

Katja Susanne Claudia Röckl  
Dr. med.

## **Untersuchung des Signaltransduktionsweges zwischen dem adrenergen $\beta_3$ -Rezeptor und dem KvLQT1/MinK-Kaliumkanal des Herzens**

Geboren am 22.06.1977 in Heidelberg  
Reifeprüfung am 20.06.1997 in Heidelberg  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1997/98 bis SS 2004  
Physikum am 16.09.1999 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg, Paris  
Praktisches Jahr in Heidelberg, Genf, San Luis Potosí  
Staatsexamen am 13.05.2004 an der Universität Heidelberg

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

In der Repolarisationsphase des kardialen Aktionspotenzials spielt der Delayed Rectifier Kaliumstrom  $I_{Ks}$  eine entscheidende Rolle. Störungen der Repolarisation führen zu kardialen Arrhythmien. So sind Veränderungen des KvLQT1/MinK-Kaliumkanals, dem molekularen Korrelat des  $I_{Ks}$ -Stroms, für über 50% der Fälle von LQTS, dem Syndrom der langen QT-Dauer, verantwortlich. Im selben Zusammenhang sind lebensgefährliche Torsades de Pointes Tachykardien speziell nach sympathogenen Stimuli beobachtet worden. Vor diesem Hintergrund beschäftigt sich die vorliegende Dissertationsarbeit mit dem Signaltransduktionsweg zwischen dem adrenergen  $\beta_3$ -Rezeptor und dem KvLQT1/MinK-Kaliumkanal.

Für die Fragestellung wurde  $I_{Ks}$  simuliert, indem die menschlichen Gene KvLQT1 und MinK in *Xenopus* Oozyten koexprimiert wurden. Um den Einfluss einer  $\beta_3$ -adrenergen Stimulation auf den simulierten  $I_{Ks}$ -Strom, hier KvLQT1/MinK-Strom genannt, zu untersuchen, wurde in den Oozyten zusätzlich der menschliche  $\beta_3$ -Rezeptor koexprimiert.

In dieser Arbeit konnte zunächst gezeigt werden, dass die Stimulation des  $\beta_3$ -Rezeptors zu einer deutlichen Zunahme des KvLQT1/MinK-Stroms führt. Daraufhin wurde die Beteiligung unterschiedlicher Second Messenger Systeme an der Signaltransduktionskaskade analysiert, indem die Second Messenger Systeme durch pharmakologische Substanzen mit bekannter Wirkung gehemmt oder stimuliert wurden. Den bereits gut untersuchten Signaltransduktionswegen der  $\beta_1$ - und  $\beta_2$ -Rezeptoren entsprechend zeigte sich auch für  $\beta_3$  eine Kopplung an  $G_s$ -Proteine mit nachfolgender Stimulation der Adenylatzyklase. Diese wiederum führte über die Erhöhung des cAMP-Spiegels zu einer Aktivierung der Proteinkinase A (PKA). Es lag die Vermutung nahe, dass die Kanalphosphorylierung durch PKA erfolgt, doch die Ergebnisse weiterer Experimente konnten dies nicht bestätigen. Auf der Suche nach anderen Möglichkeiten der Kanalaktivierung konnte neben dem PKA-Einfluss ein deutlicher Effekt von Proteinkinase C (PKC) auf den KvLQT1/MinK-Strom nachgewiesen werden. Dieser war ebenfalls von dem  $\beta_3$ -vermittelten Signaltransduktionsweg abhängig.

Im folgenden Teil der Arbeit wurde die Rolle von PKC im Transduktionsweg näher untersucht. Hierzu wurden KvLQT1/MinK-Kaliumkanäle exprimiert, deren PKC-Phosphorylierungsstellen selektiv zerstört waren. Eine direkte Aktivierung des KvLQT1/MinK-Kanals durch PKC konnte festgestellt werden: Diese findet an mehreren PKC-Phosphorylierungsstellen am carboxyterminalen Ende des KvLQT1-Proteins statt. Es zeigte sich weiterhin, dass eine PKA-Aktivierung nur bei intakten PKC-Phosphorylierungsstellen zu einer deutlichen Erhöhung des KvLQT1/MinK-Stroms führte. Folglich muss eine Interaktion zwischen PKA und PKC stattfinden, damit es zu einer  $\beta_3$ -vermittelten Aktivierung des KvLQT1/MinK-Kaliumkanals kommen kann. Diese Interaktion schließt die Signaltransduktionskaskade und führt zu einem bislang noch nicht beschriebenen Weg der von  $\beta$ -Rezeptoren ausgehenden Signalübermittlung.

Die Kopplung des  $\beta_3$ -Rezeptors an den KvLQT/MinK-Kaliumkanal über eine PKA/PKC-Interaktion und nachfolgende PKC-Phosphorylierung des KvLQT1-Proteins wurde in der vorliegenden Arbeit im *Xenopus* Oozyten Expressionssystem gezeigt. Dieses System bot die Möglichkeit, in einem stabilen Milieu mit menschlichen Rezeptor- und Kanal-Proteinen zu arbeiten.

Die untersuchte Transduktionskaskade koppelt einen Rezeptor, dem am kranken Herzen eine besonderer Bedeutung zugesprochen wird, an einen Kaliumkanal, dessen fehlerhafte Funktion zu Herzrhythmusstörungen führt. In der Kenntnis dieses Transduktionswegs birgt sich die Hoffnung, ein größeres Verständnis für schwerwiegende Arrhythmien zu erlangen und die Wirkung schon bekannter Arzneimittel besser zu verstehen. Langfristig sollten damit neue Ansatzpunkte für antiarrhythmisch wirksame Medikamente entstehen.