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

Die pathogene Rolle einer genetischen Variante unklarer Signifikanz für das Short-QT-Syndrom und das Brugada-Syndrom - Untersuchung von Kardiomyozyten aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen mit anschließendem präklinischen Wirkstoffscreening

Autor: Lasse Alexander Maywald
Institut / Klinik: I. Medizinische Klinik
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. I. El-Battrawy

Das Short-QT-Syndrom und das Brugada-Syndrom sind maligne Ionenkanalerkrankungen, die mit atrialen und ventrikulären Tachykardien assoziiert sind und klinisch herzgesunde, asymptomatische Menschen jeden Alters für einen plötzlichen Herztod prädisponieren. Aufgrund der Seltenheit der Erkrankungen und der Schwierigkeit, native Kardiomyozyten zu gewinnen, fehlen für viele mit diesen beiden Erkrankungen assoziierte Genvarianten entsprechende Genotyp-Phänotyp-Studien, um Aussagen hinsichtlich der Pathogenität einzelner Varianten treffen zu können.
In dieser experimentellen Studie wurden Kardiomyozyten aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen eines Patienten mit überlebtem plötzlichem Herztod und bestätigter genetischer Variante c.1439C>T/p.S480L im CACNB2-Gen untersucht. Diese Genvariante kodiert für die Beta-2-Untereinheit des L-Typ-Kalziumkanals und ist derzeit für das Brugada-Syndrom als pathogen und das Short-QT-Syndrom als Variante unklarer Signifikanz klassifiziert. Klinisch zeigte der Patient Merkmale beider Erkrankungen: eine pathologisch verkürzte QT-Zeit sowie eine Demaskierung des typischen Brugada-Syndrom-Typ-1 Musters im EKG nach intravenöser Gabe von Ajmalin. Anschließend wurden die Auswirkungen der genetischen Variante im CACNB2-Gen auf den zellulären Phänotyp, elektrophysiologische Aspekte der Aktionspotentiale, einzelne Ionenkanalströme und auf die Wirkung verschiedener Medikamente untersucht. Als gesunde Kontrollgruppen wurden zwei Zelllinien rekrutiert. Eine wurde einem gesunden Spender entnommen, für die andere wurde der Einzelnukleotid-Polymorphismus der Patientenzelllinie mithilfe der CRISPR/Cas9-Methode durch den Wildtyp ersetzt. Als zusätzliche erkrankte Kontrollgruppe wurde die genetische Variante des Patienten mittels CRISPR/Cas9 in eine gesunde Zelllinie eingebracht.
Die Kardiomyozyten mit der genetischen Variante zeigten in den an ihnen durchgeführten Untersuchungen phänotypische Merkmale sowohl des Short-QT- als auch des Brugada-Syndroms. So zeigte sich eine verminderte Expression der durch CACNB2 kodierten Beta-2-Untereinheit des spannungsgesteuerten L-Typ-Kalziumkanals und in der Folge eine verminderte Expression des Proteins auf der Zelloberfläche. Elektrophysiologisch fiel eine signifikante Verkürzung der Aktionspotentialdauer auf, die sich auf einen Funktionsverlust der L-Typ-Kalziumkanäle und den dadurch signifikant verminderten Kalziumstrom in den Patientenzellen zurückführen ließ. Weiterhin zeigte sich eine Reduktion der maximalen Anstiegsgeschwindigkeit des Aktionspotentials sowie ein verminderter Natriumspitzenstrom. Die Patientenzellen wiesen im Vergleich zu den beiden Kontrolllinien eine erhöhte Tendenz für arrhythmieähnliche Events auf. In der Wirkstoffanalyse waren Chinidin und Amiodaron in der Lage, die Aktionspotentialdauer signifikant zu verlängern. Sotalol zeigte keinen verlängernden Effekt. Im Hinblick auf eine medikamentöse Reduktion der arrhythmieähnlichen Events zeigte sich lediglich Amiodaron als effektiv und war somit der einzige in dieser Studie getestete Wirkstoff, der sowohl eine Verlängerung der Aktionspotentialdauer als auch eine signifikante Reduktion arrhythmieähnlicher Events bewirkte. Chinidin und Sotalol blieben ohne antiarrhythmischen Effekt.
Zusammenfassend lässt sich festhalten, dass im Rahmen dieser Studie erstmalig ein Zellkulturmodell eines Short-QT-Brugada-Overlap-Syndroms mit CACNB2-Variante etabliert und auf den zellulären Phänotyp, elektrophysiologische Aspekte der Aktionspotentiale, einzelne Ionenkanalströme und auf die Wirkung verschiedener Medikamente untersucht werden konnte. Die erhobenen Daten erweitern das bisherige Verständnis der Entstehungsmechanismen dieser Erkrankungen und beweisen die pathogene

Rolle der bisher lediglich als Variante unklarer Signifikanz klassifizierten CACNB2-Variante c.1439C>T/p.S480L in der Krankheitsentstehung eines SQT-BrS-Overlap-Syndroms. Weiterhin sollte die Wirkung von Amiodaron bei Patientinnen/Patienten mit Short-QT-Syndrom und/oder Brugada-Syndrom mit CACNB2-Mutation in klinischen Studien weiter untersucht werden, während die Verwendung der in der bisherigen Leitlinie zur Prävention des plötzlichen Herztodes bei ventrikulären Arrhythmien empfohlenen Wirkstoffe Chinidin und Sotalol in Bezug auf dieses Patientenkollektiv hinterfragt werden sollte.