

Kathrin Iris Staudacher
Dr.med

Translationale und pharmakologische Regulation von humanen Zwei-Porendomänen-Kaliumkanälen

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. D. Thomas

Die in dieser Arbeit untersuchten Kanäle $hK_{2P}10.1$ und $hK_{2P}3.1$ gehören beide zur Familie der Zwei-Poren-Domänen-Kaliumkanäle. Die Erforschung dieser Kanalfamilie hat erst in den letzten Jahren zunehmend an Bedeutung gewonnen. Die K_{2P} -Kanäle sind Teil der Kalium-Hintergrundströme, die wesentlich verantwortlich sind für die Stabilisierung des Ruhemembranpotentials sowie für die Aktionspotential-Repolarisation.

Damit stellt die Regulation der K_{2P} Hintergrundströme einen wesentlichen Mechanismus zur Kontrolle der zellulären Erregung/Erregbarkeit dar.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die alternative Translations Initiation des $K_{2P}10.1$ Kanals und ihre Auswirkung auf Proteinvialt und elektrische Plastizität zu untersuchen. Dabei konnte gezeigt werden, dass es, bedingt durch das alternative Spleißen, gewebespezifisch nicht nur zu einer Rekombination des 5' Endes und damit zur Entstehung von drei Isoformen kommt, sondern auch, dass durch diese Rekombinationen die Translations Initiations Sequenzen vor dem ersten Startcodon verändert werden. Die Unterschiede in den Translations Initiationssequenzen der einzelnen Isoformen führen zu einer unterschiedlich großen Affinität eines Ribosoms zum ersten Startcodon. Als Konsequenz resultiert, bei allen Isoformen mit einer unterschiedlich großen Wahrscheinlichkeit, ein Translationsbeginn an einem weiter hinten gelegenen Startcodon. Für alle drei Isoformen ließen sich in der Aminosäuresequenz drei mögliche Startcodons nachweisen. Damit entsteht die Möglichkeit, Proteine mit unterschiedlich langem N-Terminus zu bilden. Dass diese Verkürzungen die elektrophysiologischen Eigenschaften des Kanals verändern, konnte im Vorfeld dieser Arbeit schon für den $K_{2P}2.1$ gezeigt werden. Im Falle des $K_{2P}10.1$ ließ sich nachweisen, dass die Bildung von verkürzten Proteinen zu einer geringeren Stromproduktion und damit zu einer Membrandepolarisation führt. Diese Membrandepolarisation hat eine verstärkte Erregbarkeit der Zelle zur Folge. Anders als beim $K_{2P}2.1$ Kanal wurden Ionenselektivitäten beim $K_{2P}10.1$ Kanal unabhängig von der Länge des N-Terminus des kanalbildenden Proteins nicht beeinflusst. Auf der Grundlage dieser veränderten Eigenschaften der Proteine können möglicherweise die Entstehung von Erkrankungen, beispielsweise Arrhythmien begünstigt werden. Somit würde eine gezielte Beeinflussung dieses Mechanismus und seines Einflusses auf die Regulation insbesondere der K_{2P} Kanäle ein neuartiges Therapiekonzept darstellen.

Als weiteres Ziel der Arbeit sollten die akuten Effekte des nichtselektiven Beta-Blockers Carvedilol auf den vorhofselektiven Kanal $K_{2P}3.1$ untersucht werden. Als Antihypertonicum entwickelt, zeigte sich schnell, dass die Substanz über weitere Wirkungsspektren verfügt. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass Carvedilol das Outcome bei Patienten mit Vorhofflimmern und Herzinsuffizienz verbessert sowie das Auftreten von ersterem nach Operationen unterdrücken kann.

Diese Arbeit konnte zeigen, dass heterolog in *Xenopus* Oozyten exprimierte $K_{2P}3.1$ Kanäle durch Carvedilol in einer therapeutisch relevanten Konzentration gehemmt werden. Eine Inhibition ließ sich im geöffneten, wie auch im geschlossenen Zustand nachweisen, wobei die Inhibition im geöffneten Zustand signifikant stärker war, als die im geschlossenen Zustand. Es zeigte sich eine Frequenz-, aber keine Spannungsabhängigkeit der Inhibition. Ergänzende Experimente, die gleiche Ergebnisse lieferten wurden in Säugtier CHO-Zellen und hPASM-Zellen durchgeführt. Für andere Beta-Blocker, in dieser Arbeit Metoprolol und Propranolol, konnte dieser Effekt nicht festgestellt werden. Dieser Mechanismus kann zu der antiarrhythmischen Wirkung von Carvedilol bei Patienten mit Vorhofflimmern beitragen.

Die in dieser Arbeit dargestellten Ergebnisse belegen, welche Bedeutung den K_{2P} -Kanälen bei der Regulation der zellulären Erregbarkeit zukommt. Ebenso wichtig erscheint die Aufklärung der Regulationsmechanismen, die die Funktion dieser Zwei-Poren-Domänen-Kaliumkanäle gewährleisten. Deren Dysregulation kann sich in der Entstehung von Krankheiten niederschlagen. Diese Erkenntnisse und die Aufklärung der Regulationsmechanismen liefern neue Ansatzpunkte beispielsweise für eine antiarrhythmische Therapie.