

Florian Sebastian Benjamin Welke  
Dr. med.

Die Regulation des kardialen Kaliumauswärtsstromes  $I_{to}$  und des Kv4.3-Kanals durch Isoenzyme der Proteinkinase C: Die zentrale Rolle der PKC alpha

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. C. Karle

Der Kv4.3-Kanal bildet im menschlichen Herzen die molekulare Grundlage des  $I_{to}$ -Stromes. Dieser transiente Kaliumauswärtsstrom ist im Aktionspotential für die frühe Repolarisation (Phase 1) nach der Depolarisation durch Natriumkanäle verantwortlich. Aufgrund seiner charakteristischen Kinetik nimmt der  $I_{to}$ -Strom Einfluss auf die Aktionspotentialdauer. Seine Rolle in der Entstehung von Arrhythmien konnte noch nicht geklärt werden.

Die Abnahme des  $I_{to}$  und des Kv4.3-Kanals in Herzhypertrophie und Herzinsuffizienz ist eine konstante Veränderung, die teilweise durch die  $\alpha$ -adrenerge Stimulation mittels PKC vermittelter Signalwege verursacht wird. Dieser Prozess kann durch eine Inhibition der PKC teilweise wieder aufgehoben werden. Mit dem Ziel neue therapeutische Ansätze für Herzinsuffizienz und Hypertrophie zu finden, wurde in dieser Arbeit die isoenzymspezifische Regulation des  $I_{to}$  und seiner molekularen Grundlage im Menschen dem Kv4.3-Kanal durch die PKC analysiert.

Hierfür wurden Kv4.3-Kanäle in *Xenopus* Oozyten heterolog exprimiert und deren Ströme mit Hilfe der Doppelelektroden „Voltage Clamp“-Technik gemessen. Dabei führte die unspezifische Stimulation der PKC mit PMA (10nm) und die  $\alpha_1$ -adrenerge Stimulation der PKC mit Phenylephrin (10 $\mu$ M) zu einer starken Reduktion des Kv4.3-Stromes. Ähnliche Effekte konnten nach Stimulation der konventionellen PKC-Isoformen mittels TMX (100nm) beobachtet werden. Diese beiden Effekte konnten durch eine selektive Inhibition der konventionellen PKC-Isoformen durch Gö6976 aufgehoben werden. Eine selektive Stimulation der neuen PKC-Isoformen durch Ingenol (100nm) veränderte dagegen den Kv4.3-Strom nicht. Die TMX induzierte Stromreduktion durch Aktivierung der PKC konnte nicht durch eine isoenzymspezifische Inhibition der PKC beta verhindert werden.

Im Kontrast dazu konnte die isoenzymspezifische Inhibition der PKC  $\alpha$  durch HBDDE die Effekte von PMA und TMX aufheben. HBDDE konnte auch die Effekte von  $\alpha_1$ -adrenerger Stimulation der PKC auf den Kv4.3-Kanal verhindern. In weiteren Experimenten mit dem spezifischen PKC $\alpha$ -Aktivator Iripallidal (1 $\mu$ M) konnte die Kv4.3-Stromreduktion durch PMA und TMX imitiert werden.

Um die Ergebnisse dieser Experimente in Nativzellen zu untermauern, wurden „Patch Clamp“-Experimente mit isolierten Rattenkardiomyozyten durchgeführt. Auch hier konnte die PMA abhängige Stromreduktion des  $I_{to}$  durch selektive Inhibition der PKC $\alpha$  aufgehoben werden.

In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass die PKC  $\alpha$  eine zentrale Rolle in der Proteinkinase C abhängigen Regulation des Kv4.3-Kanals und des nativen  $I_{to}$ -Stromes inne hat. Diese Ergebnisse tragen zum weiteren Verständnis der isoenzymspezifischen Ionenkanalregulation durch Proteinkinasen bei. Die PKC $\alpha$  sollte als neuer therapeutischer Ansatz für eine Beeinflussung der Stromreduktion des transienten Kaliumauswärtsstromes in chronischer Herzinsuffizienz in weiteren Studien evaluiert werden.