

Mara Elena Müller

Dr. med

## **Der kardiale $K_{v4.3}$ Kaliumkanal - Charakterisierung der neuen humanen Long-QT-Syndrom-Mutation $K_{v4.3}$ -S490C und der pharmakologischen Effekte von Lidocain und Mexiletin**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Herr Prof. Dr. med. Dierk Thomas

Im Rahmen dieser Dissertation wurde untersucht, ob die neu gefundene  $K_{v4.3}$ -Mutation,  $K_{v4.3}$ -L-S490C, einer jungen Patientin mit überlebtem plötzlichen Herztod, die Ursache für ihr klinisch diagnostiziertes Long-QT-Syndrom darstellt. Der mutierte Kanal wurde im Vergleich zum Wildtyp in Bezug auf seine Eigenschaften, die Kinetik und Regulationsmechanismen betreffend, sowie dessen Verhalten auf pharmakologische Intervention untersucht. Es fand sich eine signifikant verminderte Stromstärke des mutierten  $K_{v4.3}$ -Kanals im Vergleich zum Wildtyp-Kanal, die sich sowohl mit einer veränderten Kinetik dessen als auch mit einem modifizierten Trafficking-Mechanismus erklären lässt. Der mutierte  $K_{v4.3}$ -L-S490C-Kanal zeigt im Vergleich eine beschleunigte und verfrühte Inaktivierung sowie eine verlangsamte und verzögerte Reaktivierung nach Inaktivierung. Weiterführend ließ sich ein verminderter Einbau des mutierten Membranproteins, bei gleichzeitiger nicht verminderter Gesamtproteinmenge zwischen mutiertem- und Wildtyp-Kanal zeigen. Eine strukturelle Veränderung durch den Tausch von einem Serin zu einem Cystein und der damit miteinhergehenden Möglichkeit einer zusätzlichen Disulfidbrücke, wurde per in-silico Modellierung und durch elektrophysiologische Versuche überprüft, ergab jedoch keine definitiven Ergebnisse. Ebenso ließ sich kein Einfluss der Mutation auf die Phosphorylierung durch Proteinkinase A oder C des  $K_{v4.3}$ -Kanals zeigen.

Die erhobenen Ergebnisse, verbunden mit dem Kontext der aktuellen Forschung, liefern so eine mögliche Erklärung für die Symptomatik der Indexpatientin. Die verminderte Stromstärke des mutierten  $K_{v4.3}$ -L-S490C-Kanals und der somit verminderte, durch  $K_{v4.3}$  generierte Strom  $I_{to}$ , führt im Modell zu einer verminderten Repolarisation in Phase 1 des kardialen Aktionspotentials, wodurch es zu einem erhöhten Plateaupotential kommt, welches wiederum eine verlängerte Gesamtrepolarisation und somit eine verlängerte Aktionspotentialdauer und daher QT-Zeit begünstigt. Aufgrund der klinischen Symptomatik eines Long-QT-Syndroms der Patientin und den gefundenen signifikanten Veränderungen des

mutierten Kanals, welche die elektrophysiologischen Eigenschaften und womöglich auch die Regulationsmechanismen des Kanals betreffen, ist die neu entdeckte Punktmutation aus meiner Sicht als Ursache für die kardiale Erkrankung der jungen Patientin anzusehen. Weiterführende Untersuchungen sind jedoch notwendig um diese Annahme, einer neuen Unterform des Long-QT-Syndroms endgültig zu bestätigen.

Als Zweitprojekt dieser Dissertation wurde die isoform- und geschlechtsabhängige Regulation des Kaliumstroms  $I_{to}$  in der Pathophysiologie der Herzinsuffizienz und der Einfluss von antiarrhythmischer Pharmakotherapie auf die  $K_{v4.3}$ -Isoformen  $K_{v4.3-L}$  und  $K_{v4.3-S}$  näher untersucht.

Eine isoformabhängige Regulation der  $K_{v4.3}$ -Spleißvarianten unter einer Herzinsuffizienz-Erkrankung ist bereits bekannt. Um die bekannten Ergebnisse zu validieren und zu erweitern wurde eine erhöhte Fallzahl von humanen Ventrikelpfeifen von an Herzinsuffizienz leidenden Patienten auf einen unterschiedlichen Remodeling-Prozess der  $K_{v4.3}/KCND3$ -Transkripte auf mRNA-Ebene untersucht. Zudem wurden geschlechtsabhängige Remodeling-Prozesse näher analysiert. Hierbei ergaben sich ähnliche Transkriptionslevel beider  $KCND3$  Spleißvarianten sowohl unter der Kohorte der an dilatativer Kardiomyopathie Erkrankten als auch unter der Kohorte der an ischämischer Kardiomyopathie Erkrankten. Aufgrund der bekannten Vordaten lässt dies auf eine von der Ätiologie unabhängige Erhöhung der  $K_{v4.3-L}$  Expression und eine ebenso unabhängige Verminderung der  $K_{v4.3-S}$  Expression schließen. Es zeigte sich zudem, dass es im Rahmen einer Herzinsuffizienz-Erkrankungen zu einer zahlenmäßigen Erniedrigung der langen  $K_{v4.3}$ -Spleißvarianten,  $KCND3$  Variante 1, bei Frauen im Vergleich zu Männern kommt.

Der Einfluss antiarrhythmischer Pharmakotherapie auf  $K_{v4.3}$  wurde bereits vielfach, jedoch noch nicht vollständig untersucht. Eine ausgiebige Literaturrecherche hat ergeben, dass die Untersuchung der im Einsatz gegen ventrikuläre Arrhythmien und insbesondere in der Therapie des LQTS angewendeten Klasse Ib-Antiarrhythmika Lidocain und Mexiletin auf  $K_{v4.3}$  noch nicht erfolgt ist. Bei den elektrophysiologischen Untersuchungen hat sich gezeigt, dass beide Pharmaka, über einen Einfluss auf die Inaktivierungskinetik der Kanäle, eine Abnahme der Stromstärke beider  $K_{v4.3}$ -Spleißvarianten verursachen. Sowohl unter Lidocain- als auch unter Mexiletin-Einwirkung zeigte sich eine stärkere Hemmung des Stromes der langen  $K_{v4.3}$ -Spleißvariante. Insbesondere der Effekt des Klasse Ib-Antiarrhythmikums Mexiletin ist von Bedeutung, da die Experimente mit einer klinisch relevanten Konzentration durchgeführt wurden.