

Dominik Gramlich
Dr. med.

Rolle der Calcium-aktivierten Kaliumkanäle SK1-3 in der Pathophysiologie des Vorhofflimmerns

Fach: Innere Medizin
Doktorvater: Prof. Dr. med. Dierk Thomas

Die *small conductance Calcium-activated potassium channels* SK1-3 gehören zur Gruppe der Calcium-aktivierten Kaliumkanäle und zeichnen sich durch eine hohe Calciumabhängigkeit, die durch Calmodulin als β -Untereinheit vermittelt wird, und durch ihre kleine Leitfähigkeit aus. Die Kanäle sind im Bereich der Neurowissenschaften gut charakterisiert und spielen hier eine zentrale Rolle bei der Gedächtnisbildung und der Vermittlung der Nachhyperpolarisation der Neuronen, die die Refraktärphase beeinflusst.

In den letzten Jahren ergaben sich zunehmende Hinweise, dass die SK-Kanäle auch eine Rolle an der Regulation des kardialen Aktionspotentials und der Regulation des intrazellulären Calciums spielen. Insbesondere im Rahmen des Vorhofflimmerns als eine der häufigsten Rhythmusstörungen des Menschen und als eine der häufigsten Ursachen für den ischämischen Schlaganfall, scheint eine Rolle für die SK-Kanäle gefunden zu sein. So konnte in verschiedenen Modelltieren ein *remodeling* der Kanäle und eine mögliche Rolle der Kanäle als pharmakologisches Zielmolekül nachgewiesen werden.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war es die Rolle der SK-Kanäle in der Pathophysiologie des Vorhofflimmerns weiter zu evaluieren und Regulationsmechanismen aufzudecken. Dazu sollte das *remodeling* der Kanäle in humanen Vorhofohr-Proben von Patienten mit und ohne Vorhofflimmern, in einem etablierten porcinen Vorhofflimmer-Modell und im Zellkultur-Modell nachvollzogen und untersucht werden.

Es konnte gezeigt werden, dass sich bei Patienten mit Vorhofflimmern und terminaler Herzinsuffizienz eine verminderte Expression von *KCNN1* und *KCNN3* auf mRNA-Level zeigt. Dieses *remodeling* lässt sich einem porcinen *rapid atrial pacing* Modell mit Tachymyopathie für *pKCNN2* und *pKCNN3* bestätigen. Aufgrund des unterschiedlichen Musters des SK-Kanal *remodelings* wurde daraufhin die Hypothese aufgestellt, dass es sich um ein Stressorspezifisches *remodeling* handeln könnte.

Zur weiteren Untersuchung dieser Hypothese erfolgten Zellkultur-Experimente in immortalisierten murinen Kardiomyozyten, den HL-1 Zellen. Hier konnte durch das *tachypacing* als Korrelat des *rapid atrial pacings* im porcinen Modell ebenfalls eine signifikante Reduktion von *Kcnn2* und *Kcnn3* auf Protein- und mRNA-Level nachgewiesen werden. Auch eine artifizielle Calcium-Überladung der Kulturzellen konnte eine verminderte Expression von *Kcnn2* und *Kcnn3* zeigen. Andere pathophysiologische Einflussgrößen wie eine Überdehnung der Zellen und eine β -adrenerge, pharmakologische Dauerstimulation erbrachten vor

allem den Nachweis einer reduzierten Expression von *Kcnn1*.

Daraus kann die Schlussfolgerung gezogen werden, dass die SK-Kanäle durch eine Reihe verschiedener Stressoren Subtypen-spezifisch reguliert werden. Somit lassen sich die unterschiedlichen Expressionsmuster im humanen Gewebe und im Tiermodell eventuell durch verschiedene, führende Stressoren erklären. Während im *rapid atrial pacing* Modell des Schweines vor allem die hohen Herzfrequenzen, das am Besten durch *tachypacing* modelliert wird, führend ist, spielen bei den humanen Proben verschiedene Pathomechanismen inklusive eines überdehnten Vorhofs und einer sympathischen Überstimulation eine Rolle.

Um die Regulation weiterführend zu untersuchen wurden drei für das Vorhofflimmern und für strukturelle Herzerkrankungen wichtige Signalwege gewählt: die Calcium-Calmodulin Kinase II, die Proteinkinase A und der Calcineurin-Signalweg. Durch die Inhibition von Calcineurin über Ciclosporin A konnte in Ruhe eine Reduktion von *Kcnn1* und *Kcnn3* nachgewiesen werden, während unter Stimulation der HL-1 Zellen durch *tachypacing* bei gleichzeitiger Inkubation mit Ciclosporin A vor allem ein *remodeling* von *Kcnn2* verhindert werden konnte.

Durch eine Blockade der CaMKII über KN-93 zeigte sich hingegen nach 24 stündiger Inkubationszeit vor allem eine signifikante Reduktion von *Kcnn3*. Durch eine gleichzeitige Inkubation mit KN-93 und 24 stündiges *tachypacing* zeigten sich synergistische Effekte auf die Reduktion von *Kcnn3*, die sich auch durch einen spezifischen siRNA-*knock down* bestätigen ließen. Hierbei war vor allem eine differentielle Regulation der einzelnen Kanalsubtypen durch die unterschiedlichen CaMKII-Subtypen ersichtlich.

Eine Blockade der PKA über den spezifischen Inhibitor H-89 erbrachte in Ruhe keine Hinweise auf ein *remodeling* der SK-Kanäle. Durch ein gleichzeitiges *tachypacing* konnte jedoch das *remodeling* von *Kcnn2* und *Kcnn3* verhindert werden. Das wiederum steht im Widerspruch zu den Ergebnissen aus den Experimenten mit einer erhöhten β -adrenergen Stimulation. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass der verwendete Inhibitor H-89 in der verwendeten Konzentration, die zur vollständigen Hemmung der PKA notwendig war, auch andere Kinasen wie die Rho *coiled-coil* Kinase II inhibieren kann.

Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertation konnten damit weitere Hinweise auf die Rolle der SK-Kanäle beim Vorhofflimmern erbringen. Insbesondere zelluläre Regulationsmechanismen der Kanalexpression, sowie Hinweise auf eine Subtypen-spezifische Regulation durch unterschiedliche Stressoren konnten gewonnen werden. Zukünftige Arbeiten zur genauen Evaluation der Kanäle, sowie ihrer funktionellen Regulation sind allerdings notwendig.