

## **Characterisation of SARS-CoV-2 ORF3a ion channel activity and its interaction with antiarrhythmic drugs**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktormutter: Prof. Dr. med. Constanze Schmidt

Herzrhythmusstörungen sind eine häufige und potenziell lebensbedrohliche Komplikation von COVID-19. Verschiedene pathophysiologische Mechanismen wurden mit einem erhöhten Risiko für Arrhythmien während einer Infektion mit SARS-CoV-2 in Verbindung gebracht. Frühere Studien zeigten, dass das virale Protein ORF3a einen Ionenkanal bilden kann, der für Kaliumionen durchlässig ist. Da Kaliumströme eine entscheidende Rolle in der kardialen Elektrophysiologie spielen, trägt die Expression von ORF3a in Kardiomyozyten potentiell zu der Arrhythmogenese während COVID-19 bei. Ziel dieser Arbeit war die Expression von ORF3a in SARS-CoV-2-infizierte Kardiomyozyten aus humanen induzierten pluripotenten Stammzellen zu überprüfen, sowie die Ionenkanalaktivität von ORF3a zu untersuchen und ORF3a im Hinblick auf die Interaktion mit klinisch etablierten Antiarrhythmika zu charakterisieren.

In dieser Arbeit wurde nachgewiesen, dass SARS-CoV-2-infizierte Kardiomyozyten ORF3a exprimieren, während in kardialen Fibroblasten keine ORF3a-Expression beobachtet wurde. Dies deutet auf einen kardiomyozyten-spezifischen Effekt hin. Mittels Zwei-Elektroden Spannungsklemm-Technik konnte an *X. laevis* Oozyten gezeigt werden, dass ORF3a einen Ionenkanal mit Kaliumleitfähigkeit bildet. Darüber hinaus konnte eine Blockade von ORF3a durch Antiarrhythmika der Vaughan-Williams-Klassen II und III nachgewiesen werden. Das Klasse-III-Antiarrhythmikum Dofetilid zeigte die stärkste inhibitorische Wirkung auf ORF3a, gefolgt von Amiodaron. Biophysikalische Charakteristika wie das Gleichrichtungsverhalten sowie die Strom-Spannungs-Beziehung von ORF3a werden durch diese Substanzen nicht beeinflusst. Amiodaron hemmt ORF3a in einer dosisabhängigen Weise, und der ermittelte IC<sub>50</sub>-Wert liegt im Bereich der therapeutischen Plasmakonzentration bei Patienten. Als Bindungsstellen für Amiodaron wurden die Aminosäuren D142 und K75 identifiziert, während die Aminosäuren D142 und K61 Bindungsstellen für Dofetilid darstellen.

Die Ergebnisse dieser Arbeit haben das Potenzial von ORF3a als pharmakologische Zielstruktur in der Therapie von Herzrhythmusstörungen bei COVID-19-Patienten aufgezeigt. Die potente Inhibition von ORF3a durch Klasse-III-Antiarrhythmika repräsentiert einen zuvor unbekannten Wirkmechanismus, welcher das pharmakologische Profil dieser Medikamente erweitert. Die in dieser Arbeit ermittelten mechanistischen und biophysikalischen Daten könnten einen wichtigen Beitrag zur Entwicklung von ORF3a-basierten Therapieansätzen leisten. Die klinische Relevanz und die antiarrhythmische Wirkung der ORF3a-Blockade durch Antiarrhythmika der Klasse III müssen in weiteren Studien evaluiert werden.