

Claudia Kiesecker
Dr.sc.hum.

Die Regulation des kardialen I_{K1} - Stromes durch Endothelin-1

Geboren am 28.07.1976 in Mannheim

2. Staatsexamen der Fachrichtung Pharmazie am 27.04.2001 an der Universität Heidelberg
Approbation als Apothekerin am 28.05.2002

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. C.A. Karle

Im Herzen ist der einwärts gleichrichtende I_{K1} - Strom essentiell für die Stabilisierung des Membranpotentials in der ruhenden Kardiomyozyte. Auf molekularer Ebene entsteht der menschliche I_{K1} - Strom wahrscheinlich durch die Zusammenlagerung von Untereinheiten der Kaliumkanäle Kir2.1, Kir2.2 und Kir2.3 zu Heterotetrameren. Eine Reduktion des I_{K1} - Stromes begünstigt die Entstehung irregulärer Depolarisationen, die dann Grundlage ektooper Foci und fokaler ventrikulärer Tachykardien sein können. Klinisch äußert sich dies beispielsweise beim Langen QT- Syndrom Typ 7, das durch Mutationen im Kir2.1 Kanal hervorgerufen wird, in komplexen ventrikulären Extrasystolen bis hin zu ventrikulären Tachykardien.

Der neurohumorale Faktor Endothelin-1 besitzt intrinsische proarrhythmische Eigenschaften, die klinisch bei Erkrankungen eine Rolle spielen können, die mit einer Aktivierung des Endothelin- Systems einhergehen. Dies sind z.B. die pulmonale Hypertonie und die Herzinsuffizienz. In Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass Endothelin-1 ventrikuläre Tachykardien auslöst, die unabhängig von einer Vasokonstriktion und konsekutiver Ischämie sind. Diese Rhythmusstörungen beruhen ausschließlich auf fokalen Mechanismen. Die zugrunde liegende zelluläre und molekulare Pathophysiologie ist jedoch noch unklar.

In der hier vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Endothelin-1 eine Inhibition des I_{K1} - Stromes induziert, und die zugrunde liegenden molekularen Mechanismen konnten weitgehend aufgeklärt werden.

In nativen Kardiomyozyten, die aus menschlichen Herzhoren isoliert wurden, wurde mit der Patch- Clamp Technik eine deutliche Inhibition des I_{K1} - Stromes nach Aktivierung von Endothelin- Rezeptoren durch ET-1 beobachtet. Dieser Effekt konnte durch gleichzeitige Applikation des Proteinkinase C- Inhibitors Staurosporin unterdrückt werden, was auf eine essentielle Funktion der Proteinkinase C (PKC) innerhalb dieser Regulation hinweist.

Der inhibitorische Effekt konnte im *Xenopus* Oozyten Expressionssystem durch die Coexpression von Endothelin- Rezeptoren mit Kir2.x Kanälen reproduziert werden. Dabei konnte gezeigt werden, dass ET_A Rezeptoren nach Aktivierung durch Endothelin-1 keine Modulation von Kir2.1 Kanälen in homomerer Zusammensetzung induzieren. Sie koppeln aber funktionell an Kir2.2 und Kir2.3 Kanäle und rufen eine ausgeprägte Abnahme der Ströme durch diese Kanäle hervor.

Es konnte gezeigt werden, dass die Vermittlung der inhibitorischen Effekte auf Kir2.2 und Kir2.3 Kanäle durch Proteinkinase C- abhängige Signalwege stattfindet. Bei mutierten Kir2.2 Kanälen, denen funktionelle PKC- Phosphorylierungsstellen fehlen, war der Effekt aufgehoben. Dabei waren insbesondere die Aminosäuren Serin-64 und Threonin-353 von Bedeutung, während Threonin-38 und Serin-357 keine signifikante Rolle spielten. Die Inhibition von Kir2.3 Strömen konnte durch die PKC- Inhibitoren Staurosporin und Chelerythrin unterdrückt werden. Es konnte allerdings trotz der Verwendung von mutierten

Kir2.3 Kanälen nicht abschließend geklärt werden, ob es zu einer direkten Phosphorylierung des Kir2.3 Kanalproteins durch die PKC kommt.

Da der native I_{K1} -Strom wahrscheinlich durch die heteromere Zusammenlagerung von Kir2.1, Kir2.2 und Kir2.3 gebildet wird, wurde ebenfalls die Regulation von Heterotetrameren durch Endothelin-Rezeptoren untersucht. Die Kopplung von ET_A Rezeptoren an heteromere Kir2.1/Kir2.2 Kanäle und an Kir2.2/Kir2.3 Kanäle resultierte in einer starken Inhibition der Ströme, die vergleichbar dem Effekt bei Kir2.2 Homomeren war. Überraschenderweise waren jedoch Kir2.1/Kir2.3 Heteromere unempfindlich gegenüber der Regulation durch ET_A Rezeptoren.

Zusammenfassend konnte also gezeigt werden, dass die Inhibition des I_{K1} -Stromes durch Endothelin-1 vermutlich vor allem auf einer PKC-vermittelten Phosphorylierung von Kir2.2 Kanaluntereinheiten beruht. Kir2.1 Untereinheiten werden nicht direkt beeinflusst, sondern indirekt über die Wirkung auf Kir2.2 Untereinheiten. PKC-Effekte auf Kir2.3 Untereinheiten tragen vermutlich ebenfalls zur Inhibition bei. Dieser Regulationsmechanismus könnte irreguläre Nachdepolarisationen begünstigen und so zum intrinsischen arrhythmogenen Potential von Endothelin-1 beitragen.

Die Ergebnisse dieser Dissertation konnten neue Befunde zur Aufklärung der molekularen Grundlagen Endothelin-1 bedingter fokaler ventrikulärer Tachykardien beitragen. Die Erkenntnisse zur Proteinkinase C vermittelten Regulation des I_{K1} -Stromes durch ET_A Rezeptoren könnten als Ansatzpunkt zukünftiger Therapien gegen Herzrhythmusstörungen bei kardiovaskulären Krankheitsbildern dienen, die mit einer Aktivierung des Endothelin-Systems assoziiert sind.