

Dierk Thomas  
Dr. med.

## **Der repolarisierende "human ether-a-go-go-related gene" (HERG)-Kaliumstrom im Herzen**

Geboren am 04. 10. 1974 in Braunschweig  
Reifeprüfung am 24. 06. 1994 in Ahrensburg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1995/96 bis SS 2002  
Physikum am 10. 09. 1997 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Heidelberg  
Staatsexamen am 15. 05. 2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. J. Kiehn

Der "human ether-a-go-go related gene" (HERG)-Kaliumkanal ist das molekulare Korrelat der schnellen Komponente des "delayed rectifier"-Kaliumstromes  $I_{Kr}$ , der einen bedeutenden Anteil an der Repolarisationsphase des kardialen Aktionspotentials besitzt. Pharmakologische Blockade von HERG ist ein therapeutisch genutztes antiarrhythmisches Prinzip, welches eine Verlängerung der Refraktärperiode bewirkt und auf diese Weise das Entstehen von "Re-entry"-Tachykardien verhindert. Übermäßige Inhibition des HERG durch Pharmaka kann jedoch zum erworbenen Langen QT-Syndrom führen. Dieses ist wie das durch Mutationen in HERG hervorgerufene hereditäre Lange QT-Syndrom (LQT-2) mit einem erhöhten Risiko für ventrikuläre "Torsade de Pointes"-Arrhythmien und plötzlichen Herztod verbunden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Funktion des HERG-Kaliumkanals in der kardialen Repolarisationsphase zu untersuchen. Dabei war insbesondere von Interesse, wie  $\beta$ -adrenerge Stimulation und Proteinkinasen den Kaliumkanal in seinen elektrophysiologischen Eigenschaften modulieren. Durch Mutation der PKA-abhängigen Phosphorylierungsstellen in HERG und Applikation PKA-spezifischer Aktivatoren konnte unter Verwendung der Patch-Clamp-Methode und der Doppelelektrode-Technik demonstriert werden, daß Proteinkinase A die Aktivierungskinetik des HERG-Kaliumkanals durch direkte Phosphorylierung des Kanalproteins reguliert. Die Stimulation von Proteinkinase A hatte eine Reduktion der HERG-Stromamplitude zur Folge. Dieser Regulationsmechanismus war nicht nur in *Xenopus*-Oozyten, sondern auch in menschlichen HEK 293-Kulturzellen wirksam, was seine physiologische Relevanz reflektiert. Die klinischen Beobachtungen der erhöhten Inzidenz von Arrhythmien in pathologischen Situationen wie Sepsis oder Ischämie, die mit gesteigerter adrenerger Stimulation einhergehen, können mit dem beschriebenen regulatorischen Mechanismus erklärt werden. Zugleich bietet die Verknüpfung der HERG-Aktivierung mit  $\beta$ -adrenerger Stimulation und konsekutiver PKA-Aktivierung einen Ansatzpunkt für eine neue Form der antiarrhythmischen Therapie.

Der molekulare pathogenetische Mechanismus des angeborenen Langen QT-Syndroms einer Familie mit dem mutierten HERG R752W-Allel konnte in dieser Arbeit aufgeklärt werden.

Messungen mit der Patch Clamp-Technik an transient mit HERG Wildtyp- und HERG R752W-cDNA transfizierten HEK 293-Zellen zeigten, daß der ursächliche Defekt im Prozeß der posttranslationalen Reifung des Kanalproteins lokalisiert ist. Bei einer physiologischen Expressionstemperatur von 37°C ist das mutierte Protein nicht in der Lage, das endoplasmatische Retikulum zu verlassen und über den Golgi-Komplex in die Plasmamembran zu gelangen. Senkt man jedoch die Temperatur auf 26°C, so wird das korrekt gefaltete und glykosylierte Kanalprotein in die Membran eingebaut. Es weist dann keine elektrophysiologischen Unterschiede zum Wildtyp des Kanals mehr auf, die als Ursache für die Entstehung eines Lungen QT-Syndroms in Frage kommen, was anhand einer Simulation mittels des Luo-Rudy-Modells für das kardiale Aktionspotential nachgewiesen wurde. Immunzytochemische Untersuchungen an COS-7-Kulturzellen sowie eine Westernblot-Analyse der HERG Wildtyp- und HERG R752W-Proteine bestätigten dieses Ergebnis. Durch die verringerte Kanalexpression der HERG R752W-Mutante bei physiologischer Temperatur erklärt sich somit, wie es bei dieser Familie zu einem Lungen QT-Syndrom und zu einer Verlängerung des Aktionspotentials kommt.

Amiodaron ist ein sehr potentes Klasse III-Antiarrhythmikum, das breite Verwendung in der Therapie maligner Herzrhythmusstörungen findet. Obwohl diese Substanz bereits seit Jahren in klinischem Gebrauch ist, sind deren genaue molekulare Angriffspunkte weitgehend ungeklärt. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, daß heterolog exprimierte HERG-Kaliumkanäle in *Xenopus*-Oozyten durch das Klasse III-Antiarrhythmikum Amiodaron in therapeutischen Konzentrationen gehemmt werden. Die inhibitorischen Effekte wirken sich auf den geschlossenen, offenen und inaktivierten Zustand des Ionenkanals aus und zeigen zudem Spannungs- und Frequenzabhängigkeit. Durch diesen Anteil der vorliegenden Studie wurden neue Erkenntnisse über den komplexen molekularen Wirkungsmechanismus von Amiodaron in der antiarrhythmischen Therapie erlangt.

Die erhobenen Befunde belegen, daß der "human ether-a-go-go related gene"-Kaliumkanal einen hohen Stellenwert während der Repolarisationsphase der kardialen Erregung besitzt. Die Ergebnisse dieser Arbeit, insbesondere die Entdeckung der Regulation von HERG durch Proteinkinase A, tragen in signifikanter Weise zum besseren Verständnis der Entstehung kardialer Arrhythmien bei und liefern neue kausale Ansatzpunkte für die antiarrhythmische Therapie.