigt. Die Bildung von Vorläufer- und reifen Myofibrillen lässt sich bereits nach 5 minütiger Stimulation mit Angiotensin II beobachten und ist nach 30 Minuten abgeschlossen (31). Die im Zuge der Hypertrophie gesteigerten molekularen Prozesse sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Die Expression von Protoonkogenen tritt nicht nur während der Hypertrophie in Kardiomyozyten auf, sondern auch im Zuge der Zellteilung von mitotisch aktiven Zellen, z. B. Fibroblasten (32). Auch die Reexpression fötaler Gene findet in proliferierenden Zellen statt (33). Somit ähneln die frühen Phasen der Hypertrophie denen der Zellteilung. Darüber



hinaus können sich bei hypertrophierenden Kardiomyozyten auch die Kerne teilen (s.o). Die Zytokinese bleibt jedoch letztendlich aus.

<b>Zelluläre Prozesse, die im Zuge der Hypertrophie gesteigert werden</b>
<ul style="list-style-type: none"> <li>• Expression von Proto-Onkogenen (c-myc, c-fos, c-jun, hsp70)</li> <li>• Expression fötaler Gene (<math>\beta</math>-MHC, <math>\alpha</math>-sk Aktin, ANP, BNP)</li> <li>• Proteinsynthese</li> <li>• Anzahl/Organisation kontraktiler Einheiten</li> <li>• Zellvolumen</li> <li>• Energieeffizienz</li> </ul>

**Tabelle 1: Hypertrophie-induzierte Veränderungen bei Kardiomyozyten**

Abkürzungen: ANP: atrial natriuretic peptide,  $\alpha$ -sk Aktin:  $\alpha$ -skeletal Aktin, BNP: brain natriuretic peptide,  $\beta$ -MHC:  $\beta$ -myosin heavy chain, hsp: heat shock protein.

**1.3.5 Die pathologische Hypertrophie stellt ein erhöhtes Risiko für die Herzinsuffizienz dar**

Ursprünglich wurde Hypertrophie als positiver Anpassungsmechanismus an eine chronische Stressbelastung des Herzens betrachtet, der die durch Überbelastung entstehende Wandspannung kompensiert und die Aufrechterhaltung der Herzfunktion unter erschwerten Bedingungen gewährleistet. Im Tiermodell erhöht sich der akute Wandstress aufgrund einer Zunahme des intraventrikulären Drucks durch teilweisen Verschluss der Aorta um mehr als 50%. Die sich im Laufe von zwei Wochen entwickelnde Hypertrophie vermindert die Wandstressbelastung um 30 % (34). Beim Menschen bewirkt die Hypertrophie eine Normalisierung des Wandstress während der Systole sowohl bei Volumen- als auch bei Drucküberbelastung (35). Dieser Zusammenhang geht auch aus der LaPlace'schen Formel hervor (21):

$$\text{Wandspannung} = \frac{(\text{systolischer Ventrikeldruck} \times \text{Radius des Ventrikels})}{(2 \times \text{Ventrikelwanddicke})}$$

Die Hypertrophie stellt zudem eine Ökonomisierung des Energiestoffwechsels dar. Das adulte Herz produziert unter normalen Bedingungen ATP durch Oxidation langkettiger Fettsäuren in

den Mitochondrien. Im Zuge der Hypertrophie kommt es zu einer Unterdrückung der Fettsäureoxidation. Zur Energiegewinnung wird nun wie im fötalen Herzen vermehrt Glukose eingesetzt. Dies kann als Adaptation gewertet werden, da der Sauerstoffverbrauch zur ATP-Gewinnung reduziert wird (36). Parallel dazu wird die energiesparende  $\beta$ -Isoform des kontraktilen MHC vermehrt exprimiert.

Mittlerweile gibt es zunehmend Hinweise, dass die Reduktion des Wandstress durch Hypertrophie keine Voraussetzung für eine Aufrechterhaltung der Herzfunktion unter Stressbedingungen ist. Ein gutes Beispiel hierfür sind transgene Mäuse, bei denen ein Hypertrophie-vermittelnder Signalweg blockiert ist. Diese entwickeln nach Drucküberbelastung nur eine eingeschränkte Hypertrophie und zeigen erhöhten Wandstress. Trotzdem entwickeln die transgenen Tiere keine Herzfehlfunktion nach Langzeitbelastung - im Gegensatz zu Wildtypmäusen mit normalisiertem Wandstress (37). Obwohl Hypertrophie kurzfristig einen positiven Effekt auf die Herzfunktion unter Belastung bewirkt, trägt sie langfristig zur Entwicklung von Herzinsuffizienz oder plötzlichem Herztod bei. Nach Auswertung einer Vielzahl von klinischen Studien erhöht eine linksventrikuläre Hypertrophie das Risiko für eine nachfolgende kardiovaskuläre Erkrankung bzw. das Sterblichkeitsrisiko durchschnittlich jeweils um mehr als das doppelte (38). Patienten, deren linksventrikuläre Hypertrophie durch medikamentöse Behandlung zurückgeht, weisen ein geringeres Risiko kardiovaskulärer Mortalität auf (39).

### **1.3.5.1 Die Ursachen der Herzinsuffizienz**

Beim Übergang von der Hypertrophie zur Herzinsuffizienz spielen Faktoren wie der Zelltod von Kardiomyozyten, sowie die Akkumulation von ECM-Proteinen wie Kollagen (Fibrose) eine Rolle. Die Abnahme der Ventrikelwanddicke durch Kardiomyozytenverlust und die Vergrößerung des Ventrikelvolumens (Dilatation) steigern den Wandstress (s. Formel von LaPlace und Abb. 2). Der Mangel an kontraktilen Einheiten und die zunehmende Steifigkeit des Ventrikels durch Fibrose verringern die Auswurfleistung des Herzens immer weiter (40). Im Endstadium kommt es zu diastolischer und systolischer Fehlfunktion (Herzinsuffizienz). Herzinsuffizienz betrifft in den USA mehrere Millionen Menschen und verursachte schon in den 90iger Jahren jährliche Kosten von 40 Milliarden Dollar (41). In früheren Untersuchungen betrug die Mortalitätsrate bei der Diagnose von Herzinsuffizienz für die folgenden 5 Jahre 50%.

### 1.3.5.2 Der Verlust von Kardiomyozyten durch Apoptose und Nekrose

Der programmierte Zelltod (Apoptose) ist morphologisch durch Zellschrumpfung, der Bildung von Membranbläschen und DNA-Fragmentierung gekennzeichnet. Der extrinsische Apoptosesignalweg beginnt mit der Aktivierung der „death receptor“-Familie (Fas und TNF-Rezeptor) durch Bindung des jeweiligen Liganden. Beim intrinsischen Apoptosesignalweg bewirkt Zellstress die Freisetzung von Cytochrom c aus den Mitochondrien. Mitglieder der Bcl-2 Proteinfamilie schützen (Bcl-2, Bcl-xL) oder schädigen (Bax, Bak etc.) die Integrität der Mitochondrienmembran. Bei beiden Apoptosesignalwegen wird der Zelltod durch die Aktivierung von speziellen Proteasen (sog. Caspasen) verursacht, die die Spaltung von Zellproteinen katalysieren. Die Funktion der Caspasen wird durch Mitglieder der IAP (inhibitor of apoptosis proteins)-Familie antagonisiert (42).

Bei der Nekrose verursacht die Schädigung der Plasmamembran die Zerstörung der zellulären Homöostase durch Flüssigkeitseintritt und Verlust von intrazellulären Molekülen. Letztere bewirken die Anlockung von inflammatorischen Zellen.

Bei Mäusen, die Myotrophin herzspezifisch überexprimieren, kommt es beim Übergang von Hypertrophie zu Herzinsuffizienz zur Expression verschiedener Apoptoseproteine (death receptor, Mitglieder der Bcl2-Familie, Caspasen) sowie zu deutlicher Apoptose von Kardiomyozyten (43). Die verstärkte Expression des proapoptotischen Bcl2-Proteins Nix wurde ebenfalls bei extrinsisch induzierter Hypertropie beschrieben (44).

### 1.3.5.3 Die Beeinträchtigung der Herzfunktion durch Fibrose

Die Anreicherung von Kollagen I und weiteren Proteinen der extrazellulären Matrix im Interstitium (Fibrose) führt zu einer zunehmenden Versteifung des Ventrikels, was sowohl die Kontraktion als auch die Entspannung beeinträchtigt (45). Zusätzlich erschwert Fibrose den Leitungswiderstand zwischen benachbarten Kardiomyozyten (46), so dass Arrhythmien vermehrt auftreten können (47). Daneben könnte auch Fibrose einen Beitrag zum vermehrten Verlust von Kardiomyozyten beitragen. Sie bewirkt die Reduktion der Kapillardichte, was die Diffusionswege von Sauerstoff zu den Kardiomyozyten verlängert und chronische lokale Hypoxie hervorruft (48). *In vitro* induziert Hypoxie bei adulten Kardiomyozyten vor allem Nekrose und in einem geringeren Maß Apoptose (49). Fibrotische Proteine werden während der Hypertrophie durch Fibroblasten gebildet. Sowohl bei Druck- als auch bei Volumenüberbelastung des Herzens treten systemische wie auch lokale neurohormonale

Veränderungen auf. Das beste Beispiel hierfür ist das Renin-Angiotensin-System (RAS, s.u.). Angiotensin steigert bei Fibroblasten *in vitro* die Kollagensekretion (50).

Im Gegensatz zur pathologischen Hypertrophie führt die physiologische Hypertrophie in der Regel nicht zur Herzinsuffizienz (12). Der Auslöser ist bei der physiologischen Hypertrophie zeitlich begrenzt (s.o.) und es kommt zu einer proportionalen Zunahme von Muskel- und Nichtmuskelkomponenten. Hingegen führt die chronische Stressbelastung bei der pathologischen Hypertrophie zum Verlust von Kardiomyozyten und zu vermehrter Fibrose (51). Unterschiede bestehen auch auf molekularer Ebene, z. B. die verstärkte Expression der adulten Isoform von MHC bzw. die verringerte Expression prohypertrophischer Peptidhormone bei physiologischer Hypertrophie (52). Es ist umstritten, ob einige Signalmoleküle, wie die Phosphatase Calcineurin (s.u.) sowohl bei pathologischer als auch bei physiologischer Hypertrophie eine Rolle spielen.

## **1.4 Rezeptoren und Signalmoleküle, die zur Hypertrophie führen (s. auch Tabelle 2)**

### **1.4.1 Die Initialisierung des Hypertrophiesignals an der Zellmembran**

Die Dehnung der Ventrikelwand durch Druck- oder Volumenüberbelastung sowie neurohumorale Faktoren bewirken bei Kardiomyozyten die Hypertrophie. Die Auslösung der Signalkaskade erfolgt durch Rezeptoren an der Zellmembran.

#### **1.4.1.1 Mechanosensoren**

Auf zellulärer Ebene verursacht die Dehnung der Ventrikelwand durch Druck- oder Volumenüberbelastung die eine Deformation des Sarkolemmas (Plasmamembran) der Kardiomyozyten. Als potentielle Mechanorezeptoren kommen deshalb vor allem Transmembranproteine oder Membran-assoziierte Proteine in Betracht.

Mechanischer Stress wirkt in Kardiomyozyten direkt als Hypertrophiesignal. Bei neonatalen Kardiomyozyten *in vitro* bewirkt vorübergehende mechanische Dehnung die gesteigerte Expression von "immediate early" und fötalen Genen sowie eine gesteigerte Proteinsynthese (22). Integrine und Cytoskelettproteine werden als Mechanosensoren favorisiert.

Integrine sind Transmembranrezeptoren, die mit ihren extrazellulären Domänen an ECM-Proteine binden und deren zytoplasmatische Domänen mit Zytoskelettproteinen assoziieren. Mäuse, die defizient für das muskelspezifische, Integrin-bindende Protein Melusin sind, entwickeln nach mechanischem Stress durch Drucküberbelastung des Herzens nur in geringem Maße Hypertrophie, während die druckunabhängige, Angiotensin-induzierte Hypertrophie nicht reduziert ist (53).

Eine weitere Studie deutet auf eine Rolle des muskel-spezifischen Zytoskelettproteins MLP (muscle-specific LIM protein) bei der Mechanosensorik hin: Kardiomyozyten aus MLP-knockout Mäusen zeigten nach Dehnung keine erhöhte Expression von ANP und BNP, während prohypertrophische Hormone beide Hypertrophiemarker aktivierten (54).

Neben seiner direkten Wirkung spielt auch die Freisetzung von prohypertrophischen Peptidhormonen/Wachstumsfaktoren durch mechanischen Stress eine wichtige Rolle bei der Induktion der Hypertrophie. So steigert mechanische Dehnung in Kardiomyozyten die Sekretion von Angiotensin II (55) und Endothelin (56).

### **1.4.1.2 G-Protein gekoppelte 7-Helixtransmembranrezeptoren (GPCR)**

#### **1.4.1.2.1 Das Renin-Angiotensin-System (RAS)**

Das aktive Peptidhormon des RAS ist das Oktapeptid Angiotensin II (AngII). Beim endokrinen (systemischen) RAS katalysiert die aus den Nieren freigesetzte Protease Renin im zirkulierenden Blut die Bildung des inaktiven Dekapeptids Angiotensin I aus in der Leber gebildeten Angiotensinogen (AOPEN). Ang I wird dann durch das in der Lunge gebildete angiotensin converting enzyme (ACE) in AngII überführt (57). Lokale RAS existieren in verschiedenen Organen, darunter Herz, Niere und Lunge (58). Der größte Teil von kardialem AngI und AngII wird *in situ* synthetisiert (59). *In vitro* induziert mechanische Dehnung bei Kardiomyozyten, nicht jedoch bei Nichtmyozyten die Freisetzung von AngII. Zusätzlich wurden in Kardiomyozyten AngII-speichernde Granula identifiziert (55). Aufgrund von pharmakologischen Inhibitoren unterscheidet man zwei Subtypen von AngII Rezeptoren, AT1R und AT2R, die beide G-Protein-gekoppelte 7-Helixtransmembranrezeptoren sind (GPCR). AT1R wird ubiquitär exprimiert, während AT2R nur im Fötus ubiquitär ist und im adulten Organismus auf Uterus, Eierstöcke, Gehirn und Herz und adrenerge Medulla beschränkt ist (60).

Die meisten physiologischen Wirkungen von AngII werden durch AT1R vermittelt. Ang II verursacht Hypertonie durch Gefäßverengung, indem es direkt auf vaskuläre, glatte Muskelzellen wirkt. Zusätzlich interagiert AngII mit dem zentralen und peripheren sympathischen Nervensystem, was zu einer Erhöhung des Gefäßtonus führt. AngII bewirkt ausserdem eine Vergrößerung des Blutvolumens durch Steigerung der Salz- und Flüssigkeitsresorption in der Niere (61). Bei Kardiomyozyten verursacht AT1R direkt Hypertrophie, wie die herzspezifische Überexpression bei Mäusen *in vivo* zeigt (62). Für die vollständige Induktion der Hypertrophie nach AngII-Gabe ist die Beteiligung von Fibroblasten wahrscheinlich (63). Bei kardialen Fibroblasten induziert AngII *in vitro* die

Proliferation (64) und die Sekretion von prohypertrophischen Wachstumsfaktoren wie Endothelin, TGF- $\beta$  (65) und Zytokine der IL-6 Familie (66).

#### **1.4.1.2.2 Katecholamine und die Rezeptoren des sympathischen Nervensystems**

Auch das sympathische (adrenerge) Nervensystem spielt bei der Ausbildung der Hypertrophie eine Rolle. Die physiologischen und metabolischen Effekte des aktivierten sympathischen Nervensystems werden durch die endogenen Katecholamine Adrenalin und Noradrenalin vermittelt. Bei den adrenergen Rezeptoren (AR), die wie die ATRs zu den G-Proteingekoppelten 7-Helixtransmembranrezeptoren gehören, unterscheidet man drei Subtypen:  $\alpha$ 1ARs,  $\alpha$ 2ARs und  $\beta$ ARs. Im Herzen werden alle Subtypen exprimiert, vor allem  $\beta$ ARs. Obwohl alle Rezeptortypen von denselben Katecholaminen gebunden werden, unterscheiden sich in ihren zellulären Wirkungen. Deshalb hängt die zelluläre Antwort nach der Katecholaminbindung von dem Verhältnis der einzelnen Rezeptorklassen ab (67). *In vivo* führt die herzspezifische Überexpression von  $\beta$ 1ARs zur Hypertrophie (68).  $\alpha$ 1AR-knock out Mäuse sind unfähig zu physiologischer Hypertrophie nach der Geburt (69).

Bei der Ausbildung der Hypertrophie gehen die Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems und des sympathischen Nervensystems Hand in Hand. Im Tiermodell induziert Drucküberbelastung zunächst eine transiente Aktivierung von RAS, auf die eine dauerhafte Erhöhung des Noradrenalin-Plasmaspiegels folgt (70). Bei AngII-infundierten Ratten verhindert sympathische Denervierung des Herzens oder die Behandlung mit  $\beta$ -Rezeptorblockern die Nekrose von Kardiomyozyten (71). *In vitro* induziert AngII bei kardialen sympathischen Nervenenden über den AT1R die Freisetzung von Noradrenalin (72). Umgekehrt steigert die  $\beta$ -adrenerge Stimulation in kardialen Fibroblasten die Expression sowie die Sekretion von AOGEN(73). Katecholamine scheinen sowohl eine Rolle bei Hypertrophie als auch bei der Apoptose zu spielen.  $\beta$ -adrenerge Stimulation induziert bei neonatalen und adulten Kardiomyozyten *in vitro* Apoptose (74) (75).

#### **1.4.1.2.3 gp130: Die signalvermittelnde Untereinheit der Rezeptoren der IL-6 Familie**

gp130 gehört zu den hematopoetischen Zytokinrezeptoren, die aus einer extrazellulären Region, einer Transmembrandomäne und einer zytoplasmatischen Domäne bestehen. gp 130 fungiert als signalvermittelnde Rezeptoruntereinheit für die Rezeptoren der Zytokine der IL-6 Familie (Interleukin (IL)-6, leukemia inhibitory factor (LIF), cardiotrophin-1 (CT-1) u. a.), die selbst keine intrinsische Signalfunktion besitzen. Die Bindung des Liganden an seinen

jeweiligen Rezeptor verursacht die Bildung von Zytokinrezeptor/gp130 Heterodimeren (76). Von gp130 erfolgt die Aktivierung der Janus Kinasen (JAKs), die wiederum die Transkriptionsfaktoren der signal transducer and activator of transcription (STAT)-Familie aktivieren (s. u.).

Der gp130 Signalweg spielt sowohl bei der Hypertrophie als auch bei der Apoptose eine Rolle. Doppelt transgene Mäuse, die sowohl IL-6 als auch den IL-6 Rezeptor überexprimieren, zeigen eine konstitutive Aktivierung von gp130 und entwickeln Hypertrophie (77). Im Einklang damit verhindert SOCS3 (suppressor of cytokine signaling 3), ein Inhibitor von JAK, die Hypertrophie durch IL-6 verwandte Zytokine (78). Die Funktion von gp130 als Überlebensfaktor zeigt sich in Mäusen mit herzspezifischem gp130 knockout. Diese entwickelten nach Drucküberbelastung massive Apoptose von Kardiomyozyten (79).

#### **1.4.2 Intrazelluläre Signalmoleküle, die mit der Hypertrophie-Entstehung assoziiert sind**

Mittlerweile sind eine Vielzahl von Signalmolekülen identifiziert worden, die eine Rolle bei der Hypertrophie spielen. Die einzelnen Signalwege sind Teil eines komplexen Netzwerkes, welches das Größenwachstum von Kardiomyozyten reguliert.

##### **1.4.2.1 Rezeptorassoziierte Signalmoleküle**

###### **1.4.2.1.1 Heterotrimere G-Proteine**

Heterotrimere GTP-bindende Proteine (G-Proteine) vermitteln stimulatorische oder inhibitorische Signale von aktivierten 7-Helixtransmembranrezeptoren. Im kardiovaskulären System gibt es drei funktionelle Klassen von G-Protein-gebundenen Rezeptoren (GPCR), darunter  $\beta$ AR, die hauptsächlich an  $G_{\alpha s}$  binden sowie die Rezeptoren für AngII, Endothelin-1 und  $\alpha$ AR, die an  $G_{\alpha q}$  gekoppelt sind. Alle heterotrimeren G-Proteine bestehen aus  $G_{\alpha}$  und  $G_{\beta\gamma}$  Untereinheiten. Die Aktivierung des GPCR bewirkt an der  $G_{\alpha}$  Untereinheit den Austausch von GDP durch GTP und die nachfolgende Dissoziierung von  $G_{\alpha}$  und  $G_{\beta\gamma}$ , die jeweils die Aktivität von weiteren Effektormolekülen modulieren (80).  $G_{\alpha q}$  spielt *in vivo* sowohl eine Rolle bei der Hypertrophie als auch bei der Apoptose. Mäuse mit einer moderaten herzspezifischen Überexpression von  $G_{\alpha q}$  entwickeln eine stabile Hypertrophie. Hingegen bewirkt die hohe Expression von  $G_{\alpha q}$  Apoptose bei Kardiomyozyten, die zur Dilatation des Ventrikels und nachfolgender Herzinsuffizienz führt (81).

### 1.4.2.2 Intermediäre Signalmoleküle

#### 1.4.2.2.1 Mitogen-aktivierte Proteinkinasen (MAPK)

MAPKs stellen ein wichtiges Bindeglied bei der Signaltransduktion zwischen externen Stimuli und dem Kern dar. Man unterscheidet drei Unterfamilien: extracellular signal-regulated kinases (ERKs), c-Jun N-terminal kinases (JNKs) und p38 MAPKs. Während ERK hauptsächlich durch Wachstumsfaktoren aktiviert wird, führen verschiedene Stressstimuli (osmotischer Schock, Hitzschock, Zytokine) zur Aktivierung von JNKs und p38. Die Aktivierung der MAPKs erfolgt durch eine dreiteilige Kinasekaskade. Diese besteht aus der MAPK, dem MAPK Aktivator (MEK oder MAPKK) und dem MEK-Aktivator (MEKK oder MAPKKK). MAPKs regulieren die Aktivität verschiedener Transkriptionsfaktoren.

Hinweise auf eine wichtige Rolle der MAPKs bei der Hypertrophie geben Experimente mit der MAPK Phosphatase-1 (MKP-1), die alle drei Unterfamilien inaktiviert. *In vivo* führt eine starke herzspezifische MKP-1 Überexpression zur Inhibition von physiologischer Hypertrophie nach der Geburt, während eine niedrigere Überexpression GPCR- oder durch Druckbelastung induzierte Hypertrophie verringert (82).

Die herzspezifische Überexpression von MEK1, die zur Aktivierung von ERK, nicht jedoch von p38 oder JNK führt, induziert *in vivo* Hypertrophie (83).

JNK wird direkt durch MEK4 oder MEK7 aktiviert, die beide durch MEKK1 phosphoryliert werden. Minamino et al. zeigten, dass MEKK1-Defizienz die Hypertrophie bei Gq-überexprimierenden Mäusen verhindert (84).

#### 1.4.2.2.2 Phosphoinositide 3-Kinase (PI3 Kinase)/Akt

Die Mitglieder der PI3 Kinase Familie können durch verschiedene 7-Helixtransmembranrezeptoren aktiviert werden, darunter auch GPCR. PI3 Kinasen haben sowohl Protein- als auch Lipidkinaseaktivität. Eines der wichtigsten Zielproteine der PI3 Kinase ist die Serin/Threonin-Kinase Akt (auch Proteinkinase B genannt), die durch Bindung von PI3 Kinase-phosphorylierten Lipiden aktiviert wird. Zusätzlich ist die Phosphorylierung von Akt für die vollständige Aktivierung nötig. Ein wichtiges Substrat von Akt ist GSK-3 $\beta$  (glycogen synthase kinase), die u. a. eine Rolle in Zellwachstum und Apoptose spielt und mehr als 40 potentielle Proteinsubstrate, darunter ein Dutzend Transkriptionsfaktoren hat. Die Aktivität von GSK-3 $\beta$  wird durch den Phosphorylierungsstatus von Serin-9 gesteuert, dessen Phosphorylierung zur Inhibition von GSK-3 $\beta$  führt.

*In vivo* führt durch Drucküberbelastung induzierte Hypertrophie zur Aktivierung der PI3 Kinase (85). Die herzspezifische Überexpression von konstitutiv aktiver oder dominant



negativer PI3 Kinase führt zu vergrößerten bzw. verkleinerten Kardiomyozyten (86). In Übereinstimmung damit induziert die herzspezifische Überexpression von konstitutiv aktiver Akt Hypertrophie (87). Verschiedene Studien sprechen für die Notwendigkeit einer Inaktivierung des Akt-Substrates GSK-3 $\beta$  bei der Induktion von Hypertrophie. Mehrere GPCR-aktivierende Hypertrophiestimuli führen zu PI3 Kinase/Akt-abhängiger Phosphorylierung von GSK-3 $\beta$ . Der Austausch von Serin-9 gegen Alanin, der die Phosphorylierung und damit die Inaktivierung von GSK-3 $\beta$  verhindert, blockiert sowohl GPCR- als auch durch Drucküberlastung induzierte Hypertrophie *in vivo* (88). Auch bei der Induktion von Hypertrophie durch den Fas-Liganden, einem klassischen Apoptosestimulus, kommt es zur Inaktivierung von GSK-3 $\beta$  (89).

#### **1.4.2.2.3 Calcineurin**

Calcineurin ist eine Serin/Threoninphosphatase, die aus einer katalytischen und einer regulatorischen Untereinheit besteht. Calcineurin wird durch Ca<sup>2+</sup> und Calmodulin aktiviert. Calmodulin wiederum ist ein Kalziumsensor, der nach Bindung von Ca<sup>2+</sup> durch Konformationsänderung in seinen aktivierten Zustand übergeht. Ein wichtiges Substrat von Calcineurin ist der Transkriptionsfaktor NFAT (s. u.). Von Calcineurin bestehen auch Verbindungen zu anderen, bei der Induktion der Hypertrophie beteiligten Signalmolekülen, so z. B. GSK-3 $\beta$  und MAPK (90).

Mäuse mit herzspezifischer Expression von konstitutiv aktivem Calcineurin entwickeln eine massive Hypertrophie (91). Es folgten Studien mit verschiedenen endogenen Calcineurin-Inhibitoren. Adenovirale Überexpression von zwei verschiedenen nichtkompetitiven Peptidinhibitoren reduzierte die GPCR-induzierte Hypertrophie in neonatalen Kardiomyozyten (92). Die herzspezifische Überexpression von MCIP (myocyte-enriched calcineurin-interacting protein), einem weiterem Calcineurininhibitor, reduzierte sowohl die GPCR-induzierte und die physiologische Hypertrophie (93) als auch die durch Drucküberbelastung induzierte Hypertrophie (94). Experimente mit pharmakologischen Inhibitoren ergaben hingegen widersprüchliche Ergebnisse.

#### **1.4.2.3 Transkriptionsfaktoren**

##### **1.4.2.3.1 NFAT und GATA**

NFATs (nuclear factor of activated T cells) bilden eine Familie von Transkriptionsfaktoren, die aus vier Mitgliedern besteht, von denen alle bis auf NFAT3 nur im Skelettmuskel und in T-Zellen exprimiert werden. NFAT3 wird in verschiedenen Geweben, darunter auch im

Herzen exprimiert. Calcineurin dephosphoryliert NFAT, so dass der Transkriptionsfaktor in den Nukleus translozieren kann, wo er die Expression von Genen steuert. NFAT besitzt (wie NF- $\kappa$ B, s. u.) eine Rel-Homologie Domäne, die der Bindung an die DNA sowie der Interaktion mit dem Transkriptionsfaktor GATA dient.

Mitglieder der GATA-Familie besitzen Zinkfingerdomänen. Die Isoform GATA4 ist herzspezifisch. GATA4 kann durch GSK-3 $\beta$  phosphoryliert werden, was zur Inhibition von GATA-abhängiger Transkription durch nuklären Export des Transkriptionsfaktors führt (95). Überexpression von GATA4 führt *in vitro* und *in vivo* zur Hypertrophie (96). Als potentielle prohypertrophische bzw. bei der Hypertrophie induzierte Zielgene von GATA4 kommen der AngII-Rezeptor AT1R (97) und  $\beta$ -MHC in Frage (98). In einer Hefe Zwei-Hybrid Klonierung mit einer GATA4 Sonde und einer murinen cDNA-Bank wurde NFAT3 als Bindungspartner von GATA4 identifiziert. Die herzspezifische Überexpression von konstitutiv aktivem NFAT3 induziert bei Mäusen Hypertrophie (91).

#### 1.4.2.3.2 STAT

Die Familie der STAT (signal transducer and activator of transcription) Transkriptionsfaktoren besteht aus 7 Mitgliedern. Die Aktivierung der STATs erfolgt durch Phosphorylierung eines Tyrosin- und eines Serinrestes durch MAPK oder die Janus Kinase (JAK). Auf Rezeptorebene verläuft die Signalleitung über gp130 (s.o). *In vivo* führt Drucküberbelastung im Herzen zu einer schnellen Aktivierung von JAK und STAT (99). Mäuse mit herzspezifischer Überexpression von STAT3 entwickelten eine moderate Hypertrophie. Zusätzlich wirkt STAT3 als Überlebensfaktor: Doxorubicin, das bei Kardiomyozyten und Krebszellen bekanntermaßen Apoptose verursacht, wirkte in STAT3-überexprimierenden Kardiomyozyten weniger zytotoxisch (100). Vom STAT-Signalweg bestehen Verbindungen zum Renin-AngII-System. AngII steigert in kardialen Fibroblasten die Expression verschiedener IL-6 verwandter Zytokine (66). In Kardiomyozyten aktiviert AngII die Bindung von STAT an den AOGEN-Promotor (101).

Die hier aufgeführten Signalmoleküle sind nur eine Auswahl aller bisher identifizierten Proteine, die bei der Induktion der Hypertrophie im Tiermodell eine Rolle spielen. Eine Zusammenfassung gibt Tabelle 2. Zur Vervollständigung siehe (36).

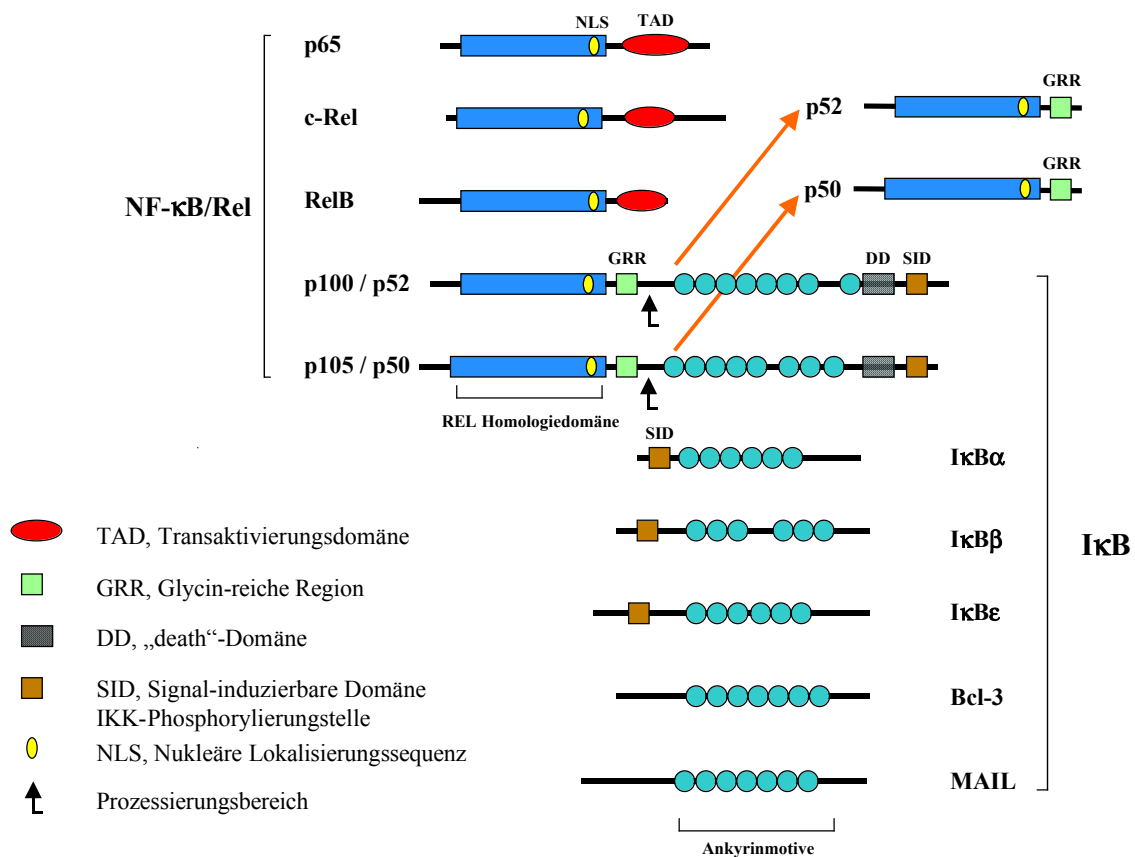
### **1.5 Die Inhibition von Hypertrophie-induzierenden Signalwegen im Tiermodell und bisherige pharmakologische Behandlungsmethoden beim Menschen**

Die aktuellen Maßnahmen zur Behandlung von Herzinsuffizienz in der Klinik bestehen in der Gabe von Inhibitoren des Renin-Angiotensin-Systems (insbesondere Inhibitoren von ACE) plus/oder Blockern des  $\beta$ -adrenergen Systems. ACE-Inhibitoren verringern den Blutdruck und bewirken einen Rückgang der Hypertrophie bei Kardiomyozyten. Zu den Nebenwirkungen zählen Hypotonie, Husten, Nierenversagen, Arrhythmien durch Hyperkalämie etc. (als Review siehe (61)). Als Weiterentwicklung der ACE-Inhibitoren werden Blocker des AT1R angesehen.

In der Klinik werden ACE-Inhibitoren häufig in Kombination mit  $\beta$ -Blockern verabreicht. Dies bewirkt eine zusätzliche Senkung der Mortalität um ca. 35 %.  $\beta$ -Blocker bewirken u.a. eine gesteigerte Auswurfleistung des Herzens, was mit einer veränderten Expression von kontraktilen Proteinen einhergeht (102). Zusätzlich ist die Konzentration von AngII im Blut von Herzinsuffizienz-Patienten bei Einnahmen von ACE- plus  $\beta$ -Blockern geringer, als bei Einnahme von ACE-Blockern alleine (103). Obwohl die heute eingesetzten Medikamente effizient bezüglich der Aufrechterhaltung der Herzfunktion und der Verlängerung der Lebensdauer bei Herzinsuffizienzpatienten sind, ist die Mortalitätsrate weiterhin hoch (104).

Die gebräuchlichen Behandlungsmethoden beschränken sich auf die Blockade von Oberflächenrezeptoren. Die Aufklärung der an der Hypertrophie beteiligten Signalmoleküle ermöglicht daher die Identifizierung von spezifischeren Molekülen als potentiell Therapieziel. Da Hypertrophie durch eine Vielzahl von Stimuli induziert wird, sind vor allem Moleküle von Bedeutung, die als Knotenpunkte verschiedener Signalwege in Betracht kommen. Als möglicher Kandidat zur Integration verschiedener Hypertrophiestimuli wurde Calcineurin vorgeschlagen. Cyclosporin A ist ein pharmakologischer Inhibitor von Calcineurin, der beim Menschen bereits als Immunsuppressivum nach Organtransplantationen eingesetzt wird. Sussman et al. berichteten als erste, dass Cyclosporin die durch Druckbelastung induzierte Hypertrophie in Ratten vollständig verhindern kann (105). Bei entsprechenden Versuchen mit der Maus wirkte Cyclosporin jedoch nur Hypertrophievermindernd und verursachte zusätzlich eine erhöhte Mortalität durch Herzinsuffizienz (106). Weiterhin verhinderte Cyclosporin A zwar die Infarkt-induzierte Hypertrophie in Ratten, führte aber ebenso wie in der zuvor zitierten Arbeit zu verstärkter Herzinsuffizienz (107). Zusammenfassend scheint die Inhibition von Calcineurin zwar die Hypertrophie reduzieren zu können. Gleichzeitig kommt es jedoch zu einer massiven Verschlechterung der Herzfunktion. Diverse Studien haben weitere Nebenwirkungen von Cyclosporin A und dem alternativen

Calcineurin-Inhibitor FK506 aufgezeigt, die deren Anwendung bei Herzinsuffizienzpatienten praktisch ausschließen (108). Schließlich wurde Calcineurin für Kardiomyozyten *in vitro* und *in vivo* als Schutzfaktor vor Apoptose beschrieben (109), was einen potentiellen Nachteil für eine pharmakologische Inhibition darstellt. Ähnliches gilt für zuvor beschriebene Proteine wie gp130, STAT, Akt. Die Identifizierung von Molekülen, deren Inhibition die Hypertrophie verhindert, ohne die Apoptose zu steigern und damit eine Herzinsuffizienz hervorzurufen, stellt ein wichtiges Ziel dar. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, ob der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B für diese Rolle in Betracht kommt.



**Abb. 3: Übersicht der wichtigsten Vertreter der NF- $\kappa$ B/Rel- und der I $\kappa$ B-Familie bei Säugetieren**

Die Proteine der NF- $\kappa$ B-Familie haben als gemeinsames Merkmal die REL Homologie-Domäne, die zur Dimerisierung, für die DNA-Bindung und die Interaktion mit den I $\kappa$ Bs notwendig ist. p50 und p52, die durch proteolytische Prozessierung aus den Vorläuferproteinen p105 bzw. p100 entstehen, besitzen keine Transaktivierungsdomäne. Gemeinsames Merkmal der Mitglieder der I $\kappa$ B-Familie sind repetitive Ankyrinmotive. I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$  und I $\kappa$ B $\epsilon$  sind negative Regulatoren der NF- $\kappa$ B-Proteine, während Bcl-3 und MAIL nicht inhibitorisch wirken.

## 1.6 Der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B

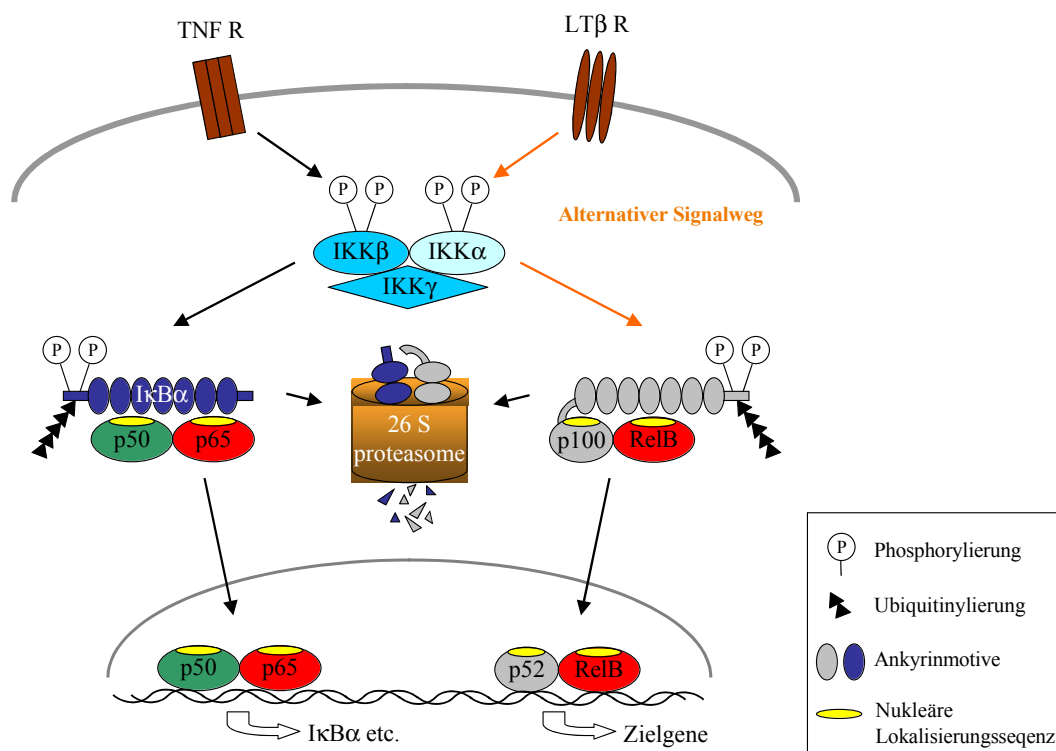
### 1.6.1 Die Mitglieder der NF- $\kappa$ B-Familie

Der Transkriptionsfaktor NF- $\kappa$ B wurde 1986 das erste Mal als induzierbare Aktivität beschrieben, die die Transkription der Kappa Leichten Kette von Immunglobulinen durch Bindung im Enhancerbereich reguliert (110). Die fünf Mitglieder der NF- $\kappa$ B-Familie bei Vertebraten sind p65 (RelA), RelB, c-Rel, p50/p105 (NF- $\kappa$ B1) und p52/p100 (NF- $\kappa$ B2). Bei *Drosophila* sind drei NF- $\kappa$ Bs identifiziert worden: Dorsal, Dif (Dorsal-related immunity factor) und Relish. Alle NF- $\kappa$ Bs besitzen im N-Terminus eine 300 Aminosäure lange Rel Homologiedomäne (RHD), die zur Dimerisierung, für die DNA-Bindung und die Interaktion mit den I $\kappa$ Bs (inhibitor of NF- $\kappa$ B) notwendig ist. Die I $\kappa$ B-Familie umfasst folgende Mitglieder: I $\kappa$ B $\alpha$ , I $\kappa$ B $\beta$ , I $\kappa$ B $\epsilon$ , die Vorläuferproteine p100 und p105, Bcl-3 und MAIL (Abb. 3). Bei *Drosophila* reguliert Cactus analog zu I $\kappa$ B $\alpha$  signalabhängig die Aktivität von Dorsal (111). I $\kappa$ Bs besitzen 5-7 Ankyrinmotive, die mit der RHD interagieren. In der nichtstimulierten Zelle verhindern I $\kappa$ Bs die Translokation von NF- $\kappa$ B durch Bindung an die nukleäre Lokalisierungssequenz (112) (Abb. 3 und Abb. 4).

NF- $\kappa$ B wird durch inflammatorische Zytokine, mikrobielle Pathogene, morphogenetische Signale, Zellstress und Wachstumsfaktoren aktiviert. Dies führt zur Aktivierung des I $\kappa$ B Kinase Komplex (IKK), der aus zwei katalytischen (IKK $\alpha$ , IKK $\beta$ ) und einer regulatorischen Untereinheit (IKK $\gamma$ ) besteht (Abb. 4). Beim klassischen Signalweg phosphoryliert IKK $\beta$  bei I $\kappa$ B $\alpha$  die Serinreste 32 und 36. Phosphoryliertes I $\kappa$ B wird nach seiner Polyubiquitinierung im Proteasom degradiert, so dass das freigesetzte NF- $\kappa$ B-Dimer in den Kern translozieren kann. Beim alternativen Signalweg phosphoryliert IKK $\alpha$  das Vorläuferprotein p100, das durch proteolytische Modifikation in p52 überführt wird, welches dann Heterodimere mit RelB eingeht (Abb. 4).

Nukleäres NF- $\kappa$ B bindet an Promotoren und Enhancer von Genen, die  $\kappa$ B-Bindestellen mit der Konsensussequenz GGGRNNYYCC (N=beliebige Base, R=Purin, Y=Pyrimidin) beinhalten. RelB, c-Rel und p65 besitzen eine Transaktivierungsdomäne, die sich im C-Terminus befindet. Homodimeren von p52 oder p50 fehlt eine solche; sie können autonom nicht Transkription stimulieren. Tatsächlich bewirkt die Bindung von p52- oder p50-Homodimeren an  $\kappa$ B-Bindestellen die Repression der Genexpression. Die Aktivierung von NF- $\kappa$ B wird neben der Degradation von I $\kappa$ B $\alpha$  auch durch Modifikationen am Protein selbst geregelt. Phosphorylierungen und Acetylierungen modulieren seine transkriptionelle Aktivität, sowie seine Bindung an die DNA und I $\kappa$ B $\alpha$  (113). Die Inaktivierung von NF- $\kappa$ B

verläuft unter anderem über einen negativen Rückkopplungsmechanismus, in dem aktives NF- $\kappa$ B die Expression des I $\kappa$ B $\alpha$ -Gens induziert. Neu synthetisiertes I $\kappa$ B $\alpha$  bindet an nukleäres NF- $\kappa$ B und exportiert es aus dem Kern (als Review s. (114)). Neben dem I $\kappa$ B $\alpha$ -Gen reguliert NF- $\kappa$ B die Expression einer Vielzahl weiterer Gene: Zytokine (TNF $\alpha$ , (115)), Immunorezeptoren (CD40, (116)), Adhäsionsmoleküle (ICAM (intercellular adhesion molecule)-1, (117)), Apoptoseregulatoren (Bcl-2, (118)), stressinduzierte Gene (Superoxiddismutase, (119)), Wachstumsfaktoren (GM-CSF (granulocyte-macrophage colony stimulating factor), (120)), Transkriptionsfaktoren (c-myb, (121)), Zellzyklusregulatoren (Cyclin D1, (122)) (zur Übersicht s. auch <http://people.bu.edu/gilmore/nf-kb/index.html>).



**Abb. 4: Signalwege zur Aktivierung von NF- $\kappa$ B**

Beim **klassischen Signalweg** löst die Bindung von TNF- $\alpha$  an seinen Rezeptor (TNF R) eine Signalkaskade aus, die zur Phosphorylierung der I $\kappa$ B-Kinase (IKK) $\beta$  führt. Aktivierte IKK $\beta$  phosphoryliert I $\kappa$ B $\alpha$  an den Serinen 32 und 36. Die dadurch initiierte Polyubiquitinierung von I $\kappa$ B $\alpha$  markiert das Protein für die Degradation im 26 S Proteasom. Die freigelegten nukleären Lokalisierungssequenzen von p50 und p65 veranlassen die Translokation des Dimers in den Kern. Ein Zielgen von NF- $\kappa$ B p65/p50 ist I $\kappa$ B $\alpha$ , dessen Expression zur Inaktivierung von NF- $\kappa$ B führt (negative Rückkopplung). Beim **alternativen Signalweg** führt die Bindung von Lymphotoxin  $\beta$  an seinen Rezeptor (LT $\beta$  R) über eine Signalkaskade zur Aktivierung von IKK $\alpha$ . Die Phosphorylierung des Vorläuferproteins p100 führt zur proteolytischen Prozessierung seines I $\kappa$ B-Anteils mit nachfolgender Translokation des p52/RelB-Dimers. Im Gegensatz zum klassischen ist der alternative Signalweg langsamer und langandauernder und spielt vor allem bei der Lymphozytenentwicklung eine Rolle.

### 1.6.2 Durch genetische Modifikationen belegte *in vivo*-Funktionen von NF- $\kappa$ B

Für alle Mitglieder der Rel- und der I $\kappa$ B-Familie existieren mittlerweile knockout-Mäuse. Die p65 knockout-Mäuse haben die Rolle von NF- $\kappa$ B als Schutzfaktor vor TNF- $\alpha$ -induzierter

Apoptose deutlich gemacht. p65 knockout Embryonen sterben am Embryonaltag E15-16 Tagen aufgrund von massiver Apoptose in der Leber (123). Die Letalität wird bei gleichzeitiger Inaktivierung des Gens für TNF- $\alpha$  oder für den TNF-Rezeptor aufgehoben (124). Die Doppelknockout-Mäuse sind dagegen besonders anfällig für bakterielle Infektionen. Der Grund hierfür ist die gestörte, p65-abhängige Rekrutierung von Leukozyten als Teil der angeborenen Immunantwort. Daneben spielt p65 auch eine Rolle bei der adaptiven Immunantwort, da p65-defiziente Lymphozyten weniger IgA und IgG1 bilden und schlechter proliferieren (125).

Auch bei RelB knockout Mäusen ist das adaptive Immunsystem betroffen, da die Sensibilisierung von T-Lymphozyten nach Antigenpräsentation durch Dendritische Zellen reduziert ist. Zudem zeigen diese Mäuse Defekte bei der Hematopoese (126). NF- $\kappa$ B spielt ausserdem eine Rolle bei der Lymphorganogenese. Bei Doppelknockout-Mäuse für RelB und p100/p52 sowie bei Mäusen, die einen Superrepressor für NF- $\kappa$ B exprimieren, ist die Entwicklung der Peyerschen Plaques (darmassoziiertes Lymphgewebe) behindert (127,128). Weiterhin ist NF- $\kappa$ B bei der Differenzierung von Zellen beteiligt. p50/p52 Doppelknockout-Mäuse können keine reifen Osteoklasten (Knochensubstanz-resorbierende makrophagenähnliche Zellen) generieren (129). Schliesslich wird NF- $\kappa$ B für die Entwicklung von epidermalen Organen gebraucht. Mäuse bei denen NF- $\kappa$ B durch Expression eines Superrepressors gehemmt wird, zeigen Defekte bei der Entwicklung von Haarfollikeln, exokrinen Drüsen und Zähnen (128).

### **1.6.3 Die gestörte NF- $\kappa$ B-Regulation ist mit der Pathogenese verschiedener menschlicher Krankheiten assoziiert**

Sowohl die konstitutive als auch die defekte Aktivierung von NF- $\kappa$ B spielt bei der Pathogenese menschlicher Krankheiten eine Rolle. Die Fähigkeit von NF- $\kappa$ B vor Apoptose zu schützen und die Proliferation zu steigern, legt eine Beteiligung bei der Entstehung von Krebs nahe. Tatsächlich ist NF- $\kappa$ B beim Hodgkin-Lymphom u. a. aufgrund einer persistenten IKK-Aktivierung und durch Mutationen im I $\kappa$ B $\alpha$ -Gen dauerhaft aktiviert (130). Die Rheumatoide Arthritis ist durch Entzündungsreaktionen und unkontrollierte Zellproliferation im Gelenkbereich gekennzeichnet. Die Aktivierung von NF- $\kappa$ B verursacht die erhöhte Expression von inflammatorischen Molekülen und verhindert Apoptose (131). Eine defekte Aktivierung liegt bei Incontinentia pigmenti vor. Diese X-chromosomal vererbte Krankheit wird durch Deletion der Exons 4-10 des IKK- $\gamma$ -Gens verursacht. Dies führt zu Abnormalitäten u. a. bei Haut, Haaren, Zähnen und dem zentralen Nervensystem (132).

Andere Mutationen, die keine vollständige Inaktivierung von IKK- $\gamma$  verursachen, führen bei den Trägern zu einer Form der sogenannten Hypohidrotischen Ektodermalen Dysplasie (HED) (133). Das Krankheitsbild wird vor allem durch das Fehlen exokriner Drüsen bestimmt. Im Tiermodell verursacht die ubiquitäre Expression von I $\kappa$ B $\alpha$  $\Delta$ N den entsprechenden Phänotyp (128).

## **1.6.4 Funktionen von NF- $\kappa$ B im Herzen**

### **1.6.4.1 NF- $\kappa$ B und Apoptose**

NF- $\kappa$ B wird allgemein als Schutzfaktor vor Apoptose betrachtet, der sowohl extrinsisch als auch intrinsisch induzierte Apoptose blockiert. NF- $\kappa$ B kontrolliert –direkt oder indirekt- die Expression von antiapoptotischen Genen, darunter die IAPs (inhibitor of apoptosis), c-FLIP (FLICE inhibitory protein) und Mitglieder der Bcl-2-Familie, z.B. Bcl-x<sub>L</sub> (als Review s. (134)).

Auch für das Herz scheint NF- $\kappa$ B eine antiapoptotische Wirkung zu haben. In neonatalen Kardiomyozyten *in vitro* induzierte TNF- $\alpha$  Apoptose, wenn gleichzeitig die Aktivierung von NF- $\kappa$ B inhibiert war (135,136). Hingegen fanden Condorelli et al. bei vergleichbaren Versuchsbedingungen keinen Effekt auf die Apoptoserate (137). In einer weiteren Arbeit wurde bei neonatalen Kardiomyozyten Apoptose durch Hypoxie/Reperfusion induziert. Die gleichzeitige Stimulation mit dem IL-6 Zytokin Cardiotrophin-1 blockierte die Apoptose in IKK $\beta$ -abhängiger Weise (138). *In vivo* induzierte der Verschluss eines Herzkranzgefäßes bei Mäusen mit herzspezifischer Inhibition von NF- $\kappa$ B einen größeren Infarkt als bei Kontrollen. Gleichzeitig war in den transgenen Mäusen nach Infarkt die Apoptoserate erhöht und die Expression der antiapoptotischen Proteine Bcl-2 und c-IAP1 erniedrigt (139). Zusammenfassend steigerte die Inhibition von NF- $\kappa$ B *in vitro* und *in vivo* die Apoptoserate in Kardiomyozyten nach spezifischen Stimuli.

### **1.6.4.2 NF- $\kappa$ B induziert Hypertrophie *in vitro***

Purcell et al. zeigten 2001 zum ersten Mal, dass NF- $\kappa$ B *in vitro* direkt bei GPCR-induzierter Hypertrophie beteiligt ist: In neonatalen Kardiomyozyten steigerten AngII, Endothelin 1 und Phenylephrin die nukleäre Translokation von p65 und induzierten ein NF- $\kappa$ B-Reportergenkonstrukt. Die GPCR-induzierte Transkription von ANP bzw. das Größenwachstum der Kardiomyozyten wurden durch Expression eines mutierten, nicht-degradierbaren I $\kappa$ B $\alpha$  vermindert. Schließlich führte die Überexpression von p65 oder c-Rel



zur Hypertrophie. In dieser Studie wurde AngII in einer sehr hohen Konzentration (50  $\mu$ M) zur Stimulation eingesetzt. Üblicherweise gelten 100 nM als physiologisch (140). In einer weiteren Arbeit mit isolierten neonatalen Kardiomyozyten verursachten AngII, Endothelin-1 und Phenylephrine die Bildung von ROS (reactive oxygen species). Die Expression von dominant-negativer ASK1 (apoptosis signal-regulating kinase 1), einer ROS-aktivierten MEK Kinase, verhinderte sowohl die GPCR-induzierte Aktivierung eines NF- $\kappa$ B-Reporterkonstrukts als auch die Hypertrophie. Eine direkte Verbindung zwischen NF- $\kappa$ B und ASK1 geht aus diesen Daten nicht hervor (141). Desweiteren wurde in neonatalen Kardiomyozyten auch die TNF- $\alpha$ -induzierte Hypertrophie durch die Expression von nicht-degradierbarem I $\kappa$ B $\alpha$  verhindert (142). In dieser Arbeit verursachte TNF- $\alpha$  in NF- $\kappa$ B-inhibierten Zellen keine gesteigerte Apoptose.

### 1.7 Zielsetzung der Doktorarbeit

Die Hypertrophie des Herzens stellt einen Risikofaktor für Herzversagen dar. Beim Übergang zwischen Hypertrophie und Herzversagen spielt der Verlust von Kardiomyozyten durch Apoptose eine wichtige Rolle. Bisher veröffentlichte *in vitro* Arbeiten deuten darauf hin, dass NF- $\kappa$ B bei der Ausbildung von Hypertrophie beteiligt sein kann. Bisher existierten jedoch keinerlei Daten, die diese Hypothese im *in vivo*-Modell bestätigen konnten. Zusätzlich wurde NF- $\kappa$ B im Herzen als antiapoptotisch beschrieben. Das Ziel der vorliegenden Doktorarbeit war die Untersuchung der Funktion von NF- $\kappa$ B bei der Hypertrophie und der Apoptose bei Herzmuskelzellen *in vivo*. Dazu wurde NF- $\kappa$ B herzspezifisch inhibiert. Dies erfolgte durch Kardiomyozyten-spezifische Expression des NF- $\kappa$ B-Superrepressors I $\kappa$ B $\alpha$  $\Delta$ N mit Hilfe des Cre/loxP-Systems. Zur Induktion der Hypertrophie wurden Angiotensin II oder der  $\beta$ -adrenerge Agonist Isoproterenol eingesetzt, da Inhibitoren des Renin-Angiotensin- bzw. des adrenergen Systems aktuell zur Behandlung der Herzinsuffizienz beim Menschen dienen. Ein weiteres Ziel der Doktorarbeit war die Untersuchung von Hypertrophie-Signalwegen in adulten Kardiomyozyten in Kultur. Bisherige *in vitro* Arbeiten haben sich ausschließlich mit der Rolle von NF- $\kappa$ B in neonatalen Kardiomyozyten befasst. Diese unterscheiden sich beträchtlich von adulten Kardiomyozyten bezüglich Morphologie, Differenzierungsgrad, Oberflächenrezeptoren etc. Zudem enthalten Kulturen von neonatalen Kardiomyozyten häufig einen nicht geringen Anteil von Nichtmyozyten. Zur Inhibition von NF- $\kappa$ B in adulten Kardiomyozyten *in vitro* diente die Überexpression des Superrepressors I $\kappa$ B $\alpha$  $\Delta$ N mittels adenoviraler Infektion.

Modifiziertes Allel im Mausmodell	Genetische Strategie	Phänotyp	Besonderheit	Referenz
<b>Rezeptoren</b>				
hu AT1R	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(62)
hu $\beta$ 1AR	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(68)
$\alpha$ 1AR	knock out	Keine physiol. Hypertrophie postnatal		(69)
gp130	herzspez. knockout	Keine Hypertrophie nach P/O	massive Apoptose	(79)
<b>Rezeptorassoziierte Signalmoleküle</b>				
G $\alpha$ q	herzsp. Überexpression	moderate Überexpression: Hypertrophie	hohe Überexpression Apoptose	(81)
<b>Intermediäre Signalmoleküle</b>				
MEK 1	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(82)
PI3K konst. aktiv	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(86)
Akt konst. aktiv	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(87)
GSK-3 $\beta$ konst. aktiv	herzsp. Überexpression	Keine Hypertrophie nach P/O		(88)
Calcineurin	herzsp. Überexpression	Hypertrophie	Schutz vor Apoptose nach I/R	(91)
<b>Transkriptionsfaktoren</b>				
GATA4	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(96)
NFAT3	herzsp. Überexpression	Hypertrophie		(91)
STAT3 $\alpha$	herzsp. Überexpression	Hypertrophie	Schutz vor Apoptose nach Doxorubicin	(100)

**Tabelle 2: Signalmoleküle, die mit der Induktion der Hypertrophie assoziiert sind (Auswahl)**

Abkürzungen: AR: adrenerger Rezeptor, AT1R: AngII Rezeptor Typ I, G $\alpha$ q: G-Protein G $\alpha$ q, GSK: Glycogen Synthase Kinase, hu: human, I/R: Ischämie/Reperfusion, MEK 1: MAPK Kinase 1, NFAT: Nuclear Factor of Activated T-cells, PI3K: Phosphoinositide 3-Kinase, P/O: pressure overload, STAT: Signal Transducer and Activator of Transcription.