

Nora Katharina Riechert
Dr. med.

Dystrophe kardiale Kalzifikation als Modell kardiovaskulärer Verkalkungen; Prävalenz, Pathogenese und hochauflösende Genkartierung des *Dyscalc1*-Genlokus am Mausmodell

Geboren am 24.02.1981 in Saarbrücken
Staatsexamen am 20.04.2007 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. H. A. Katus

Heterotope, extraossäre Verkalkungen wurden immer wieder beim Menschen, insbesondere im kardiovaskulären System, beschrieben.

In dieser Arbeit diente die dystrophe kardiale Kalzifikation (DCC), die bei verschiedenen Mausinzuchtstämmen auftritt, als Modell für diese Art der Verkalkung. Verschiedene Mausinzuchtstämme wurden bereits auf DCC untersucht. Die Inzuchtstämme BALB/c, CBA, C3H/He, CHI, DBA/2 und NMRI besitzen eine genetische Prädisposition zur DCC, wohingegen die Mausinzuchtstämme A/J und C57BL/6 resistent sind. Zwei Inzuchtstämme, FVB/n und 129S1, die häufig für Gene-Targeting verwendet werden, wurden bisher noch nicht untersucht.

Mittels transdiaphragmaler Kryopexie wurde eine Myokardnekrose bei Tieren der Stämme A/J, BALB/c, CBA, C3H/He, C57BL/6, DBA/2, FVB/n und 129S1 durchgeführt und die Herzen nach unterschiedlichen Zeitintervallen entnommen. Mit verschiedenen histologischen Techniken wurden Ausdehnung und Art der Nekrosezone genauer beurteilt. In der Alizarin-Red-S-Färbung erwiesen sich Tiere des Inzuchtstammes 129S1 als DCC-prädisponiert und solche des Inzuchtstammes FVB/n als DCC-resistent. Zudem zeigten die von uns untersuchten Tiere des Inzuchtstammes CBA, im Gegensatz zu früheren Veröffentlichungen aus dem Jahr 1964, keine Kalzifikation der Nekrosezone, was mit einem im Laufe der Zeit stattgefundenem genetischen Drifting erklärbar wäre. Die HE-Färbung diente zur Untersuchung der zellulären Zusammensetzung des Nekroserandgebietes. In der Nekrosezone DCC-prädisponierter Tiere fanden sich fibrotisch abgekapselte kalzifizierte Kardiomyozyten und eine verzögerte Phagozytose. Fluoreszenzmikroskopische Untersuchungen zeigten, dass die Entwicklung der DCC 24-48 Stunden nach Myokardschädigung einsetzte. Elektronenmikroskopisch zeigten DCC-prädisponierte Tiere zwei Schädigungstypen der Mitochondrien. Eine pyknotisch wirkende Form wies elektronendichte Kalziumablagerungen auf, während die andere angeschwollen war und nur Matrixverdichtungen zeigte, wie sie auch bei Mitochondrien nicht verkalkender Inzuchtstämme auftraten. Dieser unterschiedliche Phänotyp der Mitochondrien könnte ein Hinweis auf die Pathogenese der DCC sein.

Im zweiten Teil dieser Arbeit sollte der *Dyscalc1*-Genlokus auf dem proximalen Chromosom 7 der Maus beschrieben werden. Dieser Genlokus ist der entscheidende genetische Faktor für die Prädisposition zur DCC. Die Größe des *Dyscalc1*-Genlokus wurde bisher mit einer Länge von 11,57 Megabasenpaaren (Mbp) angegeben. Mittels Züchtung kongener Mausstämmen, Rückkreuzungsexperimenten und QTL-Analyse konnte der Genlokus von uns auf 3,48 Mbp verkürzt werden. Dies reduzierte die Anzahl der Kandidatengene von zuvor 259 auf 69. Diese Arbeit stellt eine wesentliche Grundlage für die positionelle Klonierung des bisher unbekanntes *Dyscalc1*-Gens dar. Hierzu wurden verschiedene molekularbiologische Untersuchungsmethoden angewandt. Mittels quantitativer Real-Time-PCR konnten zwei

Kandidatengene, die bereits öfters als Dyscalc1-Gen vorgeschlagen wurden, ausgeschlossen werden.

Die Ergebnisse dieser Arbeit wurden im Virchows Archiv und Physiological Genomics veröffentlicht.