



Ruprecht-Karls-Universität Heidelberg
Medizinische Fakultät Mannheim
Dissertations-Kurzfassung

Das Brugada Syndrom mit CACNB2-Genvariante als zelluläres Modell mit Kardiomyozyten (hiPSC-CMs), die differenziert wurden aus patientenspezifischen pluripotenten Stammzellen

Autor: Theresa Schimanski
Klinik: I Medizinische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. I. El-Battrawy

Das Brugada Syndrom (BrS) gehört zu einer Gruppe seltener angeborener Herzrhythmusstörungen. Es ist charakterisiert durch ST-Hebungen in den Vorderwandableitungen des Elektrokardiogramms V1–V3 ohne Vorliegen einer strukturellen kardialen Erkrankung. Charakteristisch ist eine erhöhte Wahrscheinlichkeit für lebensbedrohliche ventrikuläre Rhythmusstörungen, Synkopen und den plötzlichen Herztod. Die Erstdiagnose findet vorwiegend im jungen Erwachsenenalter statt, wobei Männer deutlich häufiger betroffen sind als Frauen. Der phänotypischen Ausprägung des BrS werden vor allem Mutationen im SCN5A-Gen, welches die alpha-Untereinheit des spannungsabhängigen Natriumkanals codiert, zugeschrieben. Seltener finden sich Mutationen in der alpha- (CACNA1C) und beta- (CACNB2) Untereinheit des kardialen spannungsabhängigen L-Typ Calciumkanals (LTCC), welche bisher auch weniger untersucht sind. Ein humanes zelluläres Modell, in welchem patientenspezifische humane induzierte pluripotente Stammzellen (hiPSC) zu Kardiomyozyten (hiPSC-CMs) differenziert werden, kann zum Verständnis der Erkrankung beitragen und helfen, neue Therapieansätze zu entwickeln.

Im Rahmen dieser Arbeit wurden nach Hautbiopsie eines BrS-Patienten hiPSC aus Fibroblasten hergestellt und zu Kardiomyozyten (hiPSC-CMs) differenziert. Der Patient fiel klinisch mit wiederkehrendem Kammerflimmern auf und zeigte in der genetischen Untersuchung eine Punktmutation unklarer Signifikanz im CACNB2-Gen (c.425C>T/ p.S142F). Ziel dieser Arbeit war die erstmalige Etablierung eines zellulären Modells mit anschließender phänotypischer Charakterisierung der hiPSC-CMs sowie die Testung einzelner Medikamente bezüglich ihrer pro- bzw. antiarrhythmischen Wirkung auf die hiPSC-CMs.

Als Kontrollgruppe wurden hiPSC-CMs von drei unabhängigen gesunden Personen verwendet sowie CACNB2-Geneditierte hiPSC-CMs des BrS-Patienten, deren CACNB2-Punktmutation mittels des CRISPR/ Cas9-Verfahrens (zu c.425T>C) korrigiert wurde.

Die phänotypische Charakterisierung der Zellen erfolgte molekularbiologisch und elektrophysiologisch. Molekularbiologisch zeigte sich (im Western Blot und in der q-RT-PCR) eine reduzierte Protein- und mRNA-Expression der beta-Untereinheit des LTCC (CACNB2) bei den BrS-hiPSC-CMs. Die Protein- und mRNA-Expression der alpha-Untereinheit des LTCC (CACNA1C) und der alpha-Untereinheit des kardialen spannungsabhängigen Natriumkanals (SCN5A) unterschied sich nicht bei den verschiedenen Zellreihen.

Auf elektrophysiologischer Ebene erwies sich der Calciumstrom (I_{Ca-L}) des LTCC in den hiPSC-CMs des BrS-Patienten signifikant reduziert. Ebenso zeigte sich eine Verschiebung der Inaktivierungskurve des Ionenkanals in positivere Potenziale und eine Beschleunigung der Recovery. Zudem konnten in den hiPSC-CMs des BrS-Patienten häufiger arrhythmische Ereignisse (in der Messung des spontanen Calcium-Transienten) beobachtet werden.

Bei der Mehrzahl der BrS-Patienten wird über einen wiederholt aufgetretenen plötzlichen Herztod aus Ruhephasen heraus, berichtet. In der Nachstellung einer parasymphatischen Ruhelage im Zellmodell konnte mithilfe der Gabe von Carbachol, einem muskarinergen Rezeptoragonisten, das Auftreten von Arrhythmie-ähnlichen Ereignissen in den hiPSC-CMs des BrS-Patienten deutlich häufiger als in gesunden Zellen provoziert werden. Diese Zunahme Arrhythmie-ähnlicher Ereignisse ist konsistent mit dem Auftreten von lebensgefährlichen Arrhythmien des BrS-Patienten in Ruhe.

Dahingegen zeigten die vom Patienten mit BrS stammenden hiPSC-CMs unter Stimulation mit Ajmalin, einem Natriumkanalblocker, welcher in Deutschland zur Demaskierung des BrS eingesetzt wird, keinen Anstieg der arrhythmischen Ereignisse. Zu einer Reduktion der arrhythmischen Ereignisse kam es unter

niedrig dosiertem Bisoprolol. Generell wird von Betablockern bei BrS-Patienten abgeraten. Beim ausgewählten BrS-Patienten zeigte sich klinisch jedoch unter niedrigdosierter Bisoprolol-Therapie ein deutlicher antiarrhythmischer Effekt. Das Zellmodell und der klinische Erfolg einer nicht klassischen Therapie zeigten hier kongruente Ergebnisse. Auch unter Stimulation der Zellen mit Quinidin, einem Multikanal-Blocker, welcher Off-label bei BrS-Patienten eingesetzt wird, kam es zu einer Reduktion der arrhythmischen Ereignisse.

Die Ergebnisse der CACNB2-Mutationskorrigierten hiPSC-CMs waren identisch mit von gesunden Spendern stammenden hiPSC-CMs.

Dies deutet darauf hin, dass die genannten Veränderungen in den hiPSC-CMs des BrS-Patienten auf die Genvariante im CACNB2-Gen zurückzuführen sind. Die Daten lassen zudem den Schluss zu, dass die CACNB2-Genvariante (c.425C>T/ p.S142F) zu einem Funktionsverlust des LTCC führt, der ätiologisch für diesen Typ des BrS ist. Die Ergebnisse weisen bei den Medikamenten Bisoprolol und Quinidin auf einen möglichen therapeutischen Nutzen für BrS-Patienten mit Mutation im CACNB2-Gen hin.

Das Ziel dieser Arbeit, ein zelluläres Modell des BrS mit CACNB2-Mutation zu etablieren und zu phänotypisieren, konnte erreicht werden und lädt ein, Untersuchungen bezüglich Triggerfaktoren und Medikamentenwirkung fortzusetzen.