

Kezhong Wu
Dr. med.

The cardiac hERG (I_{Kr}) potassium current: regulation by α_{1A} -adrenoceptors and protein kinase C

Geboren am 22.12.1976 in Anhui, China
3. Staatsexamen am 16.05.2006 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Christoph A. Karle

Das „human-ether-à-go-go-related gene“ (hERG) kodiert die α -Untereinheit eines kardialen Kaliumkanals, der die molekulare Grundlage des „delayed rectifier“-Kaliumstroms I_{Kr} darstellt. I_{Kr} ist die wichtigste Komponente der kardialen Aktionspotential-Repolarisation. Mutationen des hERG Kanals (angeborenes Langes QT-Syndrom) oder seine Blockade durch Medikamente (erworbenes Langes QT- Syndrom) führen zu Reduktion des I_{Kr} Stroms und zu einer Verlängerung der kardialen Repolarisationsdauer. Symptome dieses Krankheitsbildes können vom asymptomatischen Verlauf bis hin zum plötzlichen Herztod durch die Auslösung von „torsade de pointes“-Tachyarrhythmien (TdP) führen. Bedingt durch seine einzigartige molekulare Struktur ist der hERG-Kaliumkanal im Gegensatz zu anderen spannungsgesteuerten Kaliumkanälen besonders anfällig für Blockade durch verschiedene Medikamente.

Patienten mit Herzkrankheiten entwickeln lebensbedrohliche Kammerarrhythmien häufig bei körperlichem oder emotionalem Stress, was eine Verbindung zwischen adrenerger Stimulation und Regulation des kardialen Aktionspotentials suggeriert. Frühere Studien haben gezeigt, dass die Aktivierung des β -adrenergen Systems und nachfolgende Elevation der intrazellulären cAMP-Konzentration hERG Kanäle über Proteinkinase A-vermittelte Phosphorylierung des Kanalproteins und über direkte Interaktion mit der cAMP-Bindungsstelle von hERG regulieren. Die vorliegende Arbeit konzentriert sich auf die Modulationen des hERG-Kaliumstroms durch α -adrenerge Signaltransduktion und Proteinkinase C (PKC). Unter Verwendung des *Xenopus laevis* Oozyten-Expressionssystems und der Doppelektroden Voltage-Clamp Technik wurden funktionelle Effekte gemessen. Applikation des Phorbolesters PMA, eines unspezifischen Proteinkinaseaktivators, verschob die Spannungsabhängigkeit der hERG Aktivierung in Richtung positiverer Potenziale. Dieser Effekt konnte durch Aktivierung

konventioneller PKC-Isoformen mit Thymeleatoxin reproduziert werden. Koexpression von hERG mit den fakultativen β -Untereinheiten minK oder MiRP1 hatte keinen modulatorischen Einfluss auf den Effekt von PMA. Spezifische Inhibition von PKC hingegen verhinderte die PMA-verursachte Aktivierungsverschiebung. Dies deutet darauf hin, dass PKC in den regulatorischen Mechanismus eingebunden ist. Der PMA-abhängige Effekt war weiterhin zu beobachten nachdem die PKC-abhängigen Phosphorylierungsstellen in hERG durch Mutagenese zerstört wurden. Zytoskelettproteine wie Actinfilamente oder Microtubuli beeinflussten die hERG Aktivierungsverschiebung nicht. Zusammenfassend belegen diese Daten, dass der hERG Kanal durch PKC moduliert wird. Dieser Mechanismus ist unabhängig von direkter PKC-abhängiger Phosphorylierung des Kanalproteins.

Frühere Studien haben gezeigt, dass die hERG Kanalaktivierung durch Stimulation des β -adrenergen Systems moduliert wird. Demgegenüber war der Einfluss der α -adrenergen Signaltransduktionkaskade auf den hERG Strom bisher wenig untersucht. Ein Ziel der vorliegenden Arbeit war daher, die Regulation der hERG Strom durch α_{1A} -Adrenozeptoren aufzuklären. Die Regulation des hERG-Stroms durch α_{1A} -Adrenozeptoren wurde durch Koexpression von α_{1A} -Adrenozeptoren mit hERG Kanälen in *Xenopus laevis* Oozyten untersucht. Stimulation von α_{1A} -Rezeptoren durch 20 μ M Phenylephrin verursachte eine hERG-Stromreduktion durch eine Verschiebung der hERG-Aktivierungskurve um 9,6 mV in Richtung positiverer Potenziale. Simultane Anwendung des α_1 -AR Antagonisten Prazosin (20 μ M) oder spezifische Hemmung von PKC (3 μ M Ro-32-0432) oder PKA (2.5 μ M KT 5720) verhinderten die α -adrenerge Aktivierungsverschiebung. Dies deutet darauf hin, dass PKC und PKA innerhalb des regulatorischen Mechanismus erforderlich sind. Der Effekt konnte zudem beobachtet werden, nachdem die PKA- und PKC-abhängigen Phosphorylierungsstellen in hERG durch Mutagenese zerstört wurden. Zusammenfassend zeigt die vorliegende Arbeit eine PKA- und PKC-abhängige hERG Kanalmodulation durch α_{1A} -adrenerge Stimulation. Dieser Mechanismus ist unabhängig von direkter PKA- und PKC-abhängiger Phosphorylierung des Kanalproteins. Zusätzlich zu der vorbeschriebenen beta-adrenergen Modulation liefert dieser α_1 -adrenerge Mechanismus eine Verbindung zwischen Stress und ventrikulären Arrhythmien, insbesondere bei Patienten mit kardialer Grunderkrankung.