

## 1 Einleitung

Fehlbildungen im kardiovaskulären System sind der am häufigsten auftretende Geburtsdefekt mit einer Inzidenz von ca. 1% unter allen Lebendgeburten. Unter den Totgeburten bzw. bei intrauterinen Fruchttod wird ihre Häufigkeit zehnfach höher geschätzt (Olson und Srivastava 1996).

Die Entstehung des Herzens ist ein komplexer Prozeß aus Migration, Differenzierung und einer komplizierten Interaktion zwischen verschiedenen embryonalen Zelltypen (Abb.1.1). Die Komplexität dieses Prozesses spiegelt sich in der Anfälligkeit des Herzens für angeborene Fehlbildungen wieder. Viele kardiale Fehlbildungen sind anatomisch und physiologisch bereits gut charakterisiert, ihre molekulare Basis ist jedoch nur unvollständig entschlüsselt.

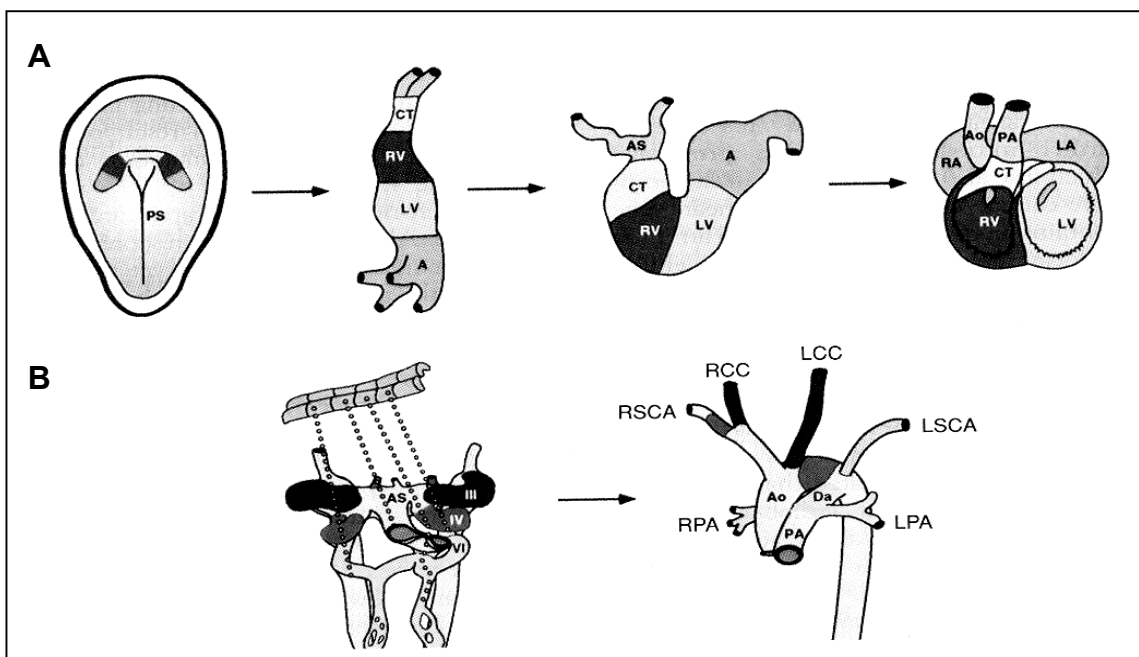


Abb.1.1: Anatomisches Geschehen in der Morphogenese des Herzens

A: Kardiales Looping und Kammerentwicklung

B: Entwicklung der Aorta und der Pulmonalarterien

RPA/LPA: rechte/linke Pulmonalarterie; RSCA/LSCA: rechte/linke A. subclavia;

RCC/LCC: rechte/linke A. carotis

Aus: Olson und Srivastava, Science 272:671, 1996

In Versuchen an Fruchtfliegen, Krallenfröschen, Zebrafischen, Vögeln (v.a. Hühnerembryonen) und Nagern konnte eine Vielzahl von Genen, u.a. Nkx2.5, GATA-4, eHAND, dHAND, MEF2, TGF $\beta$  (Transforming Growth Factor  $\beta$ ), ET-1 (Endothelin-1), identifiziert werden, denen zu unterschiedlichen Zeitpunkten der Herzentwicklung eine entscheidende Rolle zugeschrieben wird (*Übersicht siehe*: Fishman und Chien 1997; Fishman und Olson 1997; Tanaka et al. 1999; Sucov 1998). Neben Knock-out-Modellen bieten v.a. Neuralleisten-Ablationsversuche bei Hühnerembryonen (Kirby und Waldo 1990, Kirby und Waldo 1995) eine gute Möglichkeit den Einfluß verschiedener Gene der Neuralleiste auf die Entwicklung des Herzens und der großen Gefäße zu untersuchen.

### **1.1 Kurze Übersicht über die Physiologie der Herzentwicklung und die Rolle der Neuralleiste in der embryonalen Entwicklung**

Das Herz ist das erste Organ, das sich bei Vertebraten ausbildet und entsteht durch komplexe morphogenetische Interaktionen unter Einbeziehung von Zellen unterschiedlichen embryonalen Ursprungs. Kurz nach der Gastrulation werden Vorläuferzellen innerhalb des anterolateralen Mesoderms durch induzierende Signale des benachbarten Endoderms auf ihr kardiogenes Schicksal festgelegt (Olson und Srivastava 1996). Die kardialen Vorläufer bilden bilateral ein kardiogenes „Feld“, das sich zu parallelen Herzvorläufern (Endokardschläuchen) entwickelt, die in der Mittellinie zum primitiven Herzschauch verschmelzen. Dieser primitive Herzschauch besteht bereits aus einer inneren Endokard- und einer äußeren Myokardschicht, die durch eine extrazelluläre Matrix („cardiac jelly“) voneinander getrennt sind. Bereits das tubuläre Herz beginnt sich rhythmisch zu kontrahieren. Als erster Hinweis auf eine spätere links-rechts-Asymmetrie folgt das Rechtswärts-Looping (Abb. 1.1), dessen genetischer Hintergrund nur unvollständig bekannt ist. Vorhöfe und Ventrikel werden nun morphologisch unterscheidbar, nachdem das Herz bereits von

Beginn seiner Ausbildung an von rostral nach kaudal entsprechend seiner späteren Abschnitte – Aortensack, Bulbus cordis (späterer Konotrunkus und rechter Ventrikel), späterer linker Ventrikel, die zukünftigen Vorhöfe, Sinus venosus – gegliedert ist (Sucov 1998). Atriale und ventrikuläre Zellen stammen von unterschiedlichen Zelllinien, die bereits vor dem Looping spezifiziert sind (Yutzey und Bader 1995), ab und exprimieren unterschiedliche Untergruppen kardialer Myozytengene. Die Unterteilung des Herzschlauches in Vorhöfe, Ventrikel und Ausflußtrakt wird durch die Ausbildung der Endokardkissen, die aus regionalen „Schwellungen“ der extrazellulären Matrix („cardiac jelly“) hervorgehen, vervollständigt, aus denen sich die Anlagen der Septen und des Klappenapparates bilden (Eisenberg und Markwald 1995).

Die von der Neuralleiste abstammenden Zellen können zu verschiedensten Zelltypen, u.a. Melanozyten, Neuronen, Bindegewebe und glatten Muskelzellen differenzieren. Kardiale Neuralleistenzellen haben ihren Ursprung zwischen der Ohrplakode und den dritten Somiten und wandern in die Kiemenbögen, die Aortenbögen - den zukünftigen kardialen Ausflußtrakt und die späteren proximalen großen Gefäße (Abb. 1.2) (Kirby und Waldo 1990; Kirby und Waldo 1995; Creazzo et al. 1998) ein. Die bilateral symmetrisch angelegten Aortenbögen (III, IV, VI), die aus dem Aortensack entspringen, bilden nach komplexen Umbauvorgängen während der Entwicklung schließlich bestimmte Regionen des linksseitig orientierten Aortenbogens und der Pulmonalarterien. Die Neuralleistenzellen sind außerdem an Ausbildung der trunkalen Kissen, dem membranösen Anteil des interventrikulären Septums, der regelrechten Unterteilung und Anknüpfung der großen Gefäße und an der Ausbildung der Semilunarklappen beteiligt (Olson und Srivastava 1996). Ihre Rolle für die Herzentwicklung wird anhand der Neuralleistenablationsversuche bei Hühnerembryonen (Kirby und Waldo 1995), aufgrund derer die Embryonen ein Vielzahl kardialer Fehlbildungen, die meist den Konotruncus und die Aortenbögen betreffen und dem humanen DiGeorge-Syndrom ähneln, deutlich.

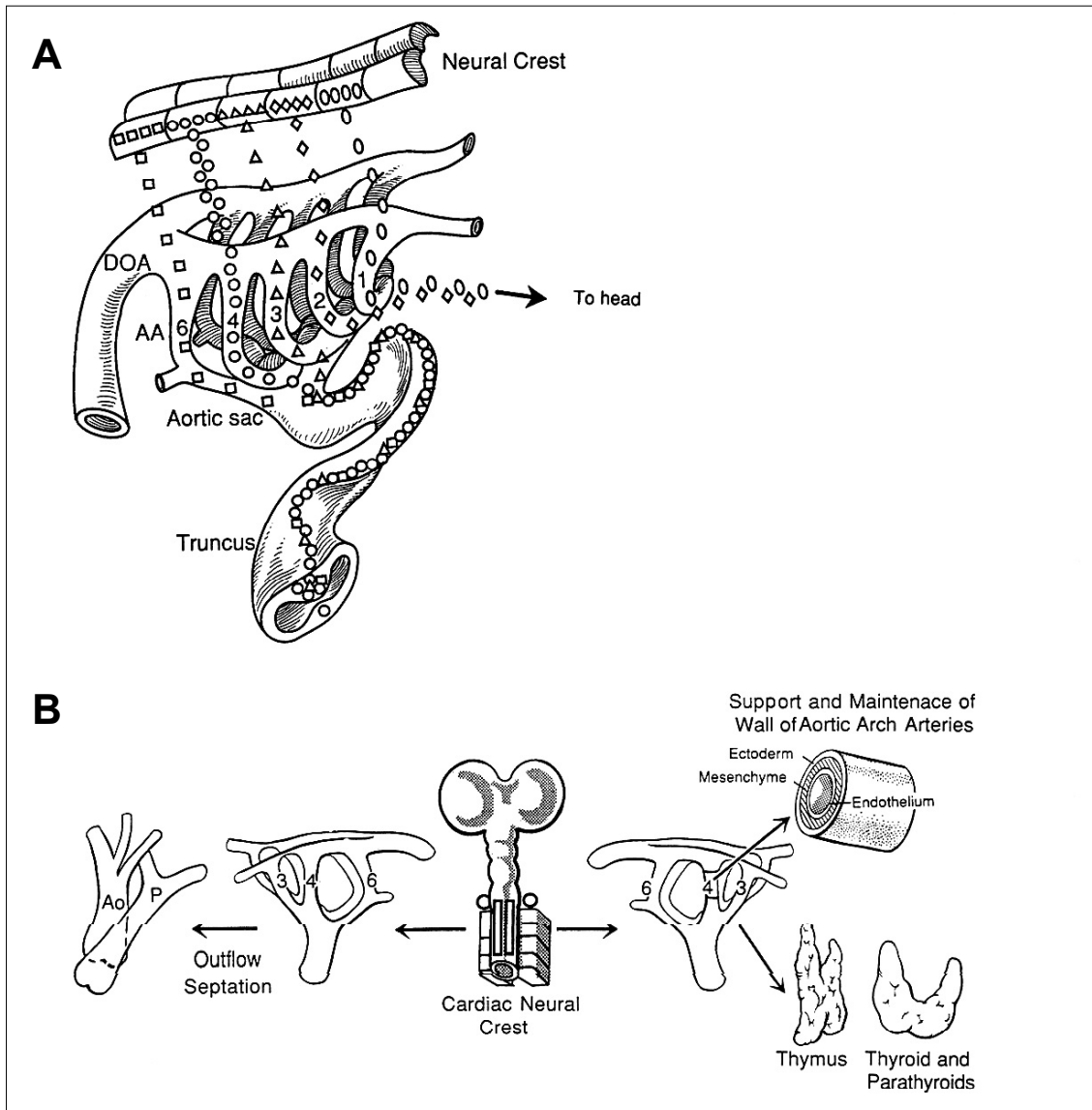


Abb. 1.2: Migrationswege der kranialen Neuralleiste

A: Weg durch die Pharyngealregion

B: Komplexer Beitrag zum pharyngealen Apparat (rechts) und zum Ausflußtrakt (links)

AA: Aortenbogen; DOA: dorsale Aorta

Aus: Kirby und Waldo, Circulation 82:332, 1990

## **1.2 Das Endothelinsystem - seine Rolle in Physiologie, Pathophysiologie und embryonaler Entwicklung**

Das Endothelinsystem besteht aus drei strukturell verwandten, jedoch von unterschiedlichen Genen kodierten Isopeptiden, dem Endothelin-1 (ET-1), Endothelin-2 (ET-2) und Endothelin-3 (ET-3) (Yanagisawa et al. 1988, Inoue et al. 1989). Ihre Wirkung entfalten die Endotheline bei Vertebraten über zwei G-Protein-gekoppelte Rezeptoren, den ET<sub>A</sub>- und den ET<sub>B</sub>-Rezeptor (Levin 1995; Schiffrin et al. 1997, Roux et al. 1999). Der ET<sub>A</sub>-Rezeptor bindet unter physiologischen Bedingungen ET-1 und ET-2, aber nicht ET-3, wogegen der ET<sub>B</sub>-Rezeptor alle drei Liganden mit gleicher Affinität zu binden vermag (Abb. 1.3).

Am besten untersucht ist die Rolle des Endothelin-1, das starke vasokonstriktorische und auf zahlreiche Zelltypen, u.a. glatte Gefäßmuskel-(VSMC), Endothel- und Mesangialzellen sowie Fibroblasten, auch mitogene und/oder antiapoptotische Wirkungen hat (Yanagisawa et al. 1988, Yanagisawa et al. 1994). Seine Bedeutung für die Pathogenese zahlreicher, v.a. kardiovaskulärer Erkrankungen konnte u.a. in Studien mit spezifischen ET-Rezeptor-Antagonisten gezeigt werden. So scheint Endothelin eine Rolle u.a. in der Pathogenese der essentiellen Hypertonie (Clozel et al. 1993, Nishikibe et al. 1993; Pinto-Sietsma und Paul 1998), des akuten Myokardinfarkts (Grover et al. 1993), der Herzinsuffizienz (Rothermund et al. 2000), der ischämischen oder Cyclosporin-induzierten Niereninsuffizienz (Bloom et al. 1993; Gellai et al. 1994; Benigni et al. 1996), des ischämischen Nervenschadens (Ohlstein et al. 1994) und des zerebrovaskulären Spasmus nach Subarachnoidalblutung (Clozel et al. 1993, Itoh et al. 1993) sowie bei der Restenose nach Ballondilatation (Wang et al. 1996) zu spielen (Xu et al. 1994 ).

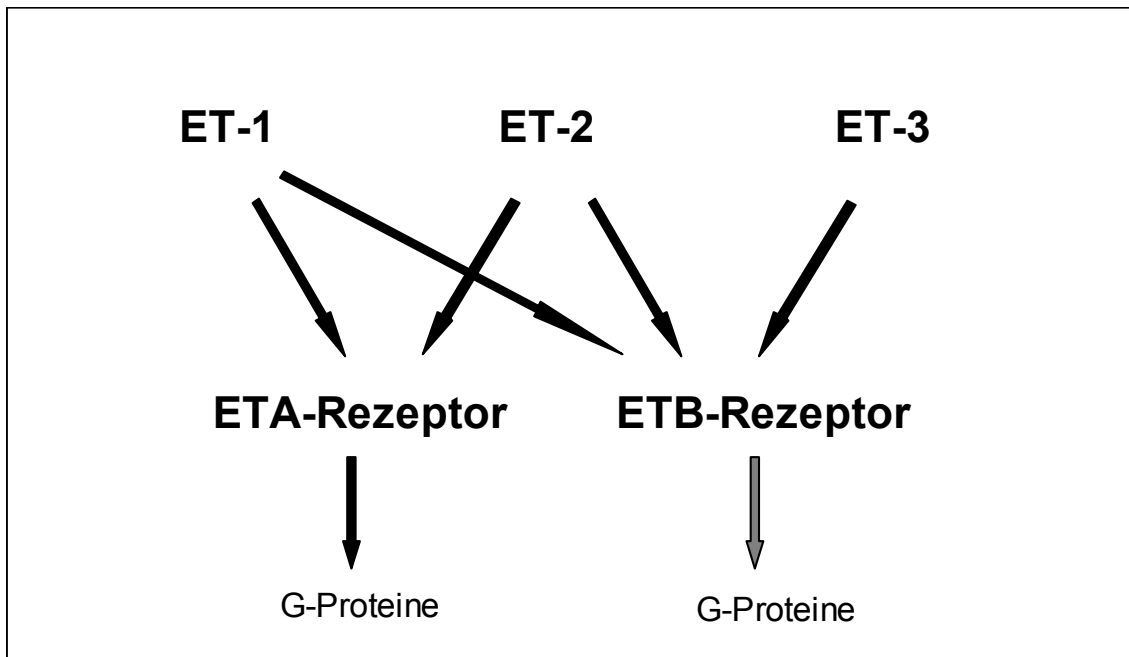


Abb. 1.3: Endothelinrezeptorbindung

Die Peptide interagieren mit dem selektiven ETA- und dem nicht-selektiven ETB-Rezeptor. Diese Rezeptoren koppeln an verschiedene G-Proteine, um eine Vielzahl unterschiedlicher physiologischer Antworten zu erzeugen.

Die linke Spalte zeigt den Signaltransduktionsweg über ET-1, ETA-Rezeptor in der Entwicklung zephaler und kardialer von den Neuralleistenzellen abstammender kraniofazialer Strukturen und des kardialen Ausflußtraktes. Die rechte Spalte zeigt dagegen den Signaltransduktionsweg über ET-3, ETB-Rezeptor in der Entwicklung der von den Neuralleistenzellen abstammenden epidermalen Melanozyten und enterischen Neurone.

Nach: Kedzierski und Yanagisawa 2001

Gen-Inaktivierungsstudien bei der Maus konnten die Bedeutung von Komponenten des Endothelinsystems in der Entwicklung zeigen. So zeigen Mäuse, denen die Fähigkeit zur Bildung von ET-1 (Kurihara et al. 1994; Kurihara et al. 1995) oder dem  $ET_A$ -Rezeptor (Clouthier et al. 1998) fehlt, Fehlbildungen in der Entwicklung von zephalen und kardialen Neuralleistenabkömmlingen wie den von Kiemenbögen abstammenden Geweben (u.a. der Schilddrüse und den Nebenschilddrüsen, der Mandibula), den großen Gefäßen und den Strukturen des kardialen Ausflußtraktes. Zahlreiche humane Fehlbildungssyndrome, u.a. das CATCH-22-Syndrom

(**C**ardiac defects, **A**bnormal face (Hypertelorismus, Telekanthus, kleines Kinn, bulböse Nase), **T**hymushypoplasie (T-Zell-Defekt), **C**left palate, **H**ypokalzämie (aufgrund eines Parathormonmangels) und Mikrodeletion im Chromosom 22q11) ähneln dem Phänotyp dieser Knock-out-Modelle. Mäuse mit einer Defizienz für ET-3 (Baynash et al. 1994) oder den ET<sub>B</sub>-Rezeptor (Hosoda et al. 1994) haben als Folge eines Defektes in der Entwicklung der von Neuralleistenzellen abstammenden epidermalen Melanozyten und enterischen Neurone ein fleckiges, jedoch überwiegend weißes Fell und ein aganglionies Megacolon (ähnlich dem M. Hirschsprung beim Menschen).

Die Biosynthese der Endotheline (Abb. 1.4) besteht aus einer zwei-stufigen Proteolyse, die letztlich zu den biologisch aktiven Peptiden führt. Das Schlüsselenzym innerhalb der Biosynthese ist eine membrangebundene, Phosphoramidon-sensitive Metalloprotease, das Endothelin-Konvertierungsenzym (ECE), das die biologisch inaktiven Vorstufen der ET, die Big-ET (Big-ET-1,-2,-3), durch proteolytische Spaltung aktiviert. Drei Isoenzyme des ECE sind bis jetzt bekannt. ECE-1 (Xu et al. 1994) ist das vorherrschende Enzym für die Umwandlung von Big-ET-1 im kardiovaskulären System, wird v.a. in Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen exprimiert (Takahashi et al. 1995; Orzechowski et al. 1997) und besitzt die höchste Affinität zu Big-ET-1. ECE-2 (Emoto und Yanagisawa 1995) wird dagegen hauptsächlich in neuronalem Gewebe exprimiert, scheint jedoch auch eine Rolle in der Herzentwicklung zu spielen, wie Yanagisawa in Doppel-Knock-out-Experimenten (Yanagisawa et al. 2000) zeigen konnte. ECE-3 (Hasegawa et al. 1998), dessen cDNA bis heute nicht kloniert wurde, ist das für Big-ET-3 spezifische Konvertierungsenzym.

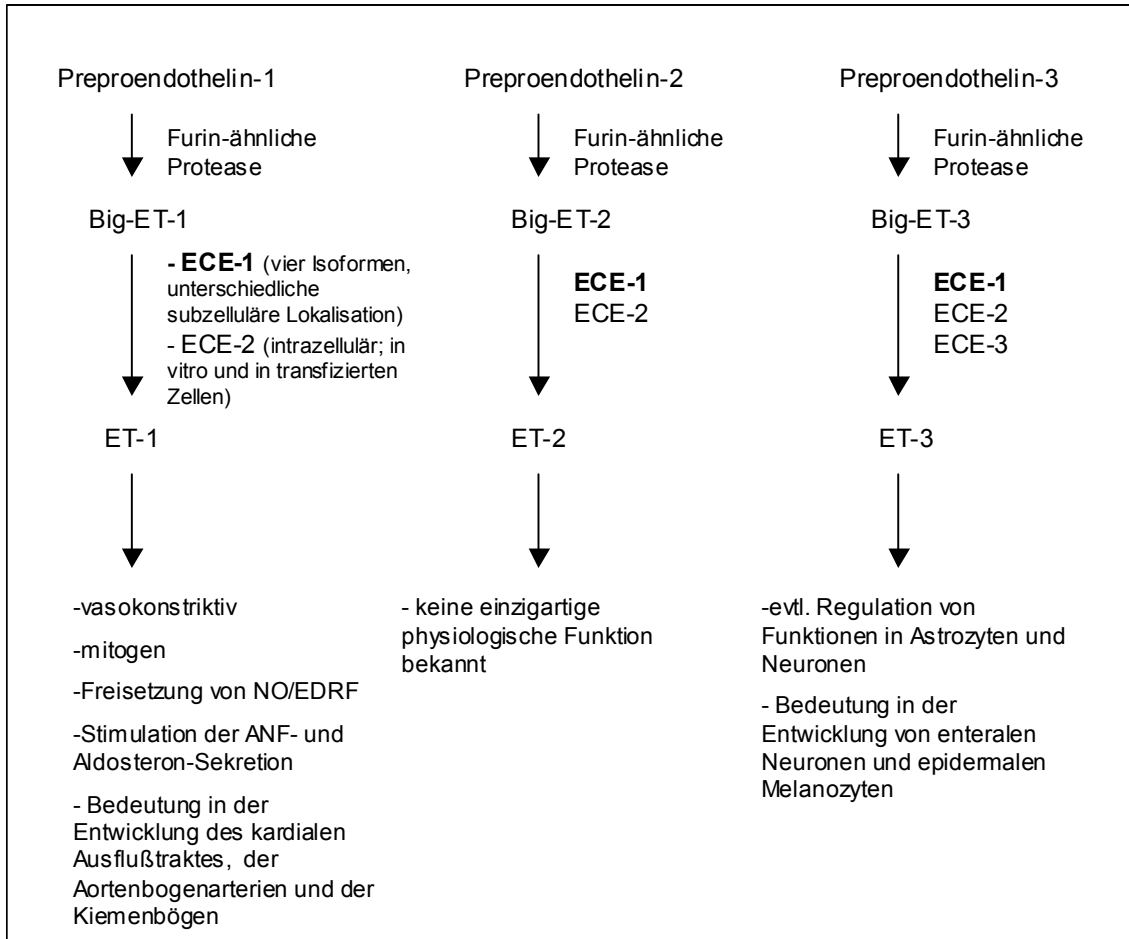


Abb.1.4: Biosynthese der Endotheline

Die Biosynthese der Endotheline besteht aus einer zwei-stufigen Proteolyse. Ein Furin generiert aus den Preproendothelinen die biologisch inaktive Vorstufe der Endotheline, die Big-Endotheline, die dann durch das Schlüsselenzym der Endothelin-Biosynthese, das Endothelin-Konvertierungsenzym (ECE) in die biologisch aktive Form, die Endotheline, überführt werden. Bis jetzt sind drei Isoenzyme des ECE - ECE-1, -2, -3 - beschrieben.

Im unteren Teil sind die wichtigsten Funktionen der einzelnen Endotheline angegeben.



Vier Isoformen des ECE-1 (ECE-1a,-1b,-1c,-1d) sind bis jetzt beschrieben (Shimada et al. 1995, Schmidt et al. 1994, Schweizer et al. 1997, Valdenaire et al. 1999b). Diese vier Isoformen zeigen eine ähnliche Enzymkinetik, unterscheiden sich aber hinsichtlich ihrer Gewebeverteilung (Orzechowski et al. 1997; Valdenaire et al. 1995) und ihrer subzellulären Lokalisation (Schweizer et al. 1997, Valdenaire et al. 1999a). So wird ECE-1a v.a. auf der Plasmamembran und ECE-1b intrazellulär exprimiert, während ECE-1c eine intermediäre subzelluläre Verteilung aufweist. Die unterschiedliche Lokalisation läßt sich durch die Existenz zweier di-Leucin-basierter Motive im N-Terminus von ECE-1b und einem bei ECE-1c, die als intrazelluläre Retentionssignale wirken, erklären (Valdenaire et al. 1999a; Cailler et al. 1999). Die vier Isoformen werden alle durch dasselbe Gen codiert und entstehen durch die Existenz vier verschiedener Promotoren in Kombination mit alternativem Spleißen. Der Rest der Aminosäuresequenz wird durch weitere 17 Exone codiert, die jedoch allen Isoformen gemeinsam sind (Schweizer et al. 1997, Valdenaire et al. 1995, Valdenaire et al. 1999b, Funke-Kaiser et al. 2000). Die komplexe Genstruktur des ECE-1 mit den isoformspezifischen Exonen und den unterschiedlichen Promotoren ist in der Abb. 1.5 (siehe folgende Seite) dargestellt. Die Exone 4-20, die allen Isoformen gemeinsam sind und für den größten Teil der ECE-1 cDNA codieren, sind nicht dargestellt. Die ersten vier Exone (1c, 1b, 2, 3) repräsentieren die 5'-Anteile der isoformspezifischen mRNAs, wobei nur ein Teil des Exon 3 isoformspezifisch (für die a-Isoform) und der andere Teil allen Isoformen gemeinsam ist. Die vier alternativen Promotoren liegen jeweils in der 5'-Region des jeweiligen isoformspezifischen Exons und initiieren die Transkription der Primärtranskripte. Die endgültige mRNA-Sequenz entsteht dann durch alternatives Spleißen entsprechend der eingezeichneten Donor- und Akzeptorstellen.

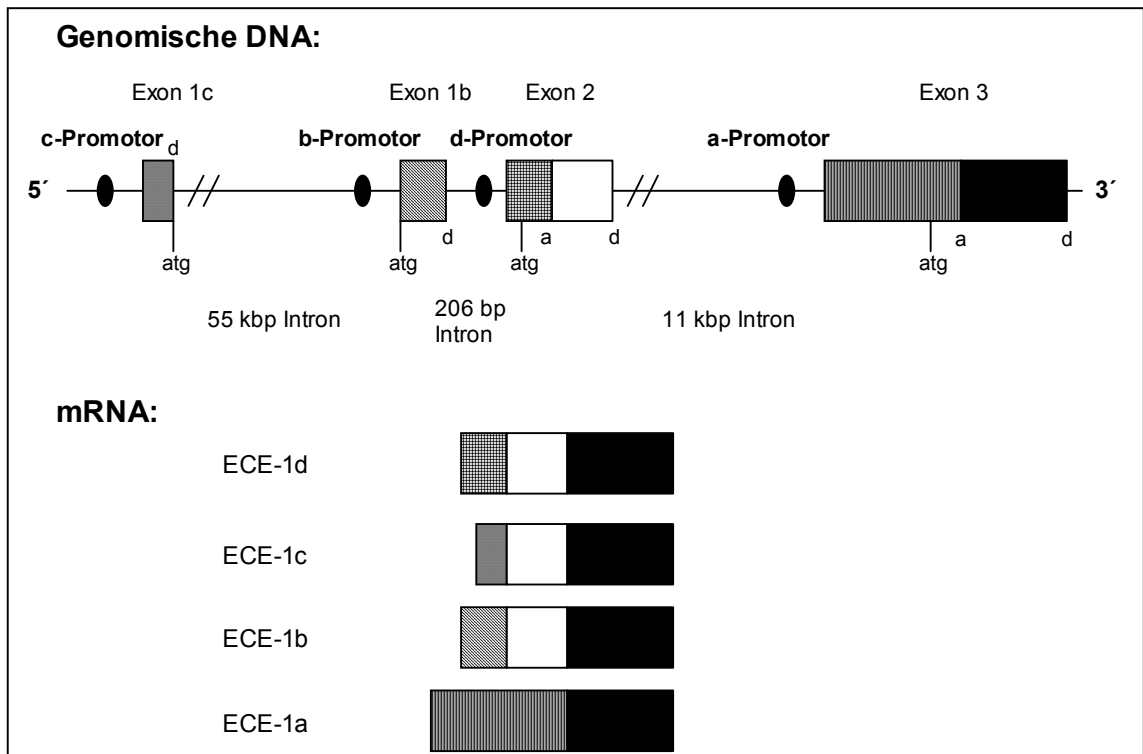


Abb.1.5: Struktur des humanen ECE-1-Gens:

Im oberen Teil ist die genomische Struktur des 5'-Endes mit Exon-Intron-Grenzen, der Lokalisation der alternativen Promotoren sowie der Donor- und Acceptor-Stellen unter Aussparung der allen Isoformen gemeinsamen Exons 4 bis 20 dargestellt.

Die vier ECE-Isoformen (1a, 1b, 1c, 1d), die durch verschiedene Promotoren transkribiert und anschließend durch alternatives Spleißen generiert werden, sind im unteren Teil der Abbildung in ihrer Struktur auf mRNA-Ebene dargestellt.

Nach: Orzechowski et al. 1997, Valdenaire et al. 1999, Funke-Kaiser et al. 2000

Die grundlegende Rolle des ECE-1 in der Entwicklung der von der Neuralleiste abstammenden Gewebe und Zelllinien der Vertebraten konnte durch ein Knock-out-Modell bei Mäusen gezeigt werden (Yanagisawa et al. 1998). Der ECE-1-Knock-out betrifft vier verschiedene Gruppen von Strukturen/Geweben, die alle von Subpopulationen der Neuralleistenzellen abstammen: die kraniofaziale Strukturen, die aus den Kiemenbögen entstehen, die großen Gefäße sowie die Strukturen des kardialen Ausflußtraktes, die epidermalen und choroidalen Melanozyten und die enterischen Neurone. So zeigen Mäuse mit einer homozygoten Nullmutation für ECE-1 neben kraniofazialen und kardiovaskulären Anomalien auch eine kongenitale intestinale Aganglionose (entsprechend dem M. Hirschsprung) und ein Fehlen der epidermalen Melanozyten.

Die kraniofazialen Anomalien umfassen u.a. Mandibulahypoplasie mit fehlender Fusion in der Mittellinie, fehlende Mittel- und Außenohrstrukturen bei intaktem Innenohr, Gaumenspalte, deformierten Thyroidknorpel und fehlendes Hyoid. Die häufigsten –hier gesehenen - kardiovaskulären Fehlbildungen umfassen den perimembranösen Ventrikelseptumdefekt (VSD), die überreitende Aorta, den „Double-outlet-right-ventricle“ (DORV), den persistierenden Truncus arteriosus (PTA) sowie Anomalien der großen Gefäße, u.a. einen unterbrochenen Aortenbogen. Diese Fehlbildungen, die auch bei Hühnerembryonen nach Ablation der kardialen Neuralleiste beobachtet werden (Kirby und Waldo 1995), finden sich beim Menschen entweder als isoliert oder bei Syndromen (CATCH-22-, DiGeorge-Syndrom u.a) auftretende kongenitale Herzfehler.

Der Phänotyp des ECE-1-Knock-outs entspricht also der Kombination der Phänotypen des ET-1- (Kurihara et al. 1994; Kurihara et al. 1995; Kedzierski et al. 2001) und ET<sub>A</sub>-Knock-out-Modells (Clouthier et al. 1998; Kedzierski et al. 2001) mit denen des ET-3- (Baynash et al. 1994; Kedzierski et al. 2001) und ET<sub>B</sub>-Knock-out-Modells (Hosoda et al. 1994; Kedzierski et al. 2001). ECE-1 scheint daher in vivo essentiell für die proteolytische Aktivierung von Big-ET-1

und Big-ET-3 zu sein. Im Gegensatz zu den anderen Knock-out-Modellen sterben die Embryonen mit einer homozygoten ECE-1-Nullmutation noch in utero aufgrund von Herzinsuffizienz.

Die ontogenetische Bedeutung des ECE-1 wird durch die Entdeckung einer „Loss-of-function“-Mutation im ECE-1-Gen eines Patienten mit klinischen Manifestationen, die dem Phänotyp im ECE-1-Knock-out-Modell bei der Maus entsprechen, noch unterstrichen (Hofstra et al. 1999).

### **1.3 Nkx2.5 – ein essentieller Faktor der Kardiogenese**

Die genaue Regulation der Expression vieler kardialer Gene ist bis heute nicht aufgedeckt. Jedoch konnte eine ganze Reihe von Homeodomänen-enthaltenden Proteinen identifiziert werden, denen eine Beteiligung bei der Ausbildung des kardialen Phänotyps zugeschrieben wird. Innerhalb dieser Gruppe von Proteinen, deren Expression der der spezifischen kardialen Myozytengene vorangeht, ist der Homeobox-Transkriptionsfaktor Csx/Nkx2.5 - ein Verwandter des Drosophila-Gens „tinman“, das für die Ausbildung des Herzäquivalents verantwortlich ist – am besten charakterisiert und scheint eine essentielle Rolle in der frühen kardialen Entwicklung zu spielen (Schwartz und Olson 1999, Evans 1999; Epstein 2000). Seine Bedeutung in der Kardiogenese wird desweiteren durch die Ergebnisse von Knockout-Experimenten (Lyons et al. 1995; Tanaka et al. 1995) und die Beschreibung von Mutationen im Nkx2.5-Gen bei Patienten mit angeborenen Herzfehlern (Schott et al. 1998; Benson et al. 1999) unterstrichen.

Schon vor Beschreibung der chromosomalen Lokalisation des Nkx2.5-Genes, 5q34 (Shiojima et al. 1995), gab es Berichte über distale 5q-Trisomien, die mit zahlreichen Varianten kardialer Fehlbildungen, u.a. der Fallotschen Tetralogie (TOF) und einem Ventrikelseptumdefekt (VSD) verbunden sind (Kumar et al. 1987).

Nkx2.5 wird bereits im präkardialen Mesoderm vor Aktivierung des myogenen

Programmes exprimiert (Lints et al. 1993), und sein räumliches Expressionsmuster definiert zu einem großen Teil die Grenzen der herzbildenden Region bei Vertebraten (Ehrman und Yutzey 1999). Die Nkx2.5-Expression greift dann auf die myokardialen Schichten des embryonalen und fetalen Herzens über, und seine Transkripte sind auch in den Kardiomyozyten des adulten Herzens noch nachweisbar (Komuro und Izumo 1993, Lints et al. 1993). Die Homologie zwischen Nkx2.5, seinem Xenopus-Äquivalent XNkx2.5 und dem Drosophila-Gen „tinman“ sowie die Ähnlichkeit ihres Expressionsmusters suggeriert eine frühe und evolutionär konservierte Bedeutung von Nkx2.5 in der Herzmuskelentwicklung (Lints et al. 1993; Bodmer 1993; Komuro und Izumo 1993; Chen und Fishman 1996; Schultheiss et al. 1995).

Die Bedeutung des Gens „tinman“ für die Entwicklung des dorsalen Gefäßes, dem Herzäquivalent bei der Fruchtfliege, wurde 1993 durch Knock-out-Versuche bei Drosophila gezeigt (Bodmer 1993). Wie der Charakter in Baums „Der Zauberer von Oz“ besaßen die Fliegen ohne ein funktionelles „tinman“-Gen kein dorsales Gefäß (= Herz).

In Knock-out-Experimenten bei der Maus konnte dagegen gezeigt werden, daß es trotz Fehlen von Nkx2.5 zwar zur Ausbildung einer Herzanlage kommt, daß jedoch sehr früh in der Entwicklung morphologische Auffälligkeiten nachzuweisen sind: Ein schlagender linearer Herzschauch ist angelegt, die Initiierung des Loopings bleibt jedoch aus. Als Folge einer frühen hämodynamischen Insuffizienz kommt es zu Wachstumsretardierung und schließlich zum embryonalen Tod (Lyons et al. 1995). Tanaka et al. (1999) wiesen auch einen Stillstand der Herzentwicklung, jedoch erst nach Initialisierung des Looping, nach. Außerdem konnten sie nachweisen, daß bei Mäusen mit einer kompletten Nullmutation für Nkx2.5 die Endokardkissenanlage fehlt. Die selektive Downregulation von n-Myc, eHAND und MEF2C – weiteren in der Entwicklung des Herzens wichtigen Transkriptionsfaktoren – bei diesen Mäusen läßt darauf schließen, daß Nkx2.5 die spätere Differenzierung kardialer Myozyten durch essentielle „downstream“

liegende Faktoren regulieren könnte.

Heterozygote Mutationen auf Chromosom 5q35, der Lokalisation des Genes für Nkx2.5, konnten bei einigen Familien mit gehäuftem Auftreten nicht-syndromaler Herzfehler, v.a. Vorhofseptumdefekten vom Sekundumtyp (ASD II) und atrioventrikulären Überleitungsstörungen, z.T. mit zusätzlichen Malformationen wie Ventrikelseptumdefekt, Fallotscher Tetralogie, subvalvulärer Aortenklappenstenose, ventrikulärer Hypertrophie und Pulmonalatresie, als Ursache nachgewiesen werden (Schott et al. 1998, Benson et al. 1999; Epstein 2000). Diese Mutationen führten u.a. zur Substitution von Aminosäuren innerhalb der evolutionär konservierten Homeodomäne oder zu verfrühten Abbrüchen des Proteins.

Neuere Untersuchungen bei Mäusen mit einer Heterozygotie für das Nkx2.5-Nullallel zeigen, daß die komplexen Effekte der Haploinsuffizienz bei Mäusen zwar deutlich schwächer, aber in Übereinstimmung mit den Phänotypen der humanen Mutationen, ausgeprägt sind. Diese Mäuse zeigen nur moderate Anomalien im Bereich des Vorhofseptums und geringgradige Verlängerungen des PR-Intervalls im Elektrokardiogramm (EKG) (Biben et al. 2000).

Die große Variabilität der kardialen Fehlbildungen macht weitere Genloci oder umgebende Faktoren, die den Phänotyp bei Patienten mit einer Mutation im Nkx2.5-Gen modifizieren, wahrscheinlich (Epstein 2000).