

Özgür Aydın
Dr. med.

Einfluss G-Protein abhängiger Signalwege auf die Arrhythmogenese

Geboren am 12.01.1980 in Gelsenkirchen
Staatsexamen am 28.05.2008 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. A. Bauer

Der plötzliche Herztod aufgrund maligner Arrhythmien ist nach wie vor die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern. Das Verständnis der Arrhythmogenese ist eine wichtige Grundvoraussetzung für die Etablierung neuer Therapiestrategien. Bisher wurde dem proarrhythmischen Potential der G-Protein abhängigen Signalwege nur wenig Beachtung geschenkt. Die Proteinkinasen A (PKA) und C (PKC) sind am Ende des in vielen Organen vorkommenden G-Protein-gekoppelten-Signalweges angesiedelt mit direkter Kopplung an eine Vielzahl von Effektoren, wie z.B. kardialen Ionenkanälen. Die vorliegende Arbeit befasst sich mit der Untersuchung des Einflusses dieser PKA- und PKC- abhängigen Signalwege auf die kardiale Elektrophysiologie.

Die Effekte der PKC-Stimulation auf die kardiale Elektrophysiologie sind bisher wenig untersucht worden. Die meisten Erkenntnisse stammen von in-vitro-Studien mit zum Teil diskrepanten Ergebnissen. Ziel der vorliegenden Arbeit war, die Effekte der PKC-Stimulation auf die kardiale Elektrophysiologie in Langendorff-perfundierten Herzen zu untersuchen. Hierzu wurden Herzen von 27 Neuseelandkaninchen ex vivo mit unterschiedlichen Substanzen perfundiert und elektrophysiologische Parameter erhoben. In den Untersuchungen zeigte sich eine ausgeprägte Verkürzung der Repolarisation (Monophasische Aktionspotential-Dauer) während der Perfusion von Phorbol-12-Myristat-13-Acetat (PMA), einem selektiven Aktivator der PKC. Durch programmierte Stimulation des linken Ventrikels konnte ferner selbstlimitierendes Kammerflimmern induziert werden. Diese potentiell proarrhythmischen Effekte der PKC-Aktivierung sind dabei am ehesten auf eine Verkürzung der Repolarisationsdauer und eine Überladung der Myozyten mit Calcium zurückzuführen, denn nach zusätzlicher Gabe von Verapamil (Calciumkanal-Blocker) oder des spezifischen PKC-Blockers Bisindolylmaleimide gelang eine vollständige Antagonisierung der Verkürzung der Repolarisationsdauer. Nach Perfusion dieser Substanzen ließ sich ferner auch Kammerflimmern nicht mehr induzieren. Mechanistisch beruht die Induktion von Kammerflimmern vermutlich auf in die vulnerable Phase einfallende Extraschläge des Ventrikels, unterstützt durch eine intrazelluläre Ca^{2+} -Überladung. Nach Gabe des L-Typ- Ca^{2+} -Kanal-Blockers Verapamil waren diese Effekte daher folgerichtig nicht mehr nachweisbar. Die vorliegende Arbeit zeigt, dass eine gezielte Beeinflussung intrazellulärer Kinasen und die Inhibierung ventrikulärer Arrhythmien potentiell möglich ist. Vor Anwendung spezifischer Substanzen im Humanbereich muss jedoch erst noch das Nebenwirkungsprofil einer eingehenderen Prüfung unterzogen werden.

Im zweiten Teil der vorliegenden Arbeit untersuchten wir komplexe Regulationsmechanismen des PKA abhängigen Signalweges in AV-Knoten herzinsuffizienter Schweine. Bisher wenig untersucht sind die Mechanismen, die der atrioventrikulären Überleitungsstörungen in der Herzinsuffizienz unterliegen. Ziel des zweiten Teils der vorliegenden Arbeit war es daher, die Mechanismen atrioventrikulärer Leitungsstörungen in einem Vorhofflimmer-/Herzinsuffizienz-Modell bei Schweinen zu untersuchen. Bei diesem Modell kann durch

Burst-Stimulation des rechten Vorhofs innerhalb von 5 Tagen persistierendes Vorhofflimmern induziert werden. Während Vorhofflimmern erreichten die Ventrikelfrequenzen der Tiere Werte von bis zu 300/min, wodurch drei Wochen nach Beginn der Burst-Stimulation eine progrediente Herzinsuffizienz induziert wird, verbunden mit einer signifikanten Verzögerung der AV-Überleitung. Im Studienprotokoll der vorliegenden Arbeit wurden 15 Hausschweine in drei verschiedene Gruppen randomisiert. Fünf Schweine dienten als Kontrollgruppe (Schrittmacher zwar implantiert, aber inaktiv). Weitere 10 Schweine wurden der Burst-Stimulation des rechten Vorhofs unterzogen. Hiervon wurden fünf Schweine (Gruppe-1) 10 Tage und weitere 5 Schweine (Gruppe-2) 19 Tage nach Beginn des Stimulationsprotokolls getötet. Die Leitung im AV-Knoten und angrenzender Strukturen wird beeinflusst durch ein komplexes Zusammenspiel verschiedener Ionenkanäle und gap junctions. Durch Abnahme der Expression von L-Typ-Calcium-Kanälen und der Connexine ist eine Verzögerung der AV-Knotenleitung zu erwarten. Auf zellulärer Ebene lassen sich im Vorhofflimmer-/Herzinsuffizienz-Modell Expressionsänderungen sowohl von Mitgliedern des G-Proteingekoppelten-PKA-abhängigen Signalweges, wie auch von Ionenkanälen und Untereinheiten von gap junctions (Connexine) nachweisen. Dabei kommt es zu komplexen Gegenregulationen der einzelnen Proteine. Interessanterweise findet sich eine Abnahme der Expression des L-Typ-Ca²⁺-Kanals und der vorgeschalteten Adenylylzyklase in späteren Stadien der Herzinsuffizienz, die eine AV-Leitungsverzögerung erklären würden. Diese Effekte werden durch eine Zunahme des antagonistischen Gi_α (inhibierendes G-Protein, das an den Adenosin-/Acetylcholin-Rezeptor gekoppelt ist) weiter verstärkt und durch eine Zunahme der Gs_α-Expression (stimulatorischer Ast der G-Proteine mit nachgeschalteter Adenylylzyklase und PKA) wiederum teilweise antagonisiert. Die Mechanismen des AV-Knoten-Remodelings treten interessanterweise erst nach einer gewissen Latenzzeit auf:

Initial haben die zu beobachtenden Expressionsänderungen eher einen stabilisierenden Charakter auf die AV-Knotenleitung. Später jedoch führt die Summe der Effekte der Expressionsänderungen zu einer Verzögerung der AV-Knotenleitung. In den vorliegenden Untersuchungen konnte erstmalig auch eine Änderung der Expression von Connexinen in AV-Knoten herzinsuffizienter Schweine gezeigt werden, die ebenfalls ursächlich sein können für die Störung der AV-Knotenleitung. Zu Beginn der Tachykardiomyopathie zeigt sich noch eine Zunahme der Expression von Connexin 40 und 43 im AV-Knoten, gefolgt von einer signifikanten Abnahme während späterer Stadien der Herzinsuffizienz. Da auch der L-Typ-Ca²⁺-Kanal während späterer Stadien herunterreguliert wird, kann auch eine multifaktorielle Genese der beobachteten Störungen der AV-Knoten-Leitung nicht ausgeschlossen werden:

Stellt man die Veränderungen auf Proteinebene den Zeitabschnitten gegenüber, dann lassen sich diese Ergebnisse dahingehend interpretieren, dass während sehr früher Stadien der Herzinsuffizienz die atrioventrikuläre Impulsfortleitung stabilisiert wird, um eine Verschlechterung der Inotropie zu kompensieren, während in späteren Stadien eine Gegenregulation einsetzt, die den insuffizienten Ventrikel vor einer zu hohen Ventrikelfrequenz schützen soll. Diese auch als Gegenregulation bezeichneten Vorgänge sind ein bekanntes Phänomen in der Herzinsuffizienz mit dem Ziel der Vermeidung einer Dysbalance antagonistischer Signalwege. Durch die Aufklärung dieser Mechanismen gelingt möglicherweise die Schaffung von Grundlagen für die Entwicklung neuer medikamentöser oder gentechnischer Therapien mit dem Ziel der Vermeidung intrakardialer Leitungsstörungen in der Herzinsuffizienz.