



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

**Pathophysiologischer Einfluss einer Temperaturerhöhung auf
Kardiomyozyten aus humanen induzierten pluripotenten
Stammzellen mit Brugada-Syndrom-assoziiierter SCN5A-Mutation**

Autor: Hendrik Dinkel
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. I. El-Battrawy

Das Brugada-Syndrom (BrS) kann insbesondere bei jungen Patienten zu malignen Tachyarrhythmien und zum plötzlichen Herztod führen. Die zugrundeliegenden Mechanismen, die mit den typischen EKG-Veränderungen (Typ 1-EKG, „coved pattern“) einhergehen, sind bisher noch nicht an humanen Kardiomyozyten untersucht worden. Einige Patienten weisen eine Phänotypausprägung lediglich unter Fieberkonstellationen nach. Es wird von einer polygenetischen, autosomal-dominant vererbten Erkrankung ausgegangen, wobei das Gen SCN5A, welches für den spannungsabhängigen kardialen Natriumkanal $Na_v1.5$ kodiert, in 20-30% mutiert ist.

Anhand molekulargenetischer und elektrophysiologischer Experimente sollte eine bisher nicht untersuchte SCN5A-Genvariante, c.3148G>A/p. Ala1050Thr, hinsichtlich ihrer Pathogenität analysiert werden. Der Einfluss einer hyperthermen Inkubation sowie einer Proteinkinase A (PKA)-Modulation auf die BrS-Kardiomyozyten wurde analysiert.

Zu diesem Zweck wurden humane induzierte pluripotente Stammzelllinien (hiPSC) eines Patienten mit fieberinduziertem Typ 1-EKG-Phänotyp und zwei gesunder Spender (non-BrS) generiert und in humane Kardiomyozyten (hiPSC-CMs) differenziert. Ebenso wurde mittels des CRISPR/Cas9-Systems eine isogene Kontrolle (BrS-corr) geschaffen. Die reifen Kardiomyozyten wurden für die weiteren molekulargenetischen und elektrophysiologischen Untersuchungen, Polymerase-Kettenreaktion, Western Blot, Immunhistochemie und Patch Clamp, verwendet.

Durch die vorliegende Arbeit wurde erstmals die Pathogenität der vorliegenden SCN5A-Mutation funktionell auf zellulärer Ebene bestätigt. Bei den mutierten Herzmuskelzellen wurde im Vergleich zu den non-BrS- und BrS-corr-Zellen eine Verringerung der $Na_v1.5$ -Expression, des Natriumkanal-Spitzenstroms (I_{Na} peak), der maximalen Anstiegsgeschwindigkeit (V_{max}) und der Amplitude der Aktionspotentiale sowie eine Zunahme bradyarrhythmischer Ereignisse festgestellt. Die molekularbiologischen und elektrophysiologischen Ergebnisse legen somit eine „loss-of-function“-Mutation des $Na_v1.5$ -Kanals nahe.

Ebenfalls zum ersten Mal konnten die Einflüsse einer Hyperthermie auf die Genexpression und Elektrophysiologie humaner Kardiomyozyten mit BrS-Mutation dargestellt und analysiert werden. Eine Erhöhung der Inkubationstemperatur auf 40 °C (Fiebersimulation) verstärkte die beschriebenen elektrophysiologischen Veränderungen in den BrS-Zellen. Die Fiebereffekte wurden durch einen PKA-Inhibitor verstärkt und durch einen PKA-Aktivator (teil-)kompensiert. Diese Effekte konnten ebenfalls bei physiologischer Temperatur beobachtet werden.

Zusammengefasst zeigte die Studie, dass die SCN5A-Variante c.3148G>A/p. Ala1050Thr einen Funktionsverlust der Natriumkanäle $Na_v1.5$ verursacht und die Empfindlichkeit der Kanäle gegenüber hohen Temperaturen in hiPSC-CMs erhöht. Die Ergebnisse legen nahe, dass Hyperthermie den BrS-Phänotyp über eine Hemmung des PKA-Signalwegs bei Patienten verschlimmern kann. Diese neuen und richtungsweisenden Einblicke in die Pathogenese des BrS bilden einen Anhaltspunkt für weitere Grundlagenforschung und tierexperimentelle oder klinische Forschungsansätze. In der Zukunft könnten hierdurch pharmakologische Interventionen an möglichen molekularen Zielstrukturen beim BrS etabliert werden.