Claudius Illg
Dr. med.

Pharmakologische Regulation des humanen Zwei-Porendomänen Kaliumkanals K_{2P}17.1 (TALK-2); Klonierung und Charakterisierung des Zebrafischorthologs zK_{2P}17.1

Fach/Einrichtung: Innere Medizin
Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dierk Thomas

Der Zwei-Porendomänen Kaliumkanal K_{2P}17.1 ist in exzitablen Zellen des Menschen an Hintergrundleckströmen beteiligt. Im Myokard trägt der Ionenkanal wesentlich zur Stabilisation des Ruhemembranpotentials und zur Repolarisation des Aktionspotentials bei. Die Modulation der Ionenströme der K_{2P}-Kanäle bildet, nicht zuletzt aufgrund ihrer multiplen Steuerungsmechanismen, eine wichtige Stellschraube zur Regulation zellulärer Erregbarkeit. Einzelnukleotid-Polymorphismen von *KCNK17* sind assoziiert mit ischämischen Schlaganfällen und Hirnblutungen. Eine „Gain-of-Function"-Mutation von K_{2P}17.1 konnte im Zusammenhang mit einer schweren kardialen Leitungsstörung als proarrhythmogener Faktor identifiziert werden. Neben K_{2P}2.1 und K_{2P}3.1 zählt K_{2P}17.1 zu den am stärksten im Herzen exprimierten K_{2P}-Kanälen. Dabei ist die vorwiegende Expression im Vorhof besonders im Hinblick auf die Entwicklung nebenwirkungsarmer atrialer Antiarrhythmika interessant, da deren Einsatz bislang oft durch proarrhtyhmogene Effekte limitiert wird. Der Nachweis der Expression im Vorhof gelang mittels Western-Blot. Die Studie der biophysikalischen Eigenschaften und der pharmakologischen Regulation von K_{2P}17.1 soll Grundlage zur Entwicklung spezifischer selektiver antiarrhythmischer Medikamente bilden. Aufgrund der Beteiligung an elektrischem Remodeling im Rahmen kardialer Pathologien könnte die Aktivierung oder Inhibition der Ionenkanalströme von K_{2P}17.1 einen wichtigen therapeutischen Ansatz darstellen.
In dieser Arbeit konnten klinisch verwendete antiarrhythmische Substanzen mit aktivatorischen und inhibitorischen Effekten auf K_{2P}17.1 mittels Voltage-Clamp an *Xenopus laevis* Oozyten identifiziert werden. Eine signifikante Inhibition der Ströme wurde durch Amiodaron, Carvedilol, Sotalol, Ranolazin, Verapamil erreicht. Eine signifikante Aktivierung zeigten dagegen Chinidin, Diltiazem, Metoprolol, Mexiletin,

Propafenon und Propranolol. Aufgrund der starken Aktivierung durch das Klasse I Antiarrhythmikum Propafenon wurde dieser Effekt detailliert auch an Säugetierzellen im Patch-Clamp-Experiment studiert. Eine dosisabhängige Wirkung zeigte Propafenon auf $hK_{2P}17.1$ an *Xenopus* Oozyten und an *CHO*-Zellen. Es konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass Ajmalin, und Amitriptylin keinen signifikanten Effekt erzeugten.
Der Zebrafisch stellt einen in der Kardiologie häufig verwendeten Modellorganismus dar. Für die Durchführung umfassender, zukünftiger In-vivo-Studien an $K_{2P}17.1$ wurde das Kanalortholog $zK_{2P}17.1$ des Zebrafischs kloniert und detailliert charakterisiert. Der klonierte Ionenkanal konnte durch die spezifischen elektrophysiologischen und biochemischen Eigenschaften eindeutig als Zwei-Porendomänen Kaliumkanal identifiziert werden. Große Homologien im Bereich von Porendomänen und Transmembrandomänen von $hK_{2P}17.1$ und $zK_{2P}17.1$ weisen den Zebrafisch als vielversprechenden Modellorganismus aus. Als wichtige Unterschiede, die bei der Übertragung von Forschungsergebnissen von $zK_{2P}17.1$ auf den humanen Organismus zu beachten sind, konnten in erster Linie die aus einer Mutation der Aminosäure K242 resultierende fehlende pH-Wert-abhängige Regulation und die differierende pharmakologische Regulation des Zebrafischortholog gezeigt werden. Die Expression von $zK_{2P}17.1$ wurde mittels RT-PCR untersucht. Dabei zeigte sich eine Expression des Ionenkanals im Gehirn, nicht jedoch im Herzen des Zebrafischs. Die festgestellten Gemeinsamkeiten zwischen $hK_{2P}17.1$ und $zK_{2P}17.1$ sprechen, unter Beachtung der Divergenzen, für die Verwendbarkeit des klonierten Zebrafischortholog für weitere wissenschaftliche Studien insbesondere im Rahmen neurologischer elektrophysiologischer Untersuchungen.

Die Resultate dieser Arbeit konnten das Wissen über den humanen Zwei-Porendomänen Kaliumkanal $hK_{2P}17.1$ und das Zebrafischortholog $zK_{2P}17.1$ ausbauen sowie die kardiologische Relevanz pointieren und stellen eine wichtige Ausgangsbasis für zukünftige Forschungen dar. Die grundsätzliche Eignung des Zebrafischortholog $zK_{2P}17.1$ als Modell zur Studie des $K_{2P}17.1$-Ionenkanals konnte evaluiert werden. Die Limitationen des Modells wurden herausgearbeitet und bewertet. Zur Entwicklung zukünftiger vorhofselektiver Antiarrhythmika können die Erkenntnisse der pharmakologischen Regulation von $K_{2P}17.1$ von großer Bedeutung sein. Vor einer möglichen klinischen Anwendung müssen weitere In-vivo- und klinische Studien erfolgen.