

Francesca Semino
Dr. med.

Clinical and electrophysiological characterisation of a new combined *SCN5A* and *GPD1L* variant in a family affected by Brugada Syndrome

Fach/Einrichtung: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Draguhn

Brugada-Syndrom ist ein seltenes erbliches Arrhythmie-Syndrom, das durch typische EKG-Veränderungen gekennzeichnet ist und für 20 % der plötzlichen Herztode bei Patienten mit strukturell normalen Herzen verantwortlich gemacht wird. Die einzigen nachgewiesenen genetischen Ursachen der Erkrankung sind Funktionsverlustvarianten im *SCN5A*-Gen, das für den vorherrschenden spannungsabhängigen Natriumkanal Nav1.5 der Kardiomyozyten kodiert. Dieser ist für den schnellen Natriumeinstrom in der frühen Phase des myokardialen Aktionspotentials verantwortlich. Etwa 40 andere Gene, die an der kardialen Elektrophysiologie beteiligt sind, wurden mit dem Brugada-Syndrom assoziiert, obwohl für keines dieser die Kausalität von Varianten nachgewiesen wurde. Eines dieser Gene ist *GPD1L*, das für das Glycerin-3-Phosphat-Dehydrogenase-1-ähnliche Protein kodiert. Obwohl seine Funktion nicht vollständig geklärt ist, scheint das Protein mit Natriumkanälen zu interagieren und somit an der Pathophysiologie von kardialen Arrhythmien beteiligt zu sein. Derzeit sind die zugrunde liegenden Pathomechanismen des Brugada-Syndroms noch nicht vollständig verstanden und bis heute ist keine kausale Therapie verfügbar. Weiterhin ist wenig bekannt, warum manche Personen nur leicht betroffen oder sogar asymptomatisch sind und andere ein stark arrhythmisches Krankheitsbild aufweisen. Weitere Genotyp-Phänotyp Studien sind deswegen notwendig. In dieser Studie wurde eine deutsche Familie, mit unterschiedlich schwer an Brugada-Syndrom erkrankten Individuen, untersucht und die zugrundeliegenden Pathomechanismen mittels genetischer Sequenzierung, Patch-Clamp Aufzeichnungen und immunhistochemischer Analyse erforscht.

Bei den Familienmitgliedern wurden zwei bisher nicht charakterisierte Varianten in den *SCN5A* und *GPD1L* Genen identifiziert. Vater und Sohn, die nur die heterozygote *SCN5A*-G1661R Variante präsentieren, zeigen einen asymptomatischen Brugada-Syndrom Phänotyp, während die Mutter, die heterozygot die Variante *GPD1L*-A306del trägt, keinen Phänotyp aufweist. Die Indexpatientin trägt jedoch beide Varianten, und ist von einem stark arrhythmischen Verlauf des Brugada-Syndroms mit zusätzlichen Anzeichen einer kardialen Reizleitungsstörung betroffen.

Um die durch die *SCN5A*-G1661R Variante verursachten funktionellen Defizite zu charakterisieren, wurden Nav1.5 Kanäle in HEK-293-Zellen exprimiert und der Natriumstrom durch Whole-cell Patch-Clamp Aufzeichnungen gemessen. Die homozygote Expression von *SCN5A*-G1661R erzeugte keinen nachweisbaren Strom. Die heterozygote Konstellation, simuliert durch Expression gleicher Mengen von Wildtyp und mutiertem Nav1.5, zeigte eine Reduktion der Stromamplitude um circa 50% ohne Änderung der biophysikalischen Parameter des Kanals, hindeutend für Haploinsuffizienz. In Bezug auf die zugrunde liegenden Pathomechanismen ergab die Immunfärbung von Nav1.5 keine unterschiedliche Lokalisierung von Wildtyp und mutierten Kanälen. Es ist deshalb möglich, dass die mutierten Nav1.5-Kanäle exprimiert und in die Membran eingefügt werden, aber nicht funktionsfähig sind.

Als nächstes wurde die Funktion des GPD1L Proteins durch die Expression von Wildtyp Nav1.5 und GPD1L in HEK-293-Zellen untersucht. Diese Zellen zeigten einen Trend zu erhöhten Natriumstromamplituden und eine Verschiebung in Richtung eines negativeren Potentials der Aktivierungs- und Inaktivierungsparameter im Vergleich zur alleinigen *SCN5A* Expression. Folglich interagiert GPD1L mit dem Natriumkanal und verändert dessen biophysikalische Eigenschaften. Schließlich wurden die funktionellen Konsequenzen der GPD1L-A306del Variante untersucht, in Zellen, die mit Wildtyp oder mutiertem *SCN5A* in Gegenwart von Wildtyp oder mutiertem *GPD1L* transfiziert wurden. Die GPD1L-A306del Variante verlagerte in elektrophysiologischen Experimenten die Aktivierung zu stärker negativen und die Inaktivierung zu stärker positiven Potentialen. Darüber hinaus zeigten Zellen, die beide Varianten exprimierten, eine verringerte Natriumstromdichte, verursacht durch die *SCN5A*-G1661R Variante, sowie nicht signifikant veränderte Eigenschaften der Natriumkanäle, verursacht durch die GPD1L-A306del Variante.

Zusammenfassend zeigt diese Studie, dass *SCN5A*-G1661R dysfunktionale Kanäle produziert und daher in der untersuchten Familie mit dem Brugada-Syndrom in Verbindung gebracht werden kann. Dementsprechend sind nur Familienmitglieder, die die *SCN5A* Variante tragen, von der Krankheit betroffen. Darüber hinaus reduzierte GPD1L-A306del allein den Natriumstrom nicht, was das Fehlen eines Brugada-Syndrom Phänotyps in der Wildtyp Nav1.5 Konstellation erklären könnte. Dennoch veränderte GPD1L-A306del die Natriumstromeigenschaften in funktionellen Experimenten und könnte somit bei Patienten, die beide Varianten tragen, die klinischen Symptome verschlimmern. Insgesamt unterstützt diese Genotyp-Phänotyp-Korrelationsstudie die Rolle von *SCN5A* Varianten mit Funktionsverlust in der Pathophysiologie des Brugada-Syndroms und eröffnet neue Perspektiven für die Rolle von GPD1L als Natriumkanal-Interaktor und klinischer Modifikator des Brugada-Syndroms.