

**Aus der Klinik für Allgemeine Pädiatrie, Neonatologie und Kinderkardiologie  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Ertan Mayatepek**

# **EKG-Studien der TASK-1-defizienten Maus**

---

Analyse von EKG-Zyklus, Herzfrequenzvariabilität und Heart-  
Rate-Turbulence

**Dissertation**

**Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin**

**Der Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität  
Düsseldorf**

**vorgelegt von**

**Nora Marie Geduldig**

**2013**

Als Inauguraldissertation

gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät  
der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez. Univ.-Prof. Dr. med. Joachim Windolf  
Dekan

Referentin: Prof. Dr. med. Birgit Donner  
Koreferent: Univ.-Prof. Dr. med. Marc Merx

*Gewidmet meinen Eltern*

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

**Donner, B.C., Schullenberg, M., Geduldig, N., Huning, A., Mersmann, J., Zacharowski, K., Kovacevic, A., Decking, U., Aller, M.I. und Schmidt, K.G.**

Functional role of TASK-1 in the heart: studies in TASK-1-deficient mice show prolonged cardiac repolarization and reduced heart rate variability.

*Basic Res.Cardiol* 106(1), 75-87. 2011. Epub 2010 Oct 27.

**Petric, S., Clasen, L., van Weßel, C., Geduldig, N., Ding, Z., Schullenberg, M., Mersmann, J., Zacharowski, K., Aller, M.I., Schmidt, K.G., Donner, B.C.**

In vivo Electrophysiological Characterization of TASK-1 Deficient Mice.

*Cell Physiol Biochem.* 2012;30(3):523-37.doi:10. 1159/000341435. Epub 2012 Jul 19.

Kongressbeiträge:

**Donner, B.C., Schullenberg, M., Geduldig, N., Decking, U., Zacharowski, K., Wisden, W., Schmidt, K.G.**

Functional role of TASK-1 in the heart - studies in TASK-1 deficient mice.

*XXXXIV Annual Meeting of the Association for European Paediatric Cardiology, Innsbruck. Cardiology in the Young* 20: Suppl. 2, S20, O8-4 (Vortrag), 2010

**Donner, B.C., Schullenberg, M., Geduldig, N., Schmidt, K.G.**

Heart rate variability and heart rate turbulence in TASK-1 deficient mice.

*Vortrag auf der 42. Jahrestagung der DGPK, Weimar 2010*

<b>1 Einleitung .....</b>	<b>11</b>
1.1 Kaliumkanäle.....	11
1.1.1 Einteilung, Aufbau und Funktion der Kaliumkanäle .....	12
1.1.2 K2P-Kanäle .....	13
1.2 Charakteristika des TASK-1 Kanals.....	16
1.2.1 Expression und Funktion – bisherige Erkenntnisse .....	17
1.2.2 Untersuchungen von TASK-1 in transgenen Mäusen .....	18
1.2.3 Die Rolle von TASK-1 am Herzen .....	18
1.3 Klinische Bedeutung von Ionenkanaldefekten am Beispiel des Long-QT-Syndroms .....	20
1.4 Mausmodelle mit genetisch modifizierter Kaliumkanalexpression .....	23
1.4.1 Variable phänotypische Relevanz mutierter kardialer Ionenkanäle	24
1.5 Marker autonomer Aktivität in der Regulation der Herzfunktion.....	26
1.5.1 Die Herzfrequenzvariabilität (HRV).....	26
1.5.1.1 Physiologischer Hintergrund und klinische Relevanz .....	26
1.5.1.2 HRV-Analyseverfahren - Time Domain und Frequency Domain.	28
1.5.2 Die Herzfrequenz-turbulenz nach ventrikulärer Extrasystole (HRT)	31
1.5.2.1 Physiologischer Hintergrund und klinische Relevanz .....	31
1.5.2.2 Messmethodik der HRT .....	33
1.6 Zielsetzung der Arbeit.....	36
<b>2 Material und Methoden.....</b>	<b>38</b>
2.1 Tiere .....	38
2.1.1 Die Task-1-Knockout-Maus .....	38
2.1.2 Zucht und Genotypisierung .....	40
2.1.3 Bestimmung der Körperindices .....	40
2.2 Oberflächen-Elektrokardiographie .....	42
2.2.1 Auswertung der Elektrokardiogramme .....	42
2.2.1.1 Manuelle Auswertung der EKG-Zyklen .....	44
2.3 Telemetrische Elektrokardiographie .....	47
2.3.1 Aufbau der Messeinheit.....	47
2.3.2 Implantation der Transmitter und Aufzeichnung des 24Stunden-EKGs.....	47
2.3.3 Auswertung der 24-Stunden-EKGs .....	47
2.4 Die Berechnung der Herzratenvariabilität (HRV) .....	49
2.4.1 Aufbereitung der Daten für die Analyse .....	49
2.4.1.1 Manuelle Selektion von Fragmenten ohne Artefakte .....	49
2.4.1.2 Detektion der R-Zacken durch das HRV-Analysemodul.....	50

2.4.2	Analyse der Time domain .....	51
2.4.3	Analyse der Frequency Domain .....	52
2.5	Heart rate turbulence (HRT) nach Myokardischämie.....	54
2.5.1	Auswertung der EKGs und Detektion ventrikulärer Extrasystolen..	55
2.5.2	Berechnung der HRT .....	56
2.5.2.1	Turbulence Onset (TO) .....	57
2.5.2.2	Turbulence Slope (TS) .....	57
2.6	Statistische Analyse .....	59
2.7	Liste der verwendeten Geräte und Programme.....	59
<b>3</b>	<b>Ergebnisse .....</b>	<b>61</b>
3.1	Körperindices .....	61
3.2	Analyse der Oberflächen-EKGs .....	62
3.3	Telemetrische Elektrokardiographie und Analyse der HRV .....	65
3.3.1	Ergebnisse für die Herzfrequenz.....	65
3.3.2	Herzfrequenzvariabilität (HRV) .....	66
3.3.2.1	Time Domain .....	66
3.3.2.2	Frequency Domain .....	67
3.4	Heart Rate Turbulence nach Myokardischämie .....	69
<b>4</b>	<b>Diskussion.....</b>	<b>72</b>
4.1	Die funktionelle Rolle von TASK-1 für das Herz.....	72
4.1.1	Bedeutung von TASK-1 für das kardiale Aktionspotential.....	72
4.1.2	Verlängerte kardiale Repolarisation bei TASK-1 <sup>-/-</sup> -Mäusen (APD und QT <sub>c</sub> ) .....	73
4.1.3	TASK-1 <sup>-/-</sup> -Mäusen zeigen höhere mittlere Herzfrequenzen als ihre Wurfgeschwister .....	75
4.1.4	Veränderte Herzfrequenzvariabilität bei TASK-1 <sup>-/-</sup> -Mäusen.....	77
4.1.5	Abgeschwächter Baroreflex bei TASK-1-Defizienz ? - Indirekte Abschätzung der Baroreflexsensitivität durch Messung der HRT ...	80
4.2	Die Maus als Untersuchungsmodell .....	82
4.2.1	TASK-1 in Maus und Mensch .....	84
<b>5</b>	<b>Zusammenfassung .....</b>	<b>86</b>
<b>6</b>	<b>Literaturverzeichnis .....</b>	<b>87</b>
<b>7</b>	<b>Danksagungen .....</b>	<b>101</b>
<b>8</b>	<b>Lebenslauf .....</b>	<b>102</b>

---

## Abkürzungsverzeichnis

ANS	Autonomes Nervensystem
APD	<i>action potential duration/Aktionspotentialdauer</i>
AV	Atrioventrikulär
CPVT	Catecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie
EKG	Elektrokardiogramm, Elektrokardiographie
HF	Herzfrequenz
HF	<i>High Frequency</i>
HRT	<i>Heart Rate Turbulence/Herzfrequenz-turbulenz</i>
HRV	<i>Heart Rate Variability/Herzfrequenzvariabilität</i>
Hz	Hertz
K <sup>+</sup>	Kalium
KO	<i>knock out</i>
LF	<i>Low Frequency</i>
LQTS	<i>Long-QT-Syndrom</i>
MAP	Monophasisches Aktionspotential
MEZ	Mitteleuropäische Sommerzeit
ms	Millisekunden
NIH	<i>National Institute of Health</i>
NN	<i>normal to normal</i>
nu	<i>normalised units/ normierte Einheiten</i>
PAF	<i>platelet activating factor/ Plättchenaktivierender Faktor</i>
PCR	<i>polymerase chain reaction/ Polymerasekettenreaktion</i>
pNN50	<i>percentage of differences between adjacent NN intervals that are &gt;50 ms</i>
pNN6	<i>percentage of differences between adjacent NN intervals that are &gt;6 ms</i>
RMP	<i>resting membrane potential/ Ruhemenbranpotential</i>
RMSSD	<i>root mean square successive difference</i>
RR	Blutdruck
RRI	Intervall von R-Zacke zu R-Zacke
s	Sekunde
SD	<i>standard deviation</i>
SDNN	<i>standard deviation normal to normal</i>

---

SK	Sinusknoten
SNRT	<i>sinus node recovery time</i>
SQTS	<i>Short-QT-Syndrom</i>
TALK	<i>TWIK-related alkaline pH activated K<sup>+</sup>-channel</i>
TASK	<i>TWIK-related acid sensitive K<sup>+</sup>-channel</i>
TFP	<i>Total Frequency Power</i>
THIK	<i>Tandem pore domain halothane-inhibited K<sup>+</sup>-channel</i>
TO	<i>Turbulence Onset</i>
TREK	<i>TWIK-related K<sup>+</sup>-channel</i>
TRH	<i>Thyreotropin releasing hormone</i>
TRP	<i>transient receptor potential</i>
TS	<i>Turbulence Slope</i>
TWIK	<i>Tandem of P domains in a weak inward rectifier K<sup>+</sup>-channel</i>
VES	Ventrikuläre Extrasystole
VLF	<i>Very Low Frequency</i>
WT	Wildtyp
ZNS	Zentrales Nervensystem

---

## Abbildungsverzeichnis

<b>Abbildung 1</b> Kaliumkanäle - Molekularer Aufbau der Untereinheiten. Aus [25] .....	13
<b>Abbildung 2</b> Die Familie der Zwei-Porendomänen-Kaliumkanäle (K2P) .....	14
<b>Abbildung 3</b> Vom EKG zum Tachogramm .....	28
<b>Abbildung 4</b> Frequenzbezogene Analyse der HRV .....	30
<b>Abbildung 5</b> Physiologischer Hintergrund der HRT.....	33
<b>Abbildung 6</b> Typisches Tachogramm mit physiologischer (A) bzw. pathologischer Reaktion (B) auf eine VES. Nach Schmidt et al [116].....	34
<b>Abbildung 7</b> Strategie der homologen Rekombination von Exon 1 des TASK-1 Gens ..	39
<b>Abbildung 8</b> Tibia der Maus. ....	41
<b>Abbildung 9</b> Einstellungen im Analysemodul LabChartPro® ECGAnalysis.....	43
<b>Abbildung 10</b> Schematische Darstellung des abgeleiteten EKGs (Ableitung II nach Eindhoven).....	45
<b>Abbildung 11</b> Manuelle EKG-Auswertung - exemplarisches Analysesetting einer TASK-1 <sup>-/-</sup> -Maus in Labchart® .....	46
<b>Abbildung 12</b> Telemetrische 24-Stunden-EKGs zur Analyse von Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität bei TASK-1 <sup>+/+</sup> - und TASK <sup>-/-</sup> -Mäusen. ....	48
<b>Abbildung 13</b> Exemplarische Einstellungen zur R-Zacken-Detektion für die HRV-Analyse .....	51
<b>Abbildung 14</b> Ventrikuläre Extrasystole aus dem 6-h-EKG nach Myokardischämie einer TASK-1 <sup>-/-</sup> -Maus.....	56
<b>Abbildung 15</b> Nomenklatur der Intervalle um eine VES .....	57
<b>Abbildung 16</b> <i>Turbulence Slope</i> im lokalen Tachogramm anhand normierter RR-Intervalle.....	58
<b>Abbildung 17</b> Manuelle Analyse der Oberflächen-EKGs.....	63
<b>Abbildung 18</b> Vergleichende Analyse der Oberflächen-EKGs: Grafische Darstellung der Ergebnisse.....	64
<b>Abbildung 19</b> Herzfrequenz von TASK-1 <sup>+/+</sup> -Mäusen und TASK-1 <sup>-/-</sup> -Mäusen im 24h-EKG. ....	66
<b>Abbildung 20</b> Herzfrequenzvariabilität: Repräsentative Leistungsdichtespektren der Frequenzanalyse.....	68

---

<b>Abbildung 21</b> Herzfrequenzvariabilität bei TASK <sup>+/+</sup> -und TASK-1 <sup>-/-</sup> -Mäusen: Grafische Darstellung der Ergebnisse.....	69
<b>Abbildung 22</b> Parameter der Heart Rate Turbulence bei TASK-1 <sup>+/+</sup> - und TASK-1 <sup>-/-</sup> -Mäusen nach Myokardischämie.....	71

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1</b> Phylogenetischer Stammbaum der 15 bisher entdeckten humanen K2P-Kanäle .....	16
<b>Tabelle 2</b> Genetische Typen des LQT-Syndroms .....	23
<b>Tabelle 3</b> Auszug aus den Parametern der Zeitbereichsanalyse (Time Domain) .....	52
<b>Tabelle 4</b> Auszug aus den Parametern der Frequenzanalyse (Frequency Domain) .....	54
<b>Tabelle 5</b> Vergleich Geschlechter - Gewichtsanalytische Parameter .....	62
<b>Tabelle 6</b> Vergleich Genotypen - Gewichtsanalytische Parameter von TASK-1 <sup>+/+</sup> und TASK-1 <sup>-/-</sup> Mäusen.....	62
<b>Tabelle 7</b> Intervalle im Oberflächen-EKG. ....	64
<b>Tabelle 8</b> Ergebnisse der Herzfrequenzanalyse im 24-h-EKG von TASK-1 <sup>+/+</sup> - und TASK-1 <sup>-/-</sup> Mäusen. ....	65
<b>Tabelle 9</b> Herzfrequenzvariabilität: Ergebnisse in der Time Domain.....	67
<b>Tabelle 10</b> Vorzeitige ventrikuläre Herzaktionen nach Myokardischämie .....	70

# 1 Einleitung

## 1.1 Kaliumkanäle

Ionenkanäle sind porenbildende Proteine in der Lipiddoppelschicht der Zellmembran, die den selektiven Transport von Ionen entlang eines elektrochemischen Gradienten ermöglichen. Der damit verbundene Austausch elektrischer Ladungen ist Grundlage zellphysiologischer Vorgänge, wie der Erregungsbildung und -fortleitung in Herzmuskel- und Nervenzellen, der Muskelkontraktion oder der Freisetzung von Transmittern. Ionenkanäle können anhand ihrer ausgeprägten beziehungsweise fehlenden Selektivität für bestimmte Ionen klassifiziert werden. Man kennt unspezifische Kanäle, wie z.B. die TPR-Kanäle (*transient receptor potential channels*), die eine ähnliche Leitfähigkeit für Kalium-, Natrium- und Kalziumionen aufweisen. Daneben gibt es aber auch hochselektive Kanäle, durch die nur ein bestimmtes Ion permeieren kann. Innerhalb dieser Gruppe Ionen-selektiver Kanäle sind die Kaliumkanäle mit gegenwärtig über 100 molekular charakterisierten Kanälen am häufigsten vertreten. Sie werden in fast allen erregbaren und nicht erregbaren Zellen exprimiert und bilden somit eine nahezu ubiquitär vorkommende Familie von Membranproteinen, welche an einer Vielzahl unterschiedlicher Prozesse beteiligt sind. Die enorme Vielfalt funktionell unterschiedlicher Kaliumkanäle wird durch mehrere Faktoren ermöglicht. Es existiert zunächst eine große Anzahl von Genen, die für Proteine verschiedener Kaliumkanal-Untereinheiten kodieren. Daneben können aus einem Gen durch alternatives Splicing mehrere mRNA-Transkripte erzeugt werden. Die Möglichkeit von RNA-Editierung und posttranslationaler Modifikation, sowie auf Protein-Ebene das Zusammenfügen verschiedener Kanal-Untereinheiten zu Heteromeren, erweitern das Spektrum zusätzlich [26].

Den Kaliumkanälen kommt eine entscheidende Rolle bei der Erregungsweiterleitung in Nerven und Muskeln, aber auch bei der Kaliumhomöostase und der Regulation des Zellvolumens zu [26, 124]. In der Herzmuskelzelle sind sie neben der Regulation des Ruhemembranpotentials auch essentiell für die Steuerung der Aktionspotentialdauer sowie der Automatie der Schrittmacherzellen [107].

### 1.1.1 Einteilung, Aufbau und Funktion der Kaliumkanäle

Die bislang bekannten Kaliumkanäle lassen sich entsprechend der elektrophysiologischen Eigenschaften und der angenommenen Membrantopologie ihrer porenbildenden Untereinheiten in drei große Klassen einteilen:

1. *Spannungsabhängige (engl. voltage gated) Kaliumkanäle (Kv)*, die aus vier  $\alpha$ -Untereinheiten mit je sechs membrandurchspannenden Segmenten bestehen
2. *Einwärtsgleichrichtend, (engl. inwardly rectifying) Kaliumkanäle (Kir)*, die aus vier Untereinheiten mit je zwei Transmembrandomänen bestehen
3. *Zwei-Porendomänen (engl. two pore domain) Kaliumkanäle (K2P)*, die zuletzt entdeckte Gruppe, zu der auch der in dieser Arbeit näher untersuchte Kaliumkanal TASK-1 gehört

#### *Spannungsabhängige Kaliumkanäle (Kv)*

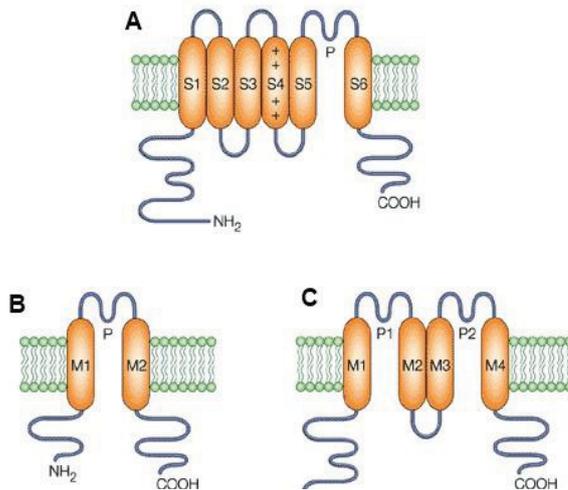
Die  $\alpha$ -Untereinheit der spannungsabhängigen Kv-Kanäle besteht aus sechs helikalen Transmembrandomänen (S1-S6) und besitzt eine Porendomäne zwischen S5 und S6. (siehe Abbildung 1A). Die S4 Domäne enthält positiv geladene Aminosäuren, insbesondere Lysin und Arginin und dient als Spannungssensor [97]. Kv-Kanäle öffnen sich durch eine Änderung des Membranpotentials zu positiveren Werten.

Funktionell sind ihre Hauptvertreter auswärts gleichrichtend und die zugehörigen Ionenströme  $I_{to}$ ,  $I_{Ks}$  und  $I_{Kr}$  tragen beim Herzaktionspotential zur Plateauphase und zur Repolarisation bei [3, 18].

#### *Einwärtsgleichrichtende Kaliumkanäle (Kir)*

Eine Untereinheit dieses Kanals besteht aus zwei Transmembrandomänen (M1 und M2) mit einer porenbildenden Schlaufe, die diese verbindet. (Abbildung 1B) Die Bezeichnung einwärtsgleichrichtend bezieht sich auf die Eigenschaft der Kanäle, bei einem Membranpotential ( $E_M$ ) niedriger als das Gleichgewichtspotential für Kalium ( $E_K$ ) eine besonders gute Leitfähigkeit in Einwärtsrichtung zu besitzen. In Auswärtsrichtung bei  $E_M > E_K$  wird der Kanal hingegen mittels intrazellulärer Kationen ( $Mg^{2+}$ , Polyamine) blockiert [92].

Der ubiquitäre Einwärtsgleichrichter Kir 2.x, mit dem dazugehörigen Strom  $I_{k1}$  ist in der Herzmuskelzelle für die Aufrechterhaltung des Ruhemembranpotentials verantwortlich. Außerdem gehört zu dieser Gruppe ein durch Acetylcholin aktivierter, rezeptorgesteuerter Kaliumkanal (Strom  $I_{kACh}$ ), über den die negativ chronotrope Wirkung des Nervus vagus vermittelt wird [103].



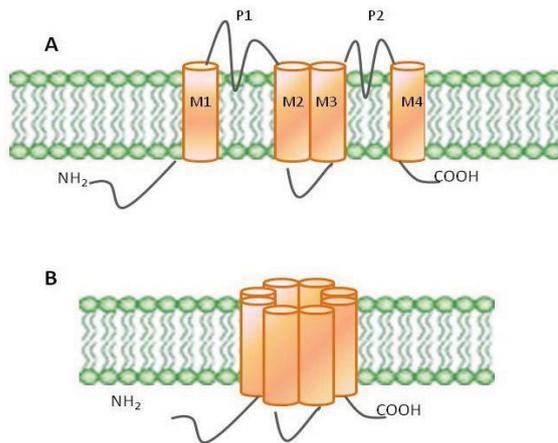
**Abbildung 1** Kaliumkanäle - Molekularer Aufbau der Untereinheiten. Aus [25]

**A** Spannungsabhängiger Kaliumkanal (Kv) mit 6 Transmembrandomänen (S1-S6) und einer porenbildenden Domäne (P) **B** Einwärtsgleichrichtender Kaliumkanal (Kir) mit 2 Transmembrandomänen (M1-M2) und einer porenbildenden Domäne (P) **C** K2P-Kanal

### 1.1.2 K2P-Kanäle

Die Familie der Zwei-Porendomänen-Kaliumkanäle (K2P) ist die zuletzt entdeckte Gruppe von Kaliumkanälen. Der Name der Kanalfamilie bezieht sich auf den strukturellen Aufbau der Kanalproteine in der Membran: Zwei porenbildende Domänen werden flankiert von vier Transmembrandomänen, die wiederum als Tandem verbunden sind. Diese in der Nomenklatur als 4TM/2P abgekürzte molekulare Konfiguration ist bislang einzigartig. Im Gegensatz zur Kv- und Kir-Gruppe, welche Tetramere ausbilden, assemblieren je zwei solcher Untereinheiten als Dimer [69] (Abbildung 2).

Funktionell vermitteln die K2P-Kanäle weitgehend zeit- und spannungsunabhängig K<sup>+</sup>-Hintergrundströme. Die Ionenpermeation folgt hierbei den Gesetzen für offenen Gleichstrom im Sinne der Goldman-Hodgkin-Katz-Gleichung, weshalb ihnen ein wichtiger Beitrag an der K<sup>+</sup>-Leckleitfähigkeit zugesprochen wird. Sie tragen somit entscheidend zur Aufrechterhaltung des Ruhemembranpotentials bei [16, 37, 41, 69].



**Abbildung 2** Die Familie der Zwei-Porendomänen-Kaliumkanäle (K2P)

**A** Membrantopologie der K2P-Kanäle mit vier Transmembrandomänen (M1-M4) und zwei porenbildenden Domänen (P1 und P2). **B** zwei solcher Untereinheiten lagern sich als Dimer zum funktionellen Kanal zusammen.

### Regulierbarkeit der K2P-Kanäle

Neuere Untersuchungen zeigen jedoch, dass es sich bei vielen Subtypen der K2P-Kanalfamilie nicht um einfache Leckkanäle mit gleichbleibender Offenwahrscheinlichkeit handelt. Die meisten K2P-Kanäle können aktiv reguliert werden. Faktoren, die zur Aktivierung bzw. Hemmung beitragen sind unter anderem intra- und extrazelluläre pH-Änderungen [37, 52, 109], mechanische Dehnung der Zellmembran [99, 138], Inhalationsanästhetika [98, 119, 122], ungesättigte Fettsäuren und inflammatorische Phospholipide [14, 70], sowie Änderung des Sauerstoffpartialdrucks [19, 137].

Bislang wurden bei Säugetieren 15 unterschiedliche K2P-Kanalproteine identifiziert, die aufgrund funktioneller Eigenschaften und Sequenzhomologien in sechs Unterfamilien eingeteilt werden [11, 69]. Es sind verschiedene Schemata zur Benennung der K2P-Kanäle gebräuchlich. Die „Human Genome Organisation (HUGO)“ verwendet für die Gene der K2P-Kanäle die Bezeichnung „KCNK“ gefolgt von einer Nummer, die die Reihenfolge der Entdeckung jedes der Gene reflektiert (siehe Tabelle 1). Die „International Union of Basic and Clinical Pharmacology (IUPHAR)“ gebraucht für die Proteinprodukte ein sehr ähnliches Schema, wobei „KCNK“ durch das Präfix „K2P“ ersetzt ist [104].

Im Gegensatz dazu basiert die in der Literatur am häufigsten gebrauchte Nomenklatur auf Akronymen, welche physiologische oder pharmakologische Eigenschaften des Kanals beschreiben und die Kanäle in sechs Untergruppen zusammenfassen:

1. **TWIK** (*t*andem of *P* domains in a *w*eak *i*nward rectifier *K*<sup>+</sup> channel)

---

Kanäle dieser Gruppe werden durch Aktivität der Proteinkinase C und Änderungen des intrazellulären pH-Wertes reguliert.

2. **TREK** (*TWIK-related  $K^+$ channel*)

Kanäle dieser Gruppe werden durch ungesättigte Fettsäuren und mechanische Dehnung aktiviert.

3. **TALK** (*TWIK-related alkaline pH activated  $K^+$ channel*)

Diese Kanalgruppe wird bei alkalischem pH-Wert aktiviert.

4. **TASK** (*TWIK-related acid sensitive  $K^+$ channel*)

Kanäle dieser Gruppe werden bereits durch eine geringe Abnahme des pH-Wertes in einem noch physiologischen Bereich gehemmt.

5. **THIK** (*Tandem pore domain halothane-inhibited  $K^+$ channel*)

Über diese Kanalgruppe ist noch wenig bekannt.

6. **TRESK** (*TWIK-related spinal cord  $K^+$ channel*)

Im kardialen Reizleitungssystem und in den übrigen Kardiomyozyten werden vor allem Mitglieder der TASK-, TREK- und TWIK-Subfamilien exprimiert [45].

Zur TASK-Familie (*TWIK-related acid sensitive  $K^+$ channel*) zählen, neben dem in dieser Arbeit untersuchten TASK-1 Kanal, auch noch die Kanäle TASK-3 und TASK-5.

Subfamilie	K2P-Kanal	Name im Humanen Genom	
TWIK	TWIK 1	KCNK 1	
	TWIK 2	KCNK 6	
	--	KCNK 7	
TREK	TREK 1	KCNK 2	
	TREK 2	KCNK 10	
	TRAAK	KCNK 4	
TALK	TALK 1	KCNK 16	
	TALK 2	KCNK 17	
	TASK 2	KCNK 5	
TASK	TASK 1	KCNK 3	
	TASK 3	KCNK 9	
	TASK 5	KCNK 15	
THIK	THIK 1	KCNK 13	
	THIK 2	KCNK 12	
TRESK	TRESK	KCNK 18	

**Tabelle 1** Phylogenetischer Stammbaum der 15 bisher entdeckten humanen K2P-Kanäle  
Modifiziert nach [39].

## 1.2 Charakteristika des TASK-1 Kanals

Zum ersten Mal beschrieben und elektrophysiologisch charakterisiert wurde TASK-1 1997 von Duprat et al [37]. An mit dem TASK-1-Gen transfektierten Zellkulturen zeigte sich, dass bei physiologischen extrazellulären  $K^+$ -Konzentrationen ein Kaliumauswärtsstrom aus der Zelle resultiert, der näherungsweise mit der Goldman-Hodgkin-Katz Gleichung beschrieben werden kann. Das bedeutet, dass sich TASK-1 wie eine  $K^+$ -selektive Pore in der Zellmembran verhält, und der Ionenstrom nur auf der asymmetrischen Verteilung von Kalium intra- und extrazellulär beruht. Diese Unabhängigkeit von Spannung und Zeit ist das klassische Kriterium für einen so genannten Leck- bzw. Hintergrundkanal.

Die Besonderheit des TASK-1 Kanals liegt jedoch in seiner Regulierbarkeit. TASK-Kanäle scheinen in der Zelle eine signalintegrierende Funktion zu übernehmen. Sie reagieren auf eine Vielzahl von physiologischen und pathologischen Einflüssen mit einer Zu- oder Abnahme der Aktivität, bei Erhaltung der spannungsunabhängigen Kinetik des Ionenstroms [37]. Im Einzelnen konnte bisher gezeigt werden, dass Hypoxie oder Verände-

---

rungen des extrazellulären pH-Wertes innerhalb physiologischer Grenzen ihre Aktivität modulieren. So führte in Zellen mit heterologer TASK-1 Expression eine Erniedrigung des pH-Werts von 7,6 auf 6,4 zu einer Hemmung des Kaliumstroms durch den TASK-1-Kanal um 90 % [37]. Experimentell wird TASK-1 nicht durch die klassischen Kaliumkanalblocker, sondern durch zweiwertige Ionen wie Zink und Barium gehemmt [68]. Außerdem kann TASK-1 durch verschiedene pharmakologische Substanzen gehemmt werden. Dazu gehören das Endocannabinoid Anandamid und sein stabiles Analogon Methanandamid [77]. Aktiviert wird TASK-1 durch klinisch gebräuchliche Konzentrationen volatiler Anästhetika wie Halothan und Isofluran [98, 119, 122]. Zelluläre Signalmoleküle spielen bei der Modulation ebenfalls eine Rolle. Phospholipase C und Proteinkinase C vermitteln eine Inhibition des Kanals, [14, 31] während die Proteinkinase A bei einer TASK-1 Aktivierung beteiligt ist [94].

### **1.2.1 Expression und Funktion – bisherige Erkenntnisse**

Der Kanal wird bei Säugetieren überwiegend im Zentralnervensystem und im kardiovaskulären System exprimiert [11]. Eine relevante Expression von TASK-1 konnte in Herzmuskelzellen [56, 75], im Glomus caroticum [140], sowie in der glatten Muskulatur von Pulmonalarterien [40, 46, 94] und Aorta [61] nachgewiesen werden. In Glomerulosazellen der Nebennierenrinde spielt TASK-1 eine Rolle für die Kaliumleitfähigkeit [30]. Auch in humanem Pankreas- und Plazentagewebe wurden eine hohe Expressionsrate des TASK-1-Gens gefunden [37].

Entsprechend den elektrophysiologischen Eigenschaften des Kanals übernimmt dieser in exprimierenden Geweben eine wichtige Rolle bei der Kontrolle des Ruhemembranpotentials der Zelle. Interessant und Gegenstand der derzeitigen Forschung ist die vielfältige Modulation des Kanals im organspezifischen Kontext und die damit verbundene funktionelle Bedeutung von TASK-1. Im Gehirn findet man besonders in den Körnerzellen des Kleinhirns, in somatischen Motoneuronen und im Locus coeruleus eine hohe Expression des TASK-1 Kanals [11]. Es konnte gezeigt werden, dass der Kaliumkanal neben seiner pH-Sensitivität auch durch Neurotransmitter wie Serotonin, Substanz P oder TRH gehemmt wird [123]. Es wird zudem angenommen, dass TASK-1 im ZNS eine wichtige Zielstruktur für die klinischen Effekte volatiler Anästhetika darstellt. Man vermutet, dass die Anästhetika unter anderem über TASK-1-Aktivierung

und der damit assoziierten verminderten Erregbarkeit der Neuronen wirken [119]. Die Bedeutung von TASK-1 im Kleinhirn konnten Aller et al an TASK-1 defizienten Mäusen demonstrieren, die eine kompromittierte motorische Leistung zeigten [85].

In Untersuchungen an glatten Muskelzellen aus humanen Pulmonalarterien konnte eine wichtige Rolle von TASK-1 bei der Regulation des pulmonalen Gefäßtonus gefunden werden. TASK-1 wird hier durch Endothelin-1 gehemmt [125] und durch das Prostacyclin-Analogon Treprostinil aktiviert. Die TASK-1 Aktivierung könnte im klinischen Kontext der pulmonalarteriellen Hypertonie somit einen zugrundeliegenden Mechanismus der therapeutischen Gefäßrelaxierung durch Prostacycline darstellen [94].

### **1.2.2 Untersuchungen von TASK-1 in transgenen Mäusen**

Die Funktion von TASK-1 in vivo am transgenen Mausmodell ist bislang primär aus neurologischer Sicht untersucht worden. Die TASK-1-defizienten Mäuse zeigten gegenüber ihren nicht manipulierten Artgenossen eingeschränkte motorische Funktionen, die sich, vereinbar mit veränderter zerebellärer Funktion, in schlechterer Balance und langsamerer Erkundung ihrer Umwelt ausdrückten [2].

Eine andere Arbeit untersuchte die Rolle von TASK-1 im chemosensorischen Regelkreis der Atmung und zeigte bei TASK-1-defizienten Mäusen eine verzögerte ventilatorische Reaktion auf Hypoxie und normoxische Hyperkapnie. Dies führte zu der Annahme, dass TASK-1 in den Chemorezeptoren des Karotissinus zur regulatorischen Antwort auf erniedrigten  $pO_2$ , beziehungsweise erhöhten  $pCO_2$  beiträgt [129]. In der Nebenniere resultiert aus dem Fehlen von TASK-1 eine Aufhebung der Zonengliederung mit gestörtem Mineralkorticoide-Haushalt. Phänotypisch führt dies bei den Tieren zu einem primären Hyperaldosteronismus [32, 50].

### **1.2.3 Die Rolle von TASK-1 am Herzen**

Kaliumhintergrundströme kommt in atrialen und ventrikulären Kardiomyozyten eine kritische Rolle zu, da sie das Ruhemembranpotential auf hyperpolarisiertem Niveau halten und unter variierenden physiologischen und pathologischen Bedingungen die Dauer des Aktionspotentials (APD = *action potential duration*) regulieren. Hauptsächlich verantwortlich für diese Funktion sind die einwärtsgerichteten Kaliumkanäle

(Kir) mit den zugehörigen Ionenströmen  $I_{K1}$ ,  $I_{KATP}$  und  $I_{KACh}$  [120]. Daneben existiert jedoch ein weiterer Kaliumhintergrundstrom,  $I_{kp}$ , der auswärts gerichtet ist und ebenfalls eine Rolle für RMP und APD spielt. K2P-Kanäle und insbesondere TASK-1 scheinen zu diesem Hintergrundstrom beizutragen.

In ventrikulären Kardiomyozyten des Meerschweinchens ist die Funktion von TASK-1 mit einem Hintergrundstrom assoziiert, der die Dauer des Aktionspotentials (APD) beeinflusst [5]. An isolierten Mäuse-Kardiomyozyten konnte gezeigt werden, dass der Entzündungsmediator PAF (*platelet activating factor*) TASK-1 via Proteinkinase C inhibiert. PAF ist ein biologisch hochaktives Phosphoglycerin, welches im Fall einer Ischämie beziehungsweise einer postischämischen Reperfusion des Herzmuskels vermehrt freigesetzt wird und Arrhythmien induzieren kann. Die Hemmung des Kanals durch PAF führte an der murinen Herzmuskelzelle zu einer Verlängerung des Aktionspotentials mit verzögerter Repolarisation und zum Auftreten von sogenannten „*early afterdepolarizations*“ [9, 14]. TASK-1 scheint somit als Zielstruktur zu den arrhythmogenen Effekten des PAF beizutragen. Zu übereinstimmenden Ergebnissen kam eine andere Forschungsgruppe, die einen spezifischen TASK-1-Kanal-Blocker (A293) entwickelte. A293 inhibiert den Ionenstrom durch TASK-1 ( $I_{TASK}$ ) an isolierten Ratten-Kardiomyozyten in gleichem Ausmaß wie eine Erniedrigung des extrazellulären pH-Werts auf 6. In der Folge resultiert eine signifikante Verlängerung des Aktionspotentials. Dieser Effekt der TASK-1 Inhibition konnte sowohl in den Kardiomyozyten als auch in TASK-1 transfektierten *Xenopus* Oozyten gezeigt werden [108].

Aus den bisherigen Untersuchungen an Herzmuskelzellen *in vitro* kann man schlussfolgern, dass TASK-1 während der Plateauphase des kardialen Aktionspotentials signifikant zum Netto-Ionen-Strom beiträgt und damit eine Rolle für die Stabilisierung dieses Plateaus sowie für die anschließende Repolarisation spielt. Die TASK-1<sup>-/-</sup>-Knockout-Maus stellt ein ideales Modell dar, um über die Zellexperimente hinaus gehende Erkenntnisse über die funktionelle Rolle von TASK-1 im lebenden Organismus zu gewinnen. Über den kardialen Phänotyp von TASK-1-Knockout-Mäusen war zum Zeitpunkt der Aufnahme der Doktorarbeit wenig bekannt.

Diese Arbeit ist Teil eines Forschungsprojektes, welches anhand des transgenen Mausmodells die Auswirkungen einer TASK-1-Defizienz auf die Herzfunktion *in vitro*

und in vivo untersucht. Die Forschungsgruppe konnte an Tieren der Kontrollgruppe zeigen, dass TASK-1 vorwiegend im Ventrikelmyokard exprimiert wird. Wichtig für die Interpretation der gefundenen Ergebnisse war auch die Erkenntnis, dass die Expression von sieben anderen Kanälen aus der K2P-Familie durch das Fehlen von TASK-1 nicht beeinflusst wird. Echokardiographisch und histologisch konnten bei den Herzen von TASK-1<sup>-/-</sup>-Tieren keine strukturellen oder funktionellen Abnormitäten nachgewiesen werden. In vergleichenden elektrophysiologischen Untersuchungen an isoliert perfundierten Herzen konnte die Arbeitsgruppe eine signifikante Verlängerung der Repolarisationsdauer in monophasischen Aktionspotentialen von TASK-1<sup>-/-</sup>-Herzen feststellen. Dieser Unterschied in der Dauer der Repolarisation zwischen den Genotypen war während des spontanen Herzrhythmus und während einer niedrigen Stimulationsrate im Bereich der physiologischen Zykluslänge am ausgeprägtesten[36]. Diese Erkenntnisse bestätigten die Annahme, dass TASK-1 zur kardialen Repolarisation beiträgt und zeigten, dass sich die früheren Erkenntnisse an isolierten Kardiomyozyten auf das Herz im Ganzen übertragen lassen.

### ***1.3 Klinische Bedeutung von Ionenkanaldefekten am Beispiel des Long-QT-Syndroms***

Es gibt eine wachsende Liste erblicher und angeborener Herzerkrankungen, für die defekte Ionenkanalproteine verantwortlich sind. Diese „Kanalopathien“ wie das Long-QT-Syndrom, Short-QT-Syndrom, Brugada-Syndrom oder die Catecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie (CPVT) gehen mit einem erhöhten Risiko für ventrikuläre Tachykardien und einen plötzlichen Herztod einher. Am Beispiel dieser monogen bedingten Herzrhythmusstörungen wird deutlich, welche Konsequenzen sich aus der Mutation eines einzelnen kardialen Kanaltyps ergeben können. Die erhöhte Vulnerabilität für die Entstehung von Kammertachykardien steht bei vielen Ionenkanaldefekten mit einer Verlängerung des Aktionspotentials und/oder einer regionalen Dispersion der Repolarisation mit unterschiedlichen Refraktärzeiten in Zusammenhang. Beim erblichen Long-QT-Syndrom mit derzeit 12 genetisch identifizierten Subtypen sind sowohl Natrium- und Kalium-, als auch Kalziumkanäle betroffen (siehe Tabelle 2). Durch

die Mutation des jeweiligen Kanals, beziehungsweise assoziierter regulatorischer Membranproteine, kommt es während der Ventrikelrepolarisation zu einer Überladung der Myozyten mit positiv geladenen Ionen, was wiederum eine verzögerte und verlängerte Repolarisation entweder im gesamten Herzmuskel oder in einzelnen Schichten des Myokards zur Folge hat. Der ursächliche „Overload“ mit positiv geladenen Ionen ist je nach genetischem Typ der Krankheit durch eine Verminderung des Kaliumausstroms (LQT1, LQT2, LQT5, LQT6, LQT7 und LQT11) oder durch eine Zunahme des Natrium- (LQT3, LQT4, LQT9, LQT10 und LQT12) bzw. Kalziumeinstroms (LQT8) bedingt [17, 143].

In den vergangenen Jahren wurden für einige der Kanalkrankheiten genetisch manipulierte Mausmodelle entwickelt um die Pathomechanismen zu verstehen und neue Therapiestrategien zu erproben.

#### *Beispiel LQT Typ 1*

Exemplarisch liegt dem Long-QT-Syndrom Typ 1 eine Mutation im KCNQ1-Gen vor, dessen zugehöriger Kaliumkanal  $K_vLQT1$  im Kardiomyozyten für die langsame Komponente des verzögerten Gleichrichter-Kaliumstroms ( $I_{K_s}$ ) verantwortlich ist. Dieser Ionenstrom trägt beim kardialen Aktionspotential vor allem zur Plateauphase und zur späten Repolarisation bei. Ist dieser Beitrag nun abgeschwächt, ist die Balance zwischen Kaliumausstrom und Kalziumeinstrom zugunsten des Kalziumeinstroms verschoben. Es kommt zu einem insgesamt verlängerten Aktionspotential mit verspäteter Repolarisation, was sich am Oberflächen-EKG in einer verlängerten QT-Zeit widerspiegelt. Das abnorm veränderte Aktionspotential mit seinem verspäteten Repolarisationsprozess triggert sogenannte frühe Nachdepolarisationen (engl. „early afterdepolarizations“), von denen man annimmt, dass sie zum Beispiel Torsades-de-pointes-Tachykardien induzieren können [141].

Klinisch teilt man die familiären Formen des LQT-Syndroms nach dem Vererbungsmodus in das autosomal dominant vererbte Romano-Ward-Syndrom (RWS) und das seltenere Jervell-und-Lange-Nielsen -Syndrom (JLNS) ein, welches rezessiv vererbt wird und mit Innenohrschwerhörigkeit assoziiert ist. Seit der Erstbeschreibung eines Syndromenkomplexes mit kongenitaler Taubstummheit, Herzerkrankung mit Verlängerung des QT-Intervalls und plötzlichem Herztod“ [55] durch A. Jervell und F. Lange-

Nielsen 1957 gab es zahlreiche weitere Fallberichte über Familien mit entsprechenden EKG-Veränderungen und der Neigung zu ventrikulären Tachyarrhythmien. Mitte der 1960er-Jahre beschrieben beiden Kinderärzte Cesarino Romano und Owen Conor Ward voneinander unabhängig einen zweiten klinischen Phänotyp, welcher sich durch autosomal dominante Vererbung und das Fehlen von kongenitaler Taubheit vom JLNS abgrenzte. In jüngerer Zeit konnte den klinischen Syndromen entsprechende Ionenkanal-Mutationen zugeordnet werden [121, 126].

Viel häufiger als diese erblichen Formen sind medikamentös induzierte oder durch andere Herzerkrankungen sekundär erworbene Long-QT-Syndrome. Man geht davon aus, dass bei den erworbenen Formen dieselben kardialen Ionenkanäle beeinträchtigt sind wie beim kongenitalen LQT-Syndrom, weshalb die Forschung an genetisch veränderten Mausmodellen auch für dieses große Feld von Bedeutung ist [21].

Genotyp	Chromosom	Betroffene Gene	Betroffener Ionenstrom
LQT1(RWS/JLNS*)	11	KCNQ1	Kaliumstrom (Gleichrichter) $I_{Ks} \downarrow$
LQT2(RWS)	7	KCNH2	Kaliumstrom (Gleichrichter) $I_{Kr} \downarrow$
LQT3(RWS)	3	SCN5A	Natriumstrom $I_{Na} \uparrow$
LQT4	4	ANK2 (Ankyrin-B)	Natriumstrom $I_{Na} \uparrow$
LQT5(RWS/JLNS)*	21	KCNE1	Kaliumstrom (Gleichrichter) $I_{Ks} \downarrow$
LQT6(RWS)	21	KCNE2	Kaliumstrom (Gleichrichter) $I_{Kr} \downarrow$
LQT7(Anderson Syndrom)	17	KCNJ2	Kaliumstrom (Einwärts) $I_{K1} \downarrow$
LQT8(Timothy Syndrom)	6	CACNA1C	L-Typ-Kalziumstrom $I_{Ca} \uparrow$
LQT9	3	CAV3 (caveolin)	Natriumstrom $I_{Na} \uparrow$
LQT10(RWS)	11	SCN4B	Natriumstrom $I_{Na} \uparrow$
LQT11	7	AKAP9	Kaliumstrom (Gleichrichter) $I_{Ks} \downarrow$
LQT 12	20	STNA1	Natriumstrom $I_{Na} \uparrow$

**Tabelle 2** Genetische Typen des LQT-Syndroms. Nach [17]

\*heterozygote Mutation=RWS, homozygote Mutation=JLNS

Anhand der bisherigen Untersuchungen ergeben sich keine Hinweise darauf, dass die Mutation im TASK-1-Kanal zu einer derart monokausalen Herzrhythmusstörung führt. Die phänotypische Konsequenz der TASK-1 Defizienz für die kardiale Funktion ist Gegenstand der Forschung und wird in dieser Arbeit unter besonderer Berücksichtigung der autonomen Regulationsleistung des Herzens betrachtet.

#### **1.4 Mausmodelle mit genetisch modifizierter Kaliumkanalexpression**

Es gibt zahlreiche Mausmodelle, in denen die Expression und Funktion von Kaliumkanälen genetisch verändert wurde, um mehr über den Zusammenhang zwischen Kanalprotein und dessen funktioneller Bedeutung für die Erregungsvorgänge am Herzen herauszufinden. Ein großer Vorteil dieser Untersuchungsmethode liegt darin, dass neben den elektrophysiologischen Veränderungen auf zellulärer Ebene auch eventuelle phänotypische Konsequenzen des Kanaldefekts in vivo beschrieben werden können. In „Patch-clamp“-Experimenten konnte auf zellulärer Ebene bei ungefähr fünfzig Prozent der untersuchten Modelle eine Verlängerung des Aktionspotentials durch Beeinträchtigung der an der Repolarisation beteiligten Kalium-Auswärtsströme gemessen werden. In acht von zehn dieser Fälle resultierte aus den fehlenden bzw. defekt exprimierten Kaliumkanälen auch in vivo eine verlängerte QT-Zeit. Einzelne transgene Modelle fielen phänotypisch durch strukturelle Anomalien des Herzens, Arrhythmien oder eine veränderte Herzfrequenzvariabilität auf [91]. Im Mausmodell mit Expression

---

einer dominant negativen Kv4.2-Untereinheit kam es beispielsweise zur Myokardhypertrophie [135]. Eine andere Maus, welcher zusätzlich noch ein weiterer spannungsabhängiger Kaliumkanal (Kv1.4) fehlte, zeigte neben einer ausgeprägten QT-Zeitverlängerung auch AV-Blockierungen und ventrikuläre Tachykardien [44]. Selten traten extrakardiale Fehlbildungen, wie zum Beispiel eine Gaumenspalte bei der Kir2.1-Knock-Out-Maus [144], auf. In der Zusammenschau stellte man jedoch fest, dass die deutlichen elektrophysiologischen Konsequenzen der Gen-Mutation in den meisten Fällen im Kontrast zu einem scheinbar unbeeinträchtigten Phänotyp stehen [91].

#### **1.4.1 Variable phänotypische Relevanz mutierter kardialer Ionenkanäle**

Die phänotypische Relevanz mutierter kardialer Ionenkanäle ist sehr variabel. Zwischen Mutation eines Kanalgens und klinischer Konsequenz stehen komplexe Regulations- und Kompensationsmechanismen des Organismus. Mutationen eines einzelnen Allels können verschiedene Effekte haben. Entweder führen sie dazu, dass die Genexpression zu 50% reduziert wird, oder sie werden durch eine vermehrte Gentranskription bzw. gesteigerte Biosynthese des intakten Allels kompensiert [130].

Unter Umständen reicht jedoch bereits die Mutation nur eines Allels aus, um einen Phänotyp zu manifestieren. So verursachen Mutationen in nur einem Allel der Gene KCNQ1 oder KCNH2 (HERG) das Krankheitsbild der autosomal-dominanten Form des Long QT-Syndroms, welches mit einer signifikant erhöhten Mortalität durch ventrikuläre Tachykardien verbunden ist. In anderen Fällen zeigen sogar homozygote Knockout-Mäuse einen nur gering beeinträchtigten oder ganz unauffälligen Phänotyp. Mechanismen, die hier zu Grunde liegen sind zum Beispiel die Aktivierung kompensatorischer Gene oder eine funktionelle Redundanz des entsprechenden Proteins [43]. Bei Mäusen mit einer Defizienz für den Kalziumkanal Cav1.2 konnte beispielsweise eine kompensatorische Hochregulation des Cav1.3-Kanals nachgewiesen werden. Trotzdem war die Mutation bei der Cav1.2 –Knock-Out-Maus bereits während der Embryonalentwicklung letal [139]. Auch in transgenen Mäusen, bei denen durch die Expression eines verkürzten, funktionslosen Kv1-Kanals der  $I_{K_{slow1}}$  (Kv1-kodierter Kaliumstrom) fehlte, wurde kompensatorisch mehr  $I_{K_{slow2}}$  (Kv2-kodierter Kaliumstrom) beobachtet [145].

Nach unserem Kenntnisstand wurde noch keine Ionenkanalkrankheit, die mit Mutationen von TASK-1 assoziiert ist, publiziert.

Für die phänotypische Relevanz eines Kanaldefekts ist das Herz als integrierter Bestandteil des Gesamtorganismus zu sehen.

Bei der heterozygoten Knockout-Maus für das Gen *SCN5a*, welches für eine Untereinheit des kardialen, spannungsgesteuerten Natriumkanal Nav1.5 kodiert, wurde deutlich, dass man die klinische Relevanz eines Defekts nicht nur am isolierten Herz bewerten kann. Es zeigte sich, welche herausragende Rolle auch das autonome Nervensystem bei der Kompensation veränderter physiologischer Voraussetzungen spielt. Die kardiale Expression von *Scn5a* war in den *Scn5a*<sup>+/-</sup>-Mäusen zu fünfzig Prozent reduziert. Untersuchungen an den isolierten Herzen zeigten aufgrund der auf die Hälfte verminderten Anzahl von Nav1.5-Kanälen eine verminderte Erregbarkeit. Die Konsequenz war eine dramatisch niedrigere Schlagfrequenz der Langendorff-perfundierten *Scn5a*<sup>+/-</sup>-Herzen im Vergleich zum Wildtyp. In vivo war dieser Effekt durch den signifikanten Beitrag des autonomen Nervensystems bei der Impulsinitiation und Erregungsweiterleitung nicht nachweisbar [96].

Ein gegenteiliges Beispiel stellt ein Mausmodell für das Jervell-und-Lange-Nielson-Syndrom dar. Die transgene Maus (*KCNQ1*<sup>-/-</sup>) ist charakterisiert durch ein verlängerteres QT-Intervall in vivo, bei jedoch normaler APD in der Messung am isolierten *KCNQ1*<sup>-/-</sup> Herzen. Diese Beobachtung weist daraufhin, dass die abnormale Repolarisation bei diesen Mäusen auf extrakardiale Effekte zurückzuführen ist [21].

Mit der Betrachtung von Herzfrequenzvariabilität und Herzfrequenzunregelmäßigkeit liegt der Schwerpunkt dieser Arbeit in der Untersuchung von Parametern, die von der autonomen Regulation des Herzens beeinflusst werden. Durch seine Präsenz im Zentralnervensystem könnte TASK-1 neben intrinsisch kardialen Effekten auch extrakardial die sympathovagale Balance der Herzfunktion beeinträchtigen.

---

## **1.5 Marker autonomer Aktivität in der Regulation der Herzfunktion**

Die sogenannte intrinsische Herzrate, die in Abwesenheit neuraler und hormoneller Einflüsse im Sinusknoten erzeugt wird, untersteht ständiger Modulation des autonomen Nervensystems (ANS). Der parasympathische Einfluss des Nervus vagus überwiegt unter Ruhebedingungen. Demgegenüber steht der Sympathikus, der über die Nervi cardiaci Einfluss auf die Sinusknotenfrequenz nimmt. Die Bedeutung des ANS für die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität wurde in den letzten drei Jahrzehnten mehr und mehr aufgedeckt [28, 71, 76, 117]. Anhaltspunkte auf eine Assoziation zwischen der Neigung zu lebensbedrohlichen Arrhythmien und Zeichen einer gesteigerten sympathischen, beziehungsweise reduzierten vagalen Aktivität haben dazu angeregt, quantitative Marker der autonomen Aktivität zu entwickeln. Die Herzfrequenzvariabilität (HRV) stellt hierfür einen der vielversprechendsten Marker dar, da die Methode relativ einfach anzuwenden und wenig invasiv ist. Ein weiterer Marker, der zur Abschätzung der Baroreflexsensitivität (BRS) dient, wurde in der Herzfrequenz-turbulenz nach ventrikulärer Extrasystole (HRT) gefunden.

### **1.5.1 Die Herzfrequenzvariabilität (HRV)**

#### **1.5.1.1 Physiologischer Hintergrund und klinische Relevanz**

Das Herz eines gesunden Organismus schlägt nicht exakt regelmäßig, sondern zeigt neben der Frequenzadaptation an körperliche und psychische Belastung auch dezente Variationen von Schlag zu Schlag. Bereits im 3. Jahrhundert erkannte der chinesische Arzt Wang Shu-he, dass ein variabler Herzschlag ein Zeichen für Gesundheit ist. Er soll in diesem Zusammenhang gesagt haben: „*Wenn das Herz so regelmäßig wie das Klopfen eines Spechtes oder das Tröpfeln des Regens auf dem Dach wird, wird der Patient innerhalb von 4 Tagen sterben*“ [89].

Im Säugerherz bestimmt der Sinusknoten als dominanter Impulsgenerator die Herzfrequenz. Hierbei unterliegt das kardiovaskuläre System jedoch permanent Reflexvermittelten Regulationen durch das autonome Nervensystem. Die gegensätzlichen Effekte von Sympathikus und Parasympathikus modulieren die Impulsinitiation im Sinusknoten. Das Phänomen der daraus resultierenden Herzfrequenzschwankungen von

Schlag zu Schlag wird als Herzfrequenzvariabilität oder Herzratenvariabilität (HRV) bezeichnet [1].

Der Einfluss des Parasympathikus auf die Herzfrequenz beruht überwiegend auf der Freisetzung von Acetylcholin im Sinusknoten mit nachfolgender Abnahme der Schrittmacherfrequenz. Vermittelt wird die negative Chronotropie über muskarinartige Rezeptoren und schließlich einer Zunahme der Kaliumleitfähigkeit durch den  $K_{ACh}$ -Kanal in der Zellmembran. Die sympathische Stimulation beruht auf einer Freisetzung der Transmitter Adrenalin und Noradrenalin, die  $\beta$ -adrenerge Rezeptoren aktivieren. Das Resultat ist eine Beschleunigung der spontanen diastolischen Depolarisation im Sinusknoten. In Ruhe überwiegt der Einfluss des Parasympathikus, so dass Änderungen der HRV in erster Linie auf Änderungen des Vagotonus beruhen. Im Allgemeinen wird eine reduzierte HRV als Marker für eingeschränktes Anpassungsvermögen des Organismus angesehen. Bei vielen kardiovaskulären Erkrankungen ist die HRV verringert und weist auf eine Verschiebung der sympathovagalen Balance in Richtung Sympathikus hin [78]. Bei der Interpretation ist jedoch zu bedenken, dass die HRV zahlreichen Einflussgrößen wie Alter, Geschlecht, Atmung und Trainingszustand unterliegt.

Die klinische Relevanz der Herzfrequenzvariabilität wurde in den 1960er-Jahren zunächst in der Geburtshilfe erkannt. Man erkannte, dass fetale Hypoxie mit einer Abnahme der HRV einherging, und nutzt die HRV-Analyse in der Kardiotokographie auch heute noch zur frühzeitigen Erkennung von fetalem Distress [51, 112].

In den 1970er Jahren etablierten B.M. Sayers und andere Wissenschaftler die Methode, um den Einfluss des autonomen Nervensystems beim Menschen zu untersuchen [115]. In jüngerer Zeit ist die HRV zu einem nützlichen Diagnose- und Prognoseparameter in klinischen Studien geworden. Da die Herzfrequenzvariabilität die Fähigkeit des Herzens beschreibt, die Herzschlagabfolge zu variieren und sie wechselnden Anforderungen anzupassen, gilt die HRV für verschiedene Herzerkrankungen des Menschen, wie Myokardinfarkt, kongestiver Herzinsuffizienz und plötzlichem Herztod, als unabhängiger Risikoprädiktor für die kardiale Morbidität und Mortalität [15, 24, 113].

Des Weiteren nutzt man die HRV-Analyse in der Diagnostik der diabetischen Neuropathie. Eine reduzierte HRV gilt hier als frühes Anzeichen einer kardiovaskulären, auto-

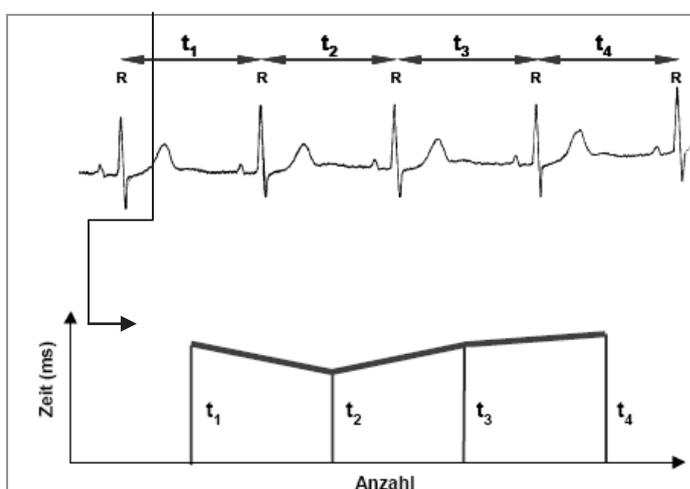
nomen Neuropathie. Auch in der Sportwissenschaft hat die Analyse der Herzratenvariabilität Einzug gehalten. Die HRV hat sich als Kenngröße in Leistungsdiagnostik und Trainingssteuerung etabliert und es werden mit großem Interesse die Auswirkungen körperlichen Trainings auf die HRV untersucht [53].

### 1.5.1.2 HRV-Analyseverfahren - *Time Domain* und *Frequency Domain*

Generell unterscheidet man bei der Herzratenvariabilität die Analyse von kurzen Messzeiträumen (zwei bis fünf Minuten), welche akute Veränderungen, wie zum Beispiel einen kurzzeitigen Abfall der HRV durch eine Stresssituation erfasst, von einer Langzeitanalyse (z. B. anhand von 24h-EKGs), die eine langfristige sympathovagale Dysbalance erfassen. Die Darstellung der RR-Abstände über einen bestimmten Zeitraum erfolgt in einem Tachogramm, in dem jedem Intervall auf der X-Achse ein Zeitwert auf der Y-Achse zugeordnet ist (siehe Abbildung 3). Die Auswertung HRV kann in zwei wesentliche Verfahren unterteilt werden: Die *Time Domain* und die *Frequency Domain*.

#### Die Zeitbereichsanalyse - *Time Domain*

Bei der Zeitbereichsanalyse handelt es sich um eine deskriptive statistische Darstellung der aufeinanderfolgenden RR-Abstände und deren Differenzen. Man betrachtet die RR-Intervalle über eine definierte Zeit, um ihren Mittelwert und die Standardabweichung, sowie weitere, hieraus rechnerisch ermittelte Parameter, zu bestimmen. Es gilt, je kleiner die Standardabweichung der RR-Intervalle, desto niedriger ist die HRV. Der Parameter *RMSSD* (Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen



**Abbildung 3** Vom EKG zum Tachogramm

$t_n$  = Dauer eines RR-Intervalls

---

sukzessiver RR-Intervalle) korreliert hierbei mit der vagalen Aktivität [78]. Weitere, in dieser Arbeit nicht berücksichtigte Verfahren in der *Time Domain* sind Histogramme, RR-Poincaré- und Delta-RR-Poincaré-Diagramme.

### *Die frequenzbezogene Analyse - Frequency Domain*

Die technisch aufwändigere frequenzbezogene Analyse basiert auf der Periodizität vieler biologischer Systeme. Das bedeutet, ein biologisches Signal wiederholt sich innerhalb eines festgelegten Zeitraums und weist damit eine bestimmte Frequenz (Einheit  $s^{-1}$ ) auf. Auch das Gesamtsignal der HRV besteht aus einer Vielzahl von sich wiederholenden Einzelfrequenzen.

Die auf die Frequenz bezogene Leistung (Energie pro Zeit), die das Signal in einem unendlich kleinen Frequenzband hat, wird als spektrale Leistungsdichte bezeichnet. Das Integral über alle Frequenzen ergibt die Gesamtleistung eines Signals [93]. Die Analyse des Leistungsdichtespektrums (*power spectral density* = PDS) liefert nun die Information darüber, wie sich die Gesamtleistung auf die einzelnen, definierten Frequenzbereiche verteilt. Diese Spektralanalyse erfolgt anhand des Tachogramms aus denselben EKG-Daten, die auch für die zeitbezogene Analyse herangezogen werden. Der hierfür nötigen Umwandlung des zeitbezogenen Datensignals (RR-Abstände) in ein frequenzbezogenes Signal liegen mathematisch-physikalische Verfahren, wie die schnelle Fourier-Analyse (*fast Fourier transformation* = FFT) zugrunde. Die Abbildung 4 zeigt exemplarisch ein Tachogramm und die grafische Darstellung des sich hieraus ergebenden Leistungsdichtespektrums.

Für die Auswertung unter funktionellen Gesichtspunkten haben sich für die Analyse der HRV beim Menschen folgende charakteristische Parameter ergeben [78]:

#### *(1) Total Frequency Power (TFP)*

Die TFP mit der Einheit  $ms^2$  ist definiert als Gesamtfläche unter der Kurve innerhalb aller Frequenzbereiche. Sie gilt als Maß für den globalen Einfluss des autonomen Nervensystems auf das Herz-Kreislaufsystem.

#### *(2) High Frequency Power (HF)*

Die Hochfrequenz-Bande (Bereich zwischen 0,18 und 0,4 Hz) reflektiert hauptsächlich die vagal vermittelten Frequenzvariationen, wie zum Beispiel die respiratorische Sinusarrhythmie.

### (3) Low Frequency Power (LF)

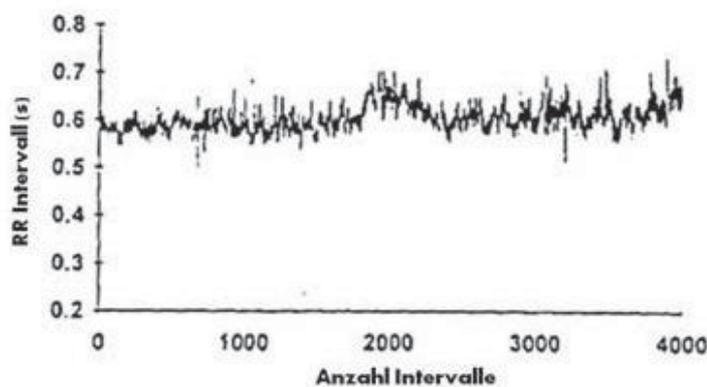
Die Niedrigfrequenz-Bande (Bereich zwischen 0,04 und 0,15 Hz) leitet sich sowohl von parasympathischer als auch von sympathischer Aktivität ab. In normierten Einheiten ausgedrückt wird die LF von vielen Autoren aber als Marker der sympathischen Modulation angesehen [81, 88].

### (4) Very Low und Ultra Low Frequency Power (VLF;ULF)

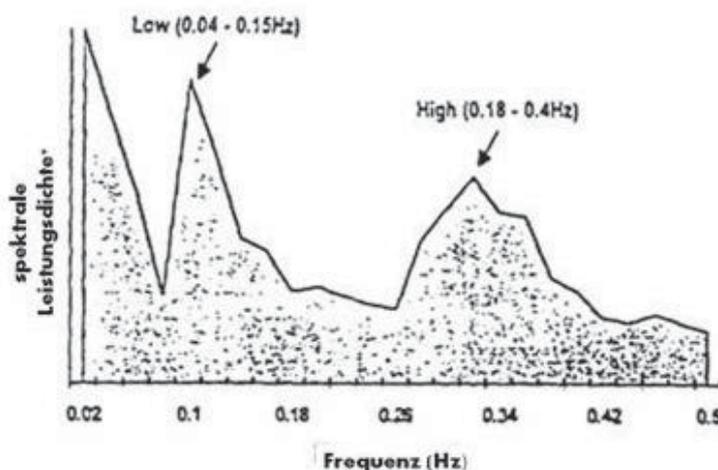
Der Frequenzbereich unter 0,04 Hz ist in seiner physiologischen Bedeutung bisher nicht geklärt. Diskutiert wird der Einfluss thermoregulatorischer Prozesse und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems.

### (5) Quotient aus LF und HF (LF/HF)

Das Verhältnis der niedrigen Frequenzen (LF) zu den höheren Frequenzen (HF) spiegelt die sympathovagale Balance wieder. Eine Vergrößerung des Quotienten deutet auf einen stärkeren Einfluss des Sympathikus hin.



**Abbildung 4** Frequenzbezogene Analyse der HRV



Darstellung der RR-Abstände im Tachogramm (oben) und Spektralanalyse des Tachogramms mit Frequenz auf der X-Achse und Leistungsdichtespektrum (engl. power spectral density = PSD) auf der Y-Achse.

Abbildung aus [58].

## 1.5.2 Die Herzfrequenzturbulenz nach ventrikulärer Extrasystole (HRT)

Die HRT (engl.: Heart Rate Turbulence) stellt einen weiteren Marker zur Tonusmessung des autonomen Nervensystems dar. Er dient als nicht invasiver Ersatzparameter für die Baroreflexsensitivität (BRS), nachdem eine enge Korrelation zwischen HRT und BRS nachgewiesen werden konnte [73].

### 1.5.2.1 Physiologischer Hintergrund und klinische Relevanz

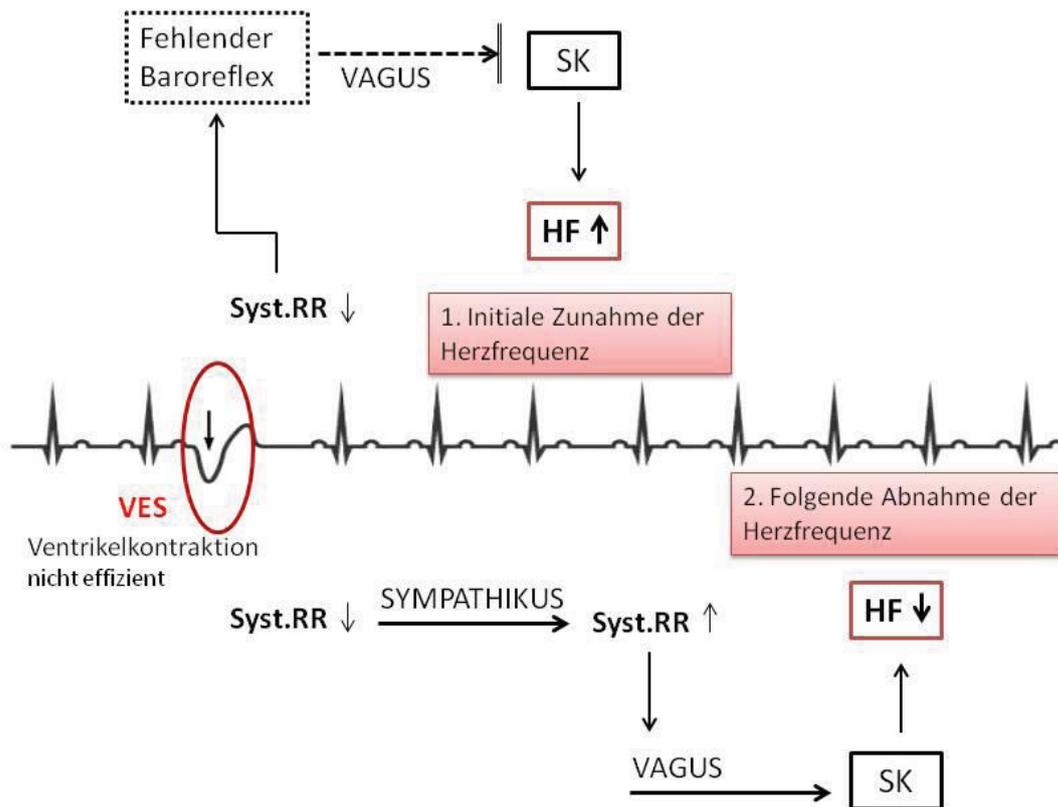
Der Begriff Heart Rate Turbulence beschreibt kurzfristige Fluktuationen des Sinusrhythmus um eine ventrikuläre Extrasystole herum [116]. Bei einer ventrikulären Extrasystole (VES) breitet sich die Erregung von einem ventrikulären, ektopen Fokus über die Herzkammern aus. Der QRS-Komplex erscheint daher verbreitert und deformiert. Einzelne VES kommen häufig auch bei Herzgesunden vor. Leitet man während einer solchen Extrasystole ein EKG ab, lässt sich das Phänomen der HRT beobachten. In einem gesunden Organismus besteht das physiologische Reaktionsmuster auf eine VES aus einer initialen Beschleunigung und einer darauffolgenden Verlangsamung der Herzfrequenz im Vergleich zur präextrasystolischen Frequenz [10]. Es kommt hierbei weder zu einer Abweichung vom Sinusrhythmus noch ändern sich die Überleitungszeiten. Der Änderung des Schlagintervalls liegt also eine Veränderung der Impulsinitiation im Sinusknoten zugrunde. Hierbei macht es keinen Unterschied, ob es sich um eine spontane oder eine durch Elektrostimulation induzierte VES handelt [49, 111]. Zahlreiche Studien haben zur Aufklärung der relevanten physiologischen Mechanismen beigetragen [47, 133, 134], so dass sich eine anerkannte Hypothese zur Entstehung des Phänomens HRT herausgebildet hat. Demnach wird die initiale Herzfrequenzzunahme durch Vagusinhibition, als Antwort auf die fehlenden Baroreflexafferenz nach hämodynamisch ineffizienter Ventrikelkontraktion, vermittelt. Eine durch den Sympathikus vermittelte überschießende Gegenregulation zur Aufrechterhaltung des arteriellen Blutdrucks führt schließlich über eine Vagusstimulation zur Herzfrequenzabnahme in der zweiten Phase. [48, 79]

Die hämodynamische Unzulänglichkeit des Extraschlages, die die Kaskade in Gang bringt, kommt durch verschiedene Faktoren zustande. Aus der Vorzeitigkeit ergibt sich eine verkürzte diastolische Füllungsphase, die spätdiastolische Vorhofkontraktion fehlt, und die Kontraktilität des Myokards ist reduziert. Außerdem können zum Zeit-

---

punkt des Erregungseinfalls einige Bereiche des Myokards noch refraktär sein, und nehmen somit nicht an der Kontraktion teil. Diese Faktoren führen dazu, dass im Vergleich mit einem regelrechten Sinusschlag, der durch eine VES erzeugte systolische Blutdruck deutlich niedriger ausfällt [134]. Die Absenkung des systolischen Blutdrucks wird von den Barorezeptoren in Aorta und Karotissinus als verminderte Dehnung der Gefäßwand registriert, was die Herzfrequenzbeschleunigung durch Inhibition des vagalen Einflusses auf den Sinusknoten bewirkt. Gleichzeitig stimuliert die relative Hypotension nach der Extrasystole den sympathischen Anteil des autonomen Nervensystems zur Gegenregulation. Es kommt mit einer Latenz von ungefähr fünf Sekunden zur Erhöhung des peripheren Widerstands durch arterielle und venöse Vasokonstriktion [48, 132]. Diese Gegenregulation führt zu einer überschießenden Blutdruckerhöhung und leitet über eine Vagusaktivierung die zweite Phase der HRT ein. An der zweiten Phase, in der es zu einer graduellen Absenkung der Herzfrequenz auf präsysolisches Niveau kommt, sind somit beide Arme des autonomen Nervensystems maßgeblich beteiligt.

Die HRT reflektiert die Baroreflexsensitivität und wird daher in der Risikostratifikation bei Pathologien des kardiovaskulären Systems eingesetzt, bei denen eine verminderte autonome Aktivität mit einer Verschlechterung des Outcomes einhergeht. Es hat sich gezeigt, dass es bei Patienten nach einem Myokardinfarkt oft zu einer gestörten HRT kommt. Sowohl Herzfrequenzbeschleunigung (*Turbulence Onset, TO*) als auch Herzfrequenzverlangsamung (*Turbulence Slope, TS*) nach einer VES sind bei diesen Patienten häufig deutlich weniger ausgeprägt als bei Herzgesunden. Die HRT ist mit der Evidenz großer klinischer Studien ein starker und unabhängiger Risikoprädiktor für die Mortalität nach überlebtem Myokardinfarkt [116]. Auch bei kongenitalen Herzerkrankungen wird die HRT zur Prädiktion des plötzlichen Herztodes eingesetzt. Eine prospektive Studie an 43 Patienten mit operativ korrigierten, kongenitalen Herzerkrankungen, wie zum Beispiel einer Transposition der großen Arterien nach arterieller Switch-Operation, untersuchte anhand von 24-h-EKGs die Korrelation zwischen den Parameter der HRV und der HRT und den Endpunkten „plötzlicher Herztod“ oder „überlebter plötzlicher Herztod“ [65]. Die Studie ergab, dass alle Patienten mit pathologischen Werten für TO und TS einen der Endpunkte erreichten, während nur ein Patient innerhalb der Gruppe mit normalem TO und TS im Beobachtungszeitraum verstarb [65].



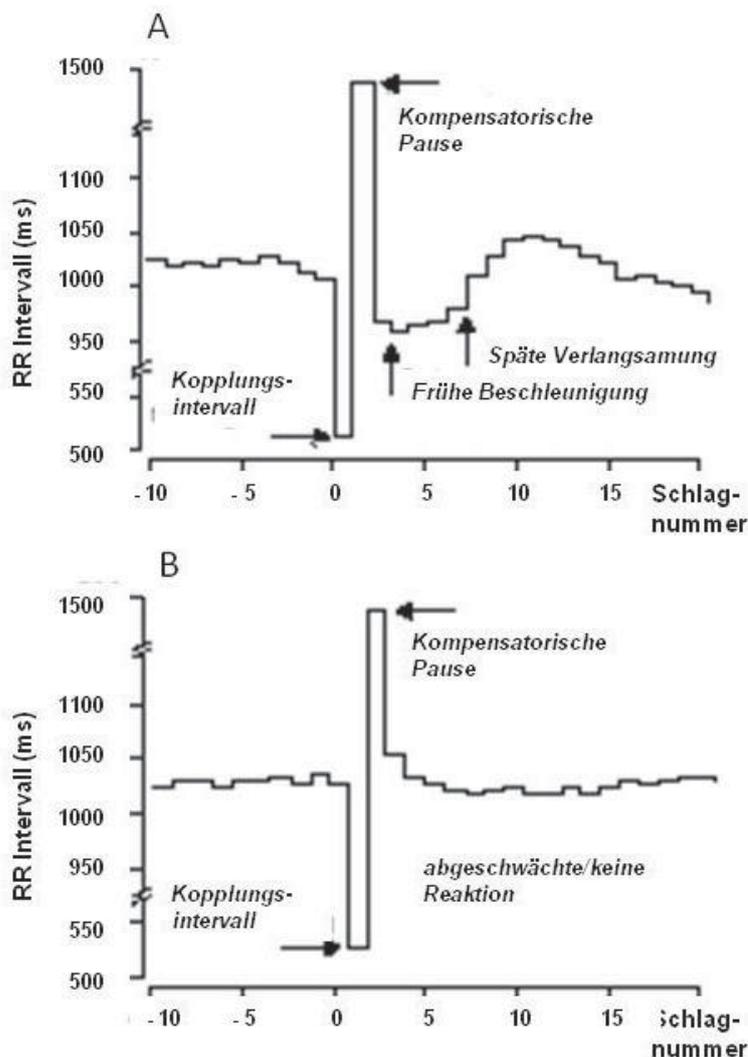
**Abbildung 5** Physiologischer Hintergrund der HRT

Die hämodynamisch ineffiziente Ventrikelkontraktion führt über eine kurzfristige Absenkung des systolischen Blutdrucks zur Unterbrechung des Baroreflexes. Als Folge der fehlenden Baroreflexafferenz kommt es zu einer transienten Inhibition des vagalen Einflusses auf den Sinusknoten. Es resultiert eine Zunahme der Herzfrequenz. Die überschießende sympathische Kompensation der relativen Hypotension durch Zunahme des arteriellen Blutdrucks ist verantwortlich für die nachfolgende vagal vermittelte Herzfrequenzabnahme.

### 1.5.2.2 Messmethodik der HRT

Das physiologische Reaktionsmuster auf eine ventrikuläre Extrasystole besteht also aus einer kurzen initialen Beschleunigung, gefolgt von einer allmählichen Verlangsamung der Herzfrequenz. Zugrunde liegt die durch das autonome Nervensystem vermittelte Antwort auf die inadäquate Auswurfleistung durch den Extraschlag. Da sich diese postextrasystolischen Intervallschwankungen im Bereich von wenigen Millisekunden abspielen und von Herzfrequenzvariabilität anderen Ursprungs (Atmung, körperliche Anstrengung etc.) überlagert werden, wird die HRT in einem sogenannten signalgemittelten lokalen Tachogramm dargestellt [116]. Hierzu werden die RR-Intervalle, welche die einzelnen ventrikulären Extrasystolen (VES) umgeben, gegen ihre relative Position

zur VES aufgetragen. Das Signal aller Ereignisse im Betrachtungszeitraum wird anschließend zum lokalen Tachogramm gemittelt. Abbildung 6 zeigt schematisch ein je ein lokales Tachogramm mit physiologischer, beziehungsweise pathologisch abgeschwächter Reaktion auf ventrikuläre Extrasystolen. Quantifiziert werden die Frequenzänderungen durch die Parameter *Turbulence Onset (TO)* und *Turbulence Slope(TS)*.



**Abbildung 6** Typisches Tachogramm mit physiologischer (A) bzw. pathologischer Reaktion (B) auf eine VES. Nach Schmidt et al [116]

Der **Turbulence Onset (TO)** wird angegeben als die prozentuale Änderung des RR-Intervalls und vergleicht die beiden RR-Abstände unmittelbar vor der einfallenden Extrasystole mit den beiden unmittelbar auf die Extrasystole folgenden RR-Abständen. Berechnet wird der Turbulence Onset nach folgender Formel:

$$TO [\%] = ((RR1 + RR2) - (RR-2 + RR-1)) / (RR-2 + RR-1) * 100$$

Ein Wert  $< 0\%$  des *Turbulence Onset* bedeutete demnach eine Beschleunigung des Sinusrhythmus nach einer Extrasystole, ein Wert  $> 0\%$  bedeutete eine Verlangsamung des Sinusrhythmus nach einer Extrasystole.

Die ***Turbulence slope (TS)*** quantifiziert die allmähliche Verlangsamung der Herzfrequenz in der zweiten Phase und entspricht der Steigung der steilsten Regressionsgeraden von fünf aufeinanderfolgenden Normalintervallen im lokalen Tachogramm. Betrachtet werden für die Berechnung die 15 auf eine VES folgenden RR-Intervalle, woraus sich rechnerisch 11 mögliche Geraden ergeben. Nur die am steilsten ansteigende Gerade definiert die *Turbulence Slope*. Sie wird in der Einheit Millisekunden pro RR-Intervall (ms/RR-I) angegeben.

In den meisten klinischen Studien, die die HRT bei Menschen als Risikoprädiktor untersuchen wird für den *Turbulence Onset* ein Wert größer als  $0\%$  und für die *Turbulence Slope* ein Wert größer als  $2,5$  ms/RR-Intervall als normal angenommen. Diese „Cut-Off“-Werte wurden in zwei großen Studien an Post-Myokardinfarkt-Patienten validiert [10, 116].

## 1.6 Zielsetzung der Arbeit

Der kardiale Phänotyp TASK-1-defizienter Mäuse ist im Rahmen dieses Forschungsprojekts zum ersten Mal untersucht worden. Es ist bekannt, dass Mutationen in bestimmten Kaliumkanälen durch Beeinflussung der kardialen Repolarisation das Risiko für Arrhythmien und den plötzlichen Herztod erhöhen. Vor diesem Hintergrund befasste sich die Forschungsgruppe mithilfe umfassender in-vitro- und in-vivo-Methoden mit den Konsequenzen, die das Fehlen des TASK-1-Kanals für die Herzfunktion hat.

Für diese Arbeit lag der Schwerpunkt auf dem Vergleich des EKG-Signals von TASK1<sup>-/-</sup>-Mäusen und Wildtyp-Mäusen. Es wurden an sedierten Tieren abgeleitete Oberflächen-EKGs analysiert, um Morphologie und Zeitintervalle des EKG-Signals miteinander zu vergleichen. Denkbar schien zum Beispiel ein Unterschied der Herzfrequenz zwischen den Genotypen, weshalb ein Aspekt die Analyse der RR-Intervalle darstellte.

Da der Ionenstrom durch TASK-1 nach den bisherigen Erkenntnissen vor allem zur kardialen Repolarisation beiträgt, lag ein besonderes Augenmerk auch auf Analyse der QT-Zeit. Vorhergehende Untersuchungen hatten eine Verlängerung der Aktionspotentialdauer (APD) in isolierten TASK-1<sup>-/-</sup>-Kardiomyozyten gezeigt [36]. In dieser Arbeit sollte nun untersucht werden, ob dies auch einen Einfluss auf das EKG der Maus in vivo hat.

Um möglichst lebensnahe Messungen der Herzfrequenz an sich frei bewegenden Tieren zu machen, kamen in einem zweiten Schritt telemetrisch über 24 Stunden abgeleitete EKGs zum Einsatz.

Nun ist die Herzfunktion nicht allein auf kardialer Ebene determiniert, sondern unterliegt im Organismus der Regulation durch das autonome Nervensystem. Ein weiteres Ziel war daher die vergleichende Untersuchung autonomer Regulationsmechanismen im kardiovaskulären System von TASK1<sup>-/-</sup>- und Wildtyp-Mäusen. Es stellte sich die Frage, ob sich die TASK-1-Defizienz auf die Balance von sympathischem und parasympathischem Einfluss auf die Herzfunktion auswirkt. Hierfür wurde anhand der 24h-EKG-Daten die Herzratenvariabilität (HRV) und die Herzfrequenz-turbulenz (HRT) analysiert. Einige Mutationen in kardialen Kaliumkanälen gehen auch mit einem morphologischen Korrelat im Sinne einer Herzhypertrophie einher [135]. Vor diesem Hintergrund wurden in dieser Arbeit auch die Körperindices Körpergewicht, Herzgewicht und Tibialänge

der TASK-1-defizienten und der unveränderten Mäuse verglichen, um Hinweise auf eine eventuelle Herzhypertrophie der TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse zu erhalten.

Zusammenfassend soll die Arbeit anhand von vergleichenden Analysen im Tiermodell einen Beitrag zur Aufdeckung der funktionellen Bedeutung des TASK-1-Kanals, Mitglied der relativ kürzlich entdeckten K2P-Kanalfamilie, leisten.

---

## 2 Material und Methoden

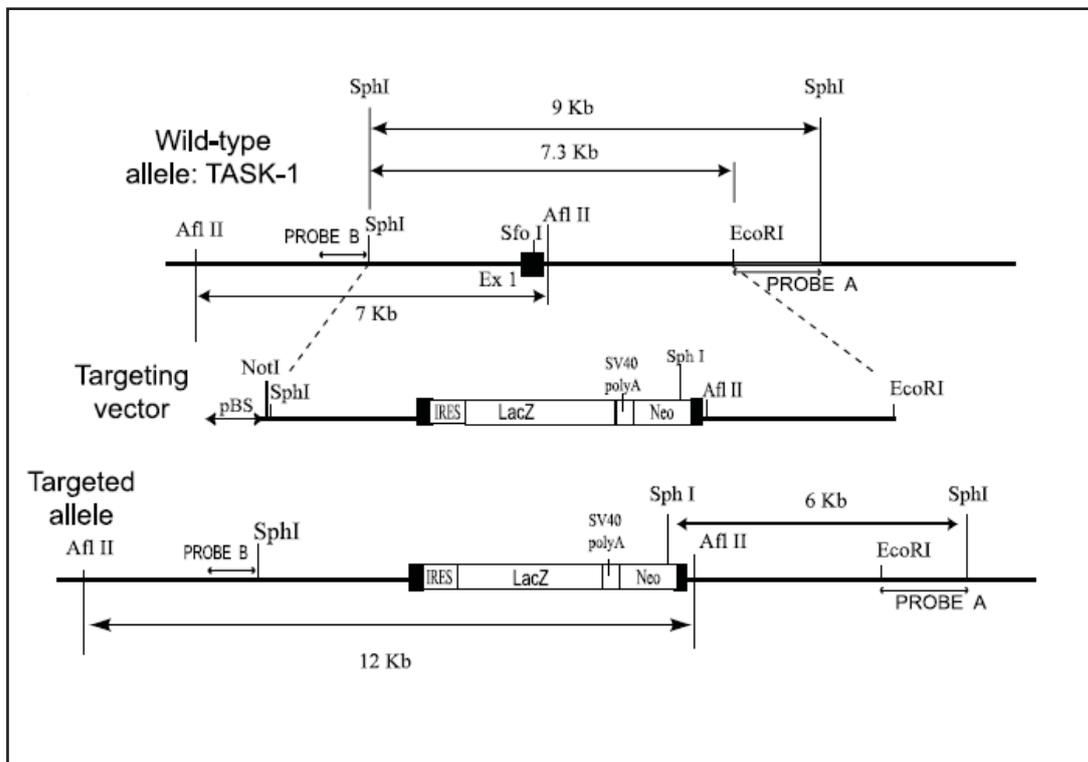
### 2.1 Tiere

#### 2.1.1 Die Task-1-Knockout-Maus

Die Entwicklung der TASK-1-defizienten Maus (C57/Bl6 X 129Sv) erfolgte durch die Arbeitsgruppe von Dr. Isabel Aller und Dr. William Wisden an der Universität Heidelberg, Abteilung für Klinische Neurobiologie und Neurologie [2]. Als genetischer Hintergrund diente der weit verbreitete Mausstamm C57/Bl6. Im Rahmen einer Zusammenarbeit mit der Abteilung für Kinderkardiologie und -Pneumologie des Universitätsklinikums Düsseldorf wurden zwei heterozygote Zuchtpaare aus der sechsten Rückkreuzungsgeneration abgegeben und hier zum Aufbau einer entsprechenden Zucht eingesetzt. Die Herstellung der transgenen Maus ist von Aller et al bereits detailliert beschrieben [2] und wird daher hier nur kurz umrissen.

Um die für den TASK-1-Kanal kodierende Sequenz des Mäusegenoms zu erhalten wurde mittels reverser Transkription von mRNA eine cDNA-Probe hergestellt, mit der eine 129-BAC-cDNA-Bibliothek durchsucht werden konnte. Die mRNA wurde hierfür aus Hirngewebe der Maus extrahiert. Die verwendeten Primer waren: 5'-AAG GAC CAG GCG CTG CAG AC-3' (Nukleotide 554-573, sense) und 5'-TGC ACC GTG CCA AGA GGG-3' (Nukleotide 1343-1326, antisense). Nachdem die entsprechende Stelle der TASK-1-Sequenz identifiziert war, wurde durch homologe Rekombination in embryonischen Mäuse-Stammzellen das Exon 1 des TASK-1 Gens unterbrochen. Exon 1 kodiert die erste Transmembrandomäne des  $K_{2P}$ -Kanals bis hin zum Beginn von P1, der ersten von insgesamt zwei porenbildenden Domänen [75]. Der eingebrachte klonierende Vektor bestand aus einem 7,3kb langen Grundgerüst des TASK-1 Gens, das mit einer TAG<sub>3</sub>IRESlacZpAneo<sup>r</sup>A-Kassette [56] versehen wurde. Die anschließende Sequenzierung zeigte die korrekte Platzierung des Vektors mit Beginn 15 Nukleotide „strangaufwärts“ des TASK-1 Startcodons ATG. Zusätzlich resultierte eine Deletion von 72 Basenpaaren im Exon 1 des TASK-1-Gens. Die fehlenden 72 Basenpaare kodieren für die ersten 21 Aminosäuren des TASK-1-Kanals. Schließlich wurde das Konstrukt per

Elektroporation in embryonische Stammzellen eingebracht und der Erfolg des Einbaus mittels Southern Blot Analyse überprüft.



**Abbildung 7** Strategie der homologen Rekombination von Exon 1 des TASK-1 Gens. Darstellung des nativen Gens (oben), des Vektors (Mitte) und der Position des eingebrachten Vektors im Genom (unten); aus [2].

Durch Injektion der erfolgreich manipulierten Zellen in C57BL/6-Blastozysten entstanden chimäre Mäuse, die künftig mit C57/Bl6-Mäusen verpaart wurden. Die nachfolgend geborenen Mäuse wurden weiterhin mittels Southern Blot auf das korrekte Blockieren des TASK-1 Gens genotypisiert. Alle weiteren Zuchtschritte wurden streng auf C57/Bl6-Hintergrund gehalten.

Alle Experimente an den Versuchstieren wurden an bezüglich Alter- und Geschlecht übereinstimmenden Wurfgeschwisterpaaren durchgeführt. So existierte zu jeder Knockout-Maus (TASK-1<sup>-/-</sup>) ein entsprechender *Littermate* vom Wildtyp (Task-1<sup>+/+</sup>) in der Kontrollgruppe. Sämtliche Versuche entsprechen den Konventionen des „*National Institute of Health Guide for the care and use of Laboratory Animals*“ (NIH Publikation Nr. 85-23, überarbeitet 1996). Die Tierversuchsgenehmigung bei der Bezirksregierung Düsseldorf erfolgte unter den Aktenzeichen 50.05-230-85/05 und 50.05-230-29/06.

### 2.1.2 Zucht und Genotypisierung

Die Mäuse wurden in der zentralen Tierversuchsanlage der Universität Düsseldorf gehalten. Den Tieren, die nicht dort geboren wurden, wurde eine mindestens 14-tägige Adaptationsphase vor Beginn weiterer Maßnahmen eingeräumt. Um die zirkadiane Rhythmik der Tiere zu berücksichtigen, und trotzdem eine spätere Belastung der Tiere in deren aktiver Tageszeit zu ermöglichen, blieb die Beleuchtung in den Käfigen entsprechend eines reversen Tag-Nacht Rhythmus in der Zeit von 2:00 bis 14:00 Uhr MEZ eingeschaltet.

Zur Bestimmung des Genotyps erfolgte drei Wochen nach der Geburt der Tiere die Isolation von genomischer DNA aus der Schwanzspitze. Die Genotypisierung erfolgte durch Frau Dr. med Anja Hüning und Frau Martina Schullenberg mittels eines durch die Arbeitsgruppe etablierten PCR-Protokolls [54]. Es wurde ein Primer verwendet, welcher innerhalb der Region des Task-1-Gens bindet, die in den Knockout-Mäusen durch Deletion unterbrochen ist. (Del TASK-1 Primers: Forward primer: 5'-aga atg tgc gca cgt tgg c - 3', Reverse Primer: 5'- cgg cgc cca cca gca -3'). Ein zweites Primerpaar erkannte das *LacZ-Gen*, welches einen Teil des eingebrachten Vektors darstellt (LacZ Primers: Forward primer: 5'- ccc att acg gtc aat ccg c - 3').

In TASK-1<sup>+/+</sup>-Tieren ließ sich ein Amplifikationsprodukt des Del TASK-1-Primerpaares, aber kein Produkt des LacZ-Primers nachweisen. Fehlende Amplifikation des Deletionsprimers, aber ein positives Fluoreszenzsignal für den LacZ-Primer, charakterisierten eine TASK-1<sup>-/-</sup> Maus. Durch Nachweis sowohl des einen, als auch des anderen Amplifikats wurden heterozygote Tiere detektiert.

### 2.1.3 Bestimmung der Körperindices

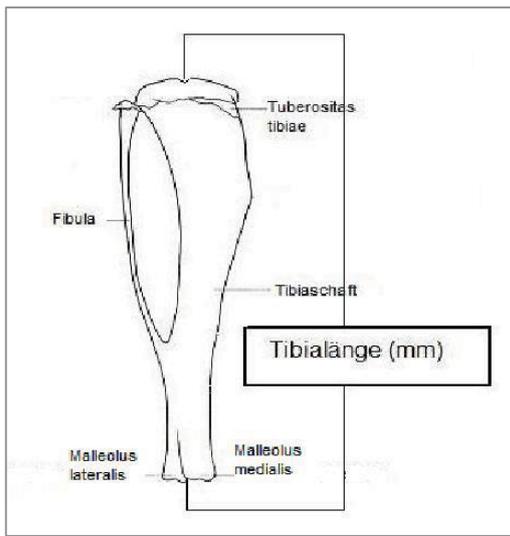
Zum Vergleich der Phänotypen von Task-1<sup>+/+</sup> und Task-1<sup>-/-</sup> wurden neben den physiologischen Merkmalen, auf denen das Hauptaugenmerk dieser Arbeit liegt, auch morphologische Eigenschaften der Tiere betrachtet. Es wurden bei 15 Wildtyp-Mäusen und 16 Knockout-Mäusen die Parameter Körpergewicht, Herzgewicht sowie die Tibialänge untersucht.

Bei kleinen Nagern wie Mäusen und Ratten unterliegt das Körpergewicht erheblichen Schwankungen. Nicht nur ändert sich im Laufe des Alterungsprozesses die Relation von Herzgewicht zu Körpergewicht [128], sondern vor allem auch der klinische Status be-

einflusst neben dem Geschlecht und der Wurfstärke das Körpergewicht, und kann so bei Tieren mit herabgesetzter Vitalität oder veränderter Futter- und Wasseraufnahme zu unterschiedlichen Werten führen. Die Tibiallänge hingegen unterliegt bei einmal ausgewachsenen Tieren weder Befindlichkeitsschwankungen, noch differiert sie stark zwischen den Geschlechtern [128, 142].

Die Erfassung der Parameter erfolgte postmortal nach einer mittleren Lebensdauer

von 306 Tagen. Das Herzgewicht wurde nach Explantation und Spülung mit phosphatgepufferter Salzlösung (PBS) bestimmt. Nach Herauslösen des Knochens aus Muskeln und anderen Gewebeteilen wurde die Tibiallänge mithilfe einer Präzisionsschieblehre ermittelt. Gemessen wurde von der Einziehung zwischen den Kondylen an der Proximalseite bis zur Einziehung der Cochlea an der distalen Seite.



**Abbildung 8** Tibia der Maus.

Schema nach: Margaret J. Cook. The Anatomy of the Laboratory Mouse. [27]

## 2.2 Oberflächen-Elektrokardiographie

Die für die Auswertung herangezogenen EKGs wurden durch die Tierärztin Frau Martina Schullenberg aufgezeichnet. Die Erstellung des 3-Kanal-Oberflächen-EKGs erfolgte hierbei nicht invasiv in Form eines Kontakt-EKGs. Um Artefakte, welche eine spätere Auswertung unmöglich machen, zu minimieren wurden die Mäuse während der Aufzeichnung sediert. Zu diesem Zweck wurde den Tieren intraperitoneal Ketamin (50 mg/kg) und Xylazin (20 mg/kg) per Mischspritze injiziert. Verwendet wurden für menschliche Neugeborene entwickelte EKG-Elektroden (Ambu<sup>®</sup> Blue Sensor NF), die mit Kontaktgel bedeckt und an allen vier Extremitäten der Maus befestigt wurden. Mithilfe eines Datenakquisitionssystems der Firma ADInstruments (PowerLab<sup>®</sup> 8/30 erweitert um Animal BioAmp<sup>®</sup>) konnte auf diese Weise ein Standard-3-Kanal-EKG abgeleitet und aufgezeichnet werden.

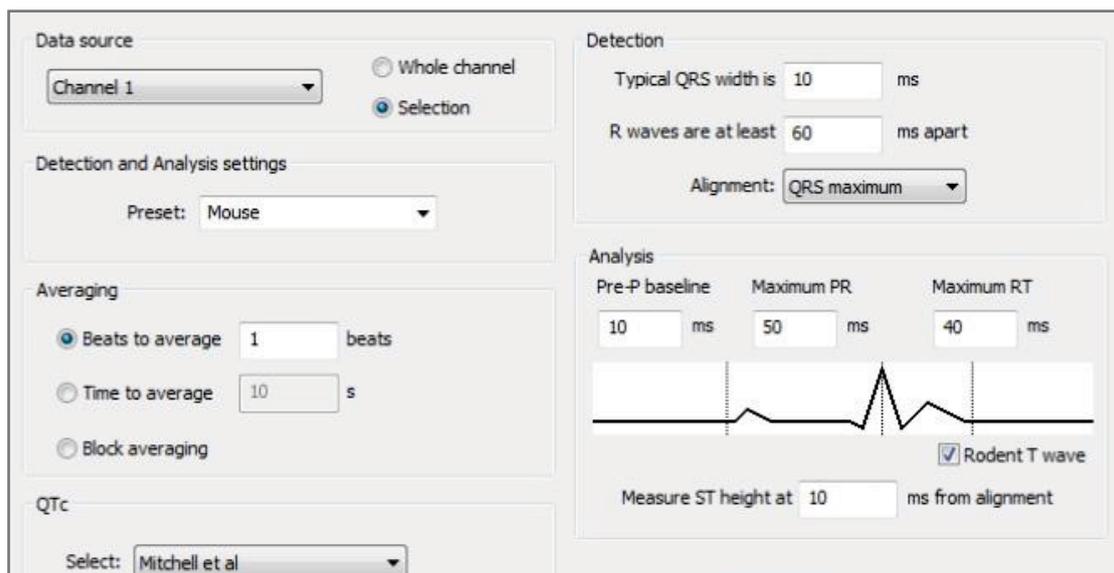
### 2.2.1 Auswertung der Elektrokardiogramme

Die Oberflächen-EKGs von 7 TASK-1<sup>+/+</sup> - und 11 TASK-1<sup>-/-</sup> -Mäusen gingen in die Analyse ein, wobei die Zugehörigkeit zum Genotyp vor der Analyse für den Untersucher verblindet wurden. Die Auswertung der EKGs erfolgte mit der Software LabChartPro<sup>®</sup> ECGAnalysis Version 2.1.1. von ADInstruments. Es wurde hierzu nur die qualitativ beste Ableitung II herangezogen. Zunächst wurden die EKGs mit einer Aufzeichnungsdauer von drei Minuten hinsichtlich der Qualität des Signals beurteilt. Alle EKGs wurden auf Rhythmusstörungen oder grobe Abweichungen der Signalmorphologie hin durchgesehen. Zur groben Orientierung wurden die EKGs anschließend durch das automatisierte Analysemodul der Software ausgewertet. Das Programm detektiert anhand individuell vorgegebener Kriterien den Beginn, den maximalen Ausschlag und das Ende der P-Welle, den Beginn, den maximalen Ausschlag und Ende des QRS-Komplexes, sowie den höchsten Punkt und das Ende der T-Welle. Um dem EKG-Zyklus der Maus gerecht zu werden, musste eine individuelle Voreinstellung gewählt werden.

Im Analysemodul wurden daher folgende, für die Maus passende Standards festgelegt:

- die typische QRS- Breite betrage 10 ms
- zwischen zwei R-Zacken liege mindestens ein Intervall von 60 ms
- einer P Welle gehe eine isoelektrische Linie von mindestens 10 ms Dauer vorher
- das maximale PR-Intervall betrage 50 ms und
- das RT Intervall sei maximal 40 ms.

Zur Analyse der Herzfrequenz war diese Methode geeignet, da regelrechte Kammerkomplexe zuverlässig erkannt wurden. Die Kennzeichnung erfolgte jeweils am größten positiven Ausschlag eines QRS-Komplexes. Lediglich Bewegungsartefakte und gröbere Schwankungen der Nulllinie führten zu fehlerhaften Messungen. Das korrekte Erkennen der weniger markanten P- und T-Welle gelang durch das Programm dagegen nicht zuverlässig. Um Aussagen über eventuelle Veränderungen in der Erregungsbildung, Erregungsausbreitung und Erregungsrückbildung zu treffen, war jedoch eine korrekte Zuordnung von atrialer Depolarisation sowie ventrikulärer Depolarisation und Repolarisation nötig. Somit diente die automatische Voranalyse einer ersten orientierenden Auswertung. Für eine korrekte Messung aller relevanten Intervalle wurde anschließend eine manuelle Analyse des EKGs durchgeführt.



**Abbildung 9** Einstellungen im Analysemodul LabChartPro® ECGAnalysis

### **2.2.1.1 Manuelle Auswertung der EKG-Zyklen**

Es wurde hierzu eine Sequenz innerhalb der drei Minuten ausgewählt, in der das EKG ein qualitativ zufriedenstellendes Signal ohne Bewegungsartefakte und mit stabiler Nulllinie zeigte. An einer solchen Stelle wurde die manuelle Analyse gestartet. Schläge, bei denen das EKG Signal den Qualitätskriterien nicht entsprach wurden von der Analyse ausgenommen und es wurde entsprechend erst der übernächste Schlag wieder ausgewertet. Zugeordnet und markiert wurden:

- *Start, Peak und Ende der P-Welle*
- *Start, Maximum (R Peak) und Ende des QRS-Komplexes*
- *Peak der T-Welle (siehe Anmerkung)*
- *Ende der T- Welle*

Hierbei wurden, angelehnt an die Standards der humanen EKG- Interpretation und unter Berücksichtigung der Besonderheiten des murinen EKGs, folgende Konventionen angelegt:

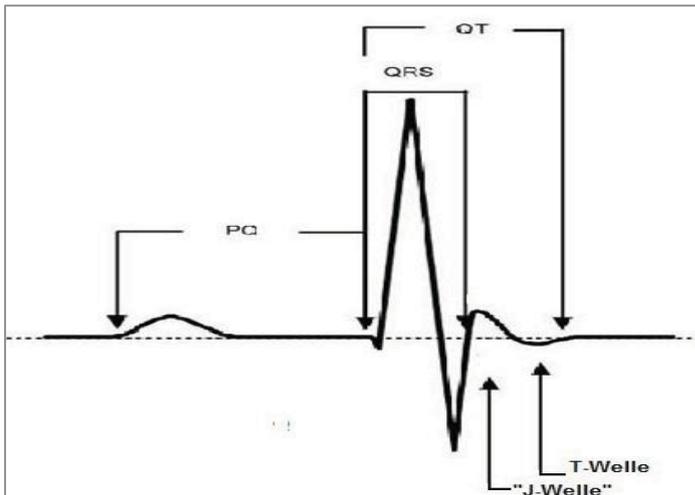
- Die P Welle ist in der verwendeten Ableitung II positiv und geht dem QRS-Komplex voraus.
- Der Start des QRS-Komplexes ist gekennzeichnet durch eine negative Q-Zacke, beziehungsweise dem Beginn des Aufstrichs der R-Zacke.
- Der positiven R-Zacke folgt in der Regel eine negative S-Zacke.

Bezüglich der oben genannten Parameter ist das Mäuse-EKG dem menschlichen sehr ähnlich, wenn sich auch der EKG-Zyklus, aufgrund der etwa zehnfach höheren Herzfrequenz, in anderen zeitlichen Dimensionen abspielt. Die ventrikuläre Repolarisationsphase unterscheidet sich im Mausmodell jedoch deutlich vom menschlichen EKG. Im humanen EKG gibt es anschließend an den Kammerkomplex einen Punkt, der das Ende der ventrikulären Erregungsausbreitung repräsentiert. Dieser sogenannten J-Punkt ist der Punkt in der Stromkurve, der den Übergang der S-Zacke in die isoelektrische ST-Strecke bildet. Die folgende deutlich abzugrenzende T-Welle ist Ausdruck der ventrikulären Repolarisation.

Im murinen EKG ist es schwieriger, das Ende des QRS-Komplexes sowie Beginn und Ende der repolarisationsgenerierten Welle zu unterscheiden, da eine isoelektrische ST-

Strecke fehlt. Dem QRS-Komplex schließt sich direkt eine zweite Welle an, welche in einigen Publikationen als „J-Welle“ bezeichnet wird und die klar der frühen Repolarisation zugeordnet ist [74]. Ein negativer Anteil (T-Welle), wie er entsprechend auch im humanen EKG zu erwarten ist, kann sich anschließen, kann aber vor allem bei nicht sedierten Mäusen auch fehlen [74].

In unseren an sedierten Mäusen abgeleiteten EKGs wurde als Ende des QRS-Komplexes



**Abbildung 10** Schematische Darstellung des abgeleiteten EKGs (Ableitung II nach Eindhoven)

der Punkt definiert, an dem die S-Zacke in die „J-Welle“ übergeht. Der sich anschließende Komplex aus „J-Welle“ und „T-Welle“ wurde durch die hier verwendete Software zur „Rodent T wave“, also einer für Nagetiere typische T-Welle zusammengefasst. Im Folgenden wird diese einfach als T-Welle bezeichnet. Entsprechend galten bei der Auswertung die Konventionen:

- Der QRS-Komplex endet mit Erreichen der Nulllinie nach der negativen S-Zacke und Übergang dieser in die „J-Welle“
- „J-Welle“ und „T-Welle“ werden zur „Rodent T wave“ zusammengefasst.
- Die Rückkehr der T-Welle zur Nulllinie kennzeichnet ihr Ende.

Auf Grundlage dieser standardisierten Kennzeichnung wurden folgende Intervalle berechnet:

- **RR Intervall:** Abstand zweier aufeinanderfolgender R-Zacken in ms
- **Herzfrequenz:** Anzahl der Herzschläge pro min (bpm)
- **P-Dauer:** Dauer der P-Welle in ms
- **PR Intervall:** Abstand vom Beginn der P-Welle bis zum Anfang der R-Zacke (bzw. Q-Zacke) in ms
- **QRS Intervall:** Abstand vom Beginn der Q- bzw. R-Zacke bis zum Ende der S-Zacke in ms



## **2.3 Telemetrische Elektrokardiographie**

### **2.3.1 Aufbau der Messeinheit**

Zur telemetrischen EKG Ableitung an der sich frei bewegenden Maus wurde ein kommerzielles Transmittersystem verwendet (Model TA10EA-F20, Data Sciences International, Minneapolis). Dieses registriert und verstärkt elektrische Potentialänderungen des Mäuseherzens mittels zweier Elektroden, die an der Herzspitze und der Herzbasis liegen, und mit dem intraperitoneal implantierten Transmitter verbunden sind. Die so erhaltenen Signale werden in Radiofrequenzsignale konvertiert und an einen Empfänger gesendet. Letzterer ist an eine Schalt-Matrix angeschlossen, die das Signal digital filtert und an einen Computer leitet. Dort werden die Daten akquiriert, gespeichert und optisch dargestellt, so dass die Überprüfung der Funktionsfähigkeit der Einheit gegeben ist. Außerdem ist mit diesem System auch eine orientierende Auswertung der Daten möglich. Zur exakteren Auswertung wurden die Daten jedoch anschließend konvertiert und mit der von Data Science International angebotenen Software Ponemah Physiology Platform<sup>®</sup> Version 4.60 bearbeitet.

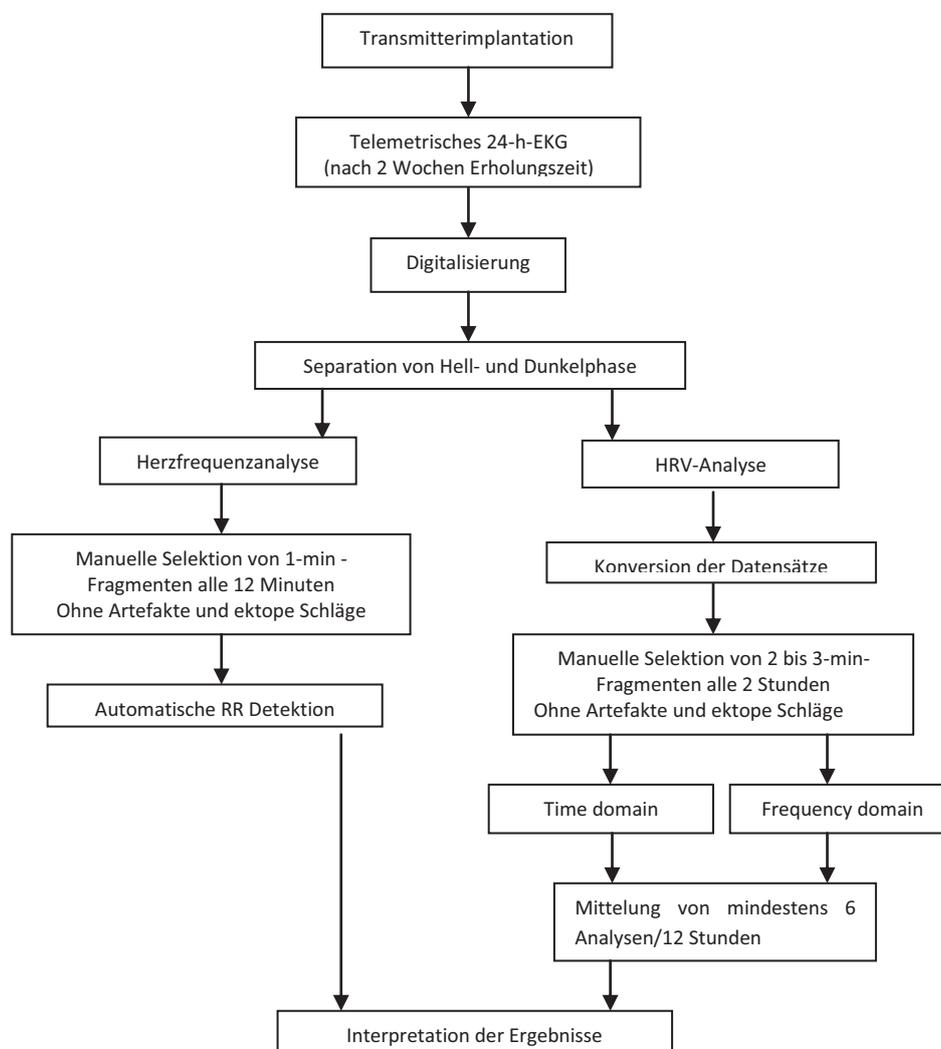
### **2.3.2 Implantation der Transmitter und Aufzeichnung des 24Stunden-EKGs**

Der chirurgische Eingriff wurde unter Allgemeinanästhesie mit 50 mg Ketamin und 20 mg Xylazin pro Kilogramm Körpergewicht, intraperitoneal injiziert, durch die Tierärztin Frau Martina Schullenberg durchgeführt. Hierbei wurden die Elektroden so platziert, dass das Signal der Ableitung II nach Einthoven entsprach. Nur adulte Mäuse (mindestens 8 Wochen alt) wurden mit einem Implantat versehen. Frühestens 10 Tage postoperativ, nach vollständigem Abklingen der Anästhetikaeinwirkung, erfolgte die Aufzeichnung eines 24h-EKGs. Hierzu wurde die oben beschriebene Messeinheit unter dem Käfig platziert und je Maus eine Zeitspanne von 24 Stunden aufgezeichnet. Der Tageszyklus aus jeweils 12 stündiger Hell- bzw. Dunkelphase wurde beibehalten.

### **2.3.3 Auswertung der 24-Stunden-EKGs**

Die Auswertung der 24h-EKGs erfolgte blind hinsichtlich des Genotyps und getrennt nach Tag- und Nachtzyklus, um den verschiedenen Aktivitätsniveaus der Tiere gerecht zu werden. Zur Ermittlung der minimalen, mittleren und maximalen Herzfrequenz

wurden alle 12 Minuten jeweils einminütige Segmente mithilfe der automatischen R-Zacken-Detektion ausgewertet. Auf diese Weise kamen pro Tier und 12 Stunden 60 einminütige Sequenzen zusammen, welche den gesamten Zeitraum gut repräsentieren. Diese Vorgehensweise war für eine valide Aussage nötig, da die automatische Schlagdetektion der Software über das gesamte Langzeit-EKG durch zu viele Artefakte überlagert war. Die minimale, mittlere und maximale Herzfrequenz jedes Tieres wurde anschließend für die Genotyp-vergleichende Statistik gemittelt. Die gesamte Zeitspanne wurde hinsichtlich auftretender Arrhythmien durchgesehen.



**Abbildung 12** Telemetrische 24-Stunden-EKGs zur Analyse von Herzfrequenz und Herzfrequenzvariabilität bei TASK-1<sup>+/+</sup>- und TASK<sup>-/-</sup>-Mäusen. Protokoll der Vorgehensweise bei der Auswertung.

## **2.4 Die Berechnung der Herzratenvariabilität (HRV)**

Bei der Analyse der HRV werden die Zeitbereichsanalyse und die Frequenzanalyse unterschieden. Im Folgenden werden die gebräuchlicheren, englischen Begriffe *Time Domain* und *Frequency Domain* verwendet.

### **2.4.1 Aufbereitung der Daten für die Analyse**

Die EKG-Aufzeichnungen von sechs TASK-1-defizienten und sechs Kontrollmäusen wurden zur vergleichenden HRV-Analyse herangezogen. Da die HRV zirkadianen Schwankungen unterliegt wurden die Hell -und Dunkelphasen getrennt ausgewertet. Zunächst wurden die Datensätze aus der PoNehMah<sup>®</sup> Software (Data Sciences International) in das Programm mit entsprechendem Analysemodul konvertiert (LabChart<sup>®</sup> HRV Module Vers. .2, ADInstruments). Dazu wurden zunächst der Tag- und Nachtanteil der bereits ausgewerteten EKGs separiert und die jeweiligen Rohdaten mit einer Abtastrate von 1000 Hz als ASCII-Datei kodiert und gespeichert. Der *American Standard Code for Information Interchange* (ASCII) ist eine 7-Bit-Zeichenkodierung; sie dient als Grundlage für spätere auf mehr Bits basierende Kodierungen für Zeichensätze. Anschließend erfolgte die Weiterverarbeitung mit Cygwin<sup>®</sup> (Version 1.5.25-15), nach welcher nur noch die bereinigten Rohmesswerte in chronologischer Reihenfolge übrig blieben. In einem letzten Schritt erfolgte die Umwandlung der ASCII-kodierten Datei in eine für LabChart<sup>®</sup> lesbare Text-Datei (\*.txt), die dann von letztgenanntem Programm als Rohdatensatz eingelesen werden konnte. Die einmal eingelesene Datei konnte dann im Chart<sup>®</sup>-typischen Format gespeichert (\*.adicht) und für beliebige Analysen genutzt werden.

#### **2.4.1.1 Manuelle Selektion von Fragmenten ohne Artefakte**

Arrhythmien, ektope Schläge und Artefakte müssen für eine valide Messung der HRV von der Analyse ausgeschlossen werden. Von besonderer Bedeutung ist dies für die Analyse der Frequency Domain, welche auf der schnellen Fourier-Analyse (*fast Fourier transformation* = FFT) basiert. Die FFT ist ein mathematisches Verfahren zur Umwandlung zeitbezogener in frequenzbezogene Daten. Dieses mathematisch-physikalische Verfahren setzt ein stationäres Signal voraus, welches im 12h-Langzeit-EKG der Maus so nicht gegeben ist. Daher wird empfohlen, mehrere kurze EKG Segmente zu analysie-

ren und anschließend einen Mittelwert zu bestimmen. Diese Segmente sollten ein stationäres Signal mit ruhiger Baseline zeigen, und frei von Artefakten und Ektopien sein [78].

Dem vorgeschlagenen Protokoll für die HRV-Analyse bei Mäusen folgend, wurden pro 12 Stunden mindestens sechs Sequenzen von zwei bis drei minütiger Dauer selektiert und einzeln der HRV-Analyse unterzogen [127]. Die Auswahl geeigneter EKG Fragmente erfolgte anhand mehrstufiger Kriterien. Im Zuge der automatischen Detektion der R-Zacken durch das EKG-Analysemodul wurden solche Schläge als nicht dem Sinusrhythmus zugehörig ausgeschlossen, die früher als 70 ms bzw. später als 214 ms auf den Vorherigen folgten. In einem zweiten Schritt wurden die Segmente manuell unter Berücksichtigung nachfolgender Kriterien ausgesucht:

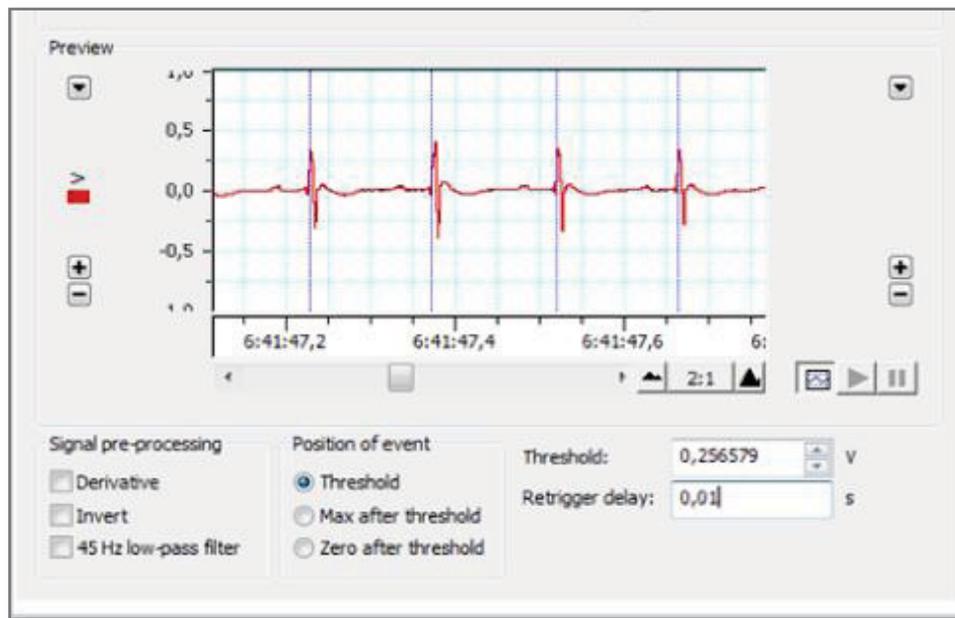
Eine stabile EKG Periode wurde definiert durch das Fehlen von Artefakten, ventrikulären Extrasystolen, Sinusknotenarrest und AV-Blockierungen. Außerdem wurde in den Tagableitungen darauf geachtet, dass nur solche Abschnitte ausgewählt wurden, in denen das Tier inaktiv war. Erkennbar war dies an fehlenden Bewegungsartefakten, sowie einer niedrigen Herzfrequenz, welche bei den meisten Individuen in Ruhe unter 500 Schlägen pro Minute lag. Daneben wurde auch darauf geachtet, dass die analysierten Sequenzen möglichst gleichmäßig über die 12 Stunden verteilt lagen, um eine Aussage über die längerfristige autonome Modulation zu treffen.

#### **2.4.1.2 Detektion der R-Zacken durch das HRV-Analysemodul**

Bevor die RR-Intervalle hinsichtlich ihrer Variation klassifiziert und statistische Untersuchungen in Time- und Frequency Domain gemacht können, musste das HRV-Analysemodul die Herzschläge erkennen, welche die Intervalle determinieren. Das EKG-Signal unterschied sich in Gestalt und Amplitude zwischen den Individuen. Um innerhalb der selektierten Frequenz eine lückenlose und fehlerfreie Detektion jeder R-Zacke zu gewährleisten, mussten daher individuelle QRS Bezugspunkte und Schwellenwerte festgelegt werden. Je nach Signalgestalt und war es nötig, das EKG-Signal einem sogenannten *Pre-Processing* zu unterziehen damit der Start eines jeden RR Intervalls korrekt erkannt werden konnte. Durch diesen Prozess wurden Störfrequenzen, welche die EKG-Nulllinie fluktuieren ließen, herausgefiltert.

Anschließend wurde für jedes zu analysierende EKG-Segment ein elektrischer Schwellenwert festgelegt, so dass pro Herzzyklus ein einzelner Schlag detektiert wurde. Über-

schritt das Signal diesen Schwellenwert von zum Beispiel 0,25 mV, wurde dies als aufsteigende R-Zacke gewertet und ein Eventmarker gesetzt. Für jeden EKG-Datensatz war somit gewährleistet, dass durch einen korrekt gesetzten QRS-Bezugspunkt valide Messungen des tatsächlichen RR-Abstands erfolgten. Die so ermittelten EKG-Daten liegen sowohl der *Time Domain*- (Tag- und Nachtanteil) als auch der *Frequency Domain* Analyse (Taganteil) zugrunde.



**Abbildung 13** Exemplarische Einstellungen zur R-Zacken-Detektion für die HRV-Analyse

#### 2.4.2 Analyse der Time domain

Für die Zeitbereichsanalyse wurden folgende Parameter getrennt für die 12-stündige Hell-, sowie für die 12-stündige Dunkelperiode berechnet:

- (1) Der mittlere Abstand zweier aufeinanderfolgender regulärer Herzschläge (*normal to normal* =NN),
- (2) Die Standardabweichung (*SD*) aller NN-Intervalle, welche die Gesamtheit der autonomen Variabilität reflektiert,

- (3) Der *RMSDD*-Wert, die Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen benachbarter NN-Intervalle. Dieser Parameter erfasst kurzfristige Variationen der Herzfrequenz.

$$\sqrt{\frac{(RR1 - RR2)^2 + (RR2 - RR3)^2 + \dots + (RRn - 1 + RRn)^2}{n}}$$

- (4) Der *pNN6*-Wert, der prozentuale Anteil aufeinanderfolgender NN-Intervalle, die mehr als 6 ms voneinander abweichen.

Dieser letzte Parameter *pNN6* ist ein Maß für die parasympathische Aktivität und orientiert sich am für den Menschen festgelegten *pNN50*, in dem 50 ms ca. 10 % des mittleren RR Intervalls entsprechen. Empirisch getestet, scheint die dieser *cutoff* Wert von 6 ms am besten geeignet, die parasympathische Aktivität bei der Maus zu evaluieren [127].

Parameter (Einheit)	Definition
<b><i>Mean NN (ms)</i></b>	mittlerer Abstand zweier regulärer Herzschläge (normal to normal)
<b><i>SDNN (ms)</i></b>	Standardabweichung aller NN-Intervalle
<b><i>RMSSD (ms)</i></b>	Die Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen sukzessiver RR-Intervalle (in ms)
<b><i>pNN6 (%)</i></b>	Anteil aufeinanderfolgender NN-Intervalle, die mehr als 6 ms voneinander abweichen

**Tabelle 3** Auszug aus den Parametern der Zeitbereichsanalyse (*Time Domain*)

### 2.4.3 Analyse der Frequency Domain

Die Analyse der *Frequency Domain* erfolgte innerhalb der 12 stündigen Inaktivitätsphase der Tiere, in welcher die das EKG-Signal störende Muskelaktivität auf ein Minimum reduziert war. Die selektierten Segmente wurden nach Detektion der R-Zacken (s.o) einzeln der Spektralanalyse unterzogen. Die hierfür nötige Umwandlung des zeitbezogenen Datensignals (RR-Abstände) in ein frequenzbezogenes Signal erfolgte über die schnelle Fourier-Analyse (*fast Fourier transformation* = FFT). Die Spektren wurden mit

einer FFT-Größe von 1025, *half overlap* und unter Verwendung des *Welch Windows* berechnet. Das resultierende Spektrum lässt sich in hochfrequente (HF), niedrigfrequente (LF) und sehr niedrigfrequente (VLF) Bereiche einteilen, welche Aussagen über den Anteil sympathischer beziehungsweise parasympathischer Modulation ermöglichen. Die für den Menschen festgelegten Grenzen der Frequenzbereiche mussten in deutlich höhere Frequenzbereiche verschoben werden, um eine gute Kalibrierung für die Maus zu erreichen. Basierend auf publizierten Studien der HRV bei Mäusen, wurde die HF auf den Bereich von 1,5 bis 5 Hz, und die LF auf den Bereich von 0,15 bis 1,5 Hz festgelegt. Der VLF wurde entsprechend der Frequenzbereich unter 0,15 Hz zugewiesen. Diese Bereichsdefinitionen haben sich bei der Maus als valide für die Messung der sympathischen und parasympathischen Komponenten der HRV erwiesen [127].

Untersucht wurde die Gesamtleistung (in  $ms^2$ ) (im Folgenden wird auch der Begriff *Total Power* verwendet), sowie die Leistung in den entsprechenden Frequenzbereichen. Zur Verdeutlichung des relativen Werts der jeweiligen Komponente an der Gesamtleistung wurden die LF und die HF jeweils als normierte Größen ausgedrückt betrachtet. Die Umrechnung in normierte Einheiten erfolgte durch Division der Leistung im jeweiligen Frequenzbereich durch die Gesamtleistung abzüglich der VLF.

(1) ***Total Frequency Power (TFP)***

Die TFP mit der Einheit  $ms^2$  ist definiert als Gesamtfläche unter der Kurve innerhalb aller Frequenzbereiche.

(2) ***High Frequency Power (HF)***

Die Leistung in der Hochfrequenz-Bande (Bereich zwischen 1,5 und 5 Hz)

(3) ***Low Frequency Power (LF)***

Die Leistung in der Niedrigfrequenz-Bande (Bereich zwischen 0,15 und 1,5 Hz)

(4) ***Very Low Frequency Power (VLF)***

Die Leistung im Frequenzbereich unter 0,15 Hz

Parameter (Einheit)	Definition
<b>TP (ms<sup>2</sup>)</b>	Gesamtleistung ( <b>T</b> otal <b>P</b> ower)
<b>HF (ms<sup>2</sup>)</b>	Power im Bereich der <b>H</b> igh <b>F</b> requency (1,5 – 5 Hz)
<b>HF (n.u.)</b>	HF Power in normierter Einheit [HF/(TP-VLF) x 100]
<b>LF (ms<sup>2</sup>)</b>	Power im Bereich der <b>L</b> ow <b>F</b> requency (0,15 – 1,5 Hz)
<b>LF (n.u.)</b>	LF Power in normierter Einheit [LF/(TP-VLF) x 100]
<b>VLF (ms<sup>2</sup>)</b>	Power im Bereich der <b>V</b> ery <b>L</b> ow <b>F</b> requency ( 0 – 0,15 Hz)
<b>LF/HF</b>	Verhältnis der LF zur HF

**Tabelle 4** Auszug aus den Parametern der Frequenzanalyse (*Frequency Domain*)

## 2.5 Heart rate turbulence (HRT) nach Myokardischämie

Zur Provokation der ventrikulären Extrasystolen diene ein durch Ischämie, beziehungsweise die darauffolgende Reperfusion, gesetzter unspezifischer Gewebsschaden, der neben dem Arbeitsmyokard auch das Reizleitungssystem betraf. Das 15 Tiere umfassende Kollektiv für dieses Experiment bestand aus acht Mäusen vom Genotyp TASK-1<sup>-/-</sup> und sieben ihrer TASK-1<sup>+/+</sup>-Wurfgeschwister. Dem bereits in anderen Studien publizierten operativen Vorgehen folgend, wurde im Myokard der Versuchstiere ein Ischämie-/Reperfusionsschaden induziert [101]. Unter orotrachealer Intubation und maschineller Beatmung erfolgte in einem ersten Eingriff die Implantation eines Transmitters zur EKG-Ableitung. Der Transmitter (Modell TA10EA-F20, Data Sciences International) wurde hierzu unter die Nackenhaut des Tieres implantiert, die zwei Elektroden durch einen subkutanen Tunnel nach vorne geführt und mit einer Naht im Bereich der rechten Schulter, beziehungsweise im Bereich der Herzspitze an der Brustmuskulatur fixiert. Anschließend wurde linksseitig im vierten Interkostalraum thorakotomiert, perikardiotomiert und das Herz freigelegt. Der Ramus interventricularis anterior der linken Koronararterie wurde identifiziert und mittels einer Fadenschleife für 40 Minuten okkludiert. Ein erkennbares Abblassen des Myokards zeigte den erfolgreichen Verschluss an. Für Narkose und Analgesie wurde

Pentobarbital (90mg/kg) als intraperitoneale Injektion sowie subkutan appliziertes Buprenorphin (0,05 – 0,1 mg/kg) verwendet.

Nach Wiedereröffnung des Gefäßes und Beendigung der Operation folgte eine 6-stündige Reperfusionzeit, in der die Mäuse extubiert und zurück in ihre Käfige gesetzt wurden. Während des gesamten Experiments wurde ein EKG aufgezeichnet, welches auch zur Überprüfung des erfolgreich gesetzten Myokardinfarktes diente. Die Eingriffe an den Tieren wurden durch die Tierärztin Frau Martina Schullenberg durchgeführt.

### **2.5.1 Auswertung der EKGs und Detektion ventrikulärer Extrasystolen**

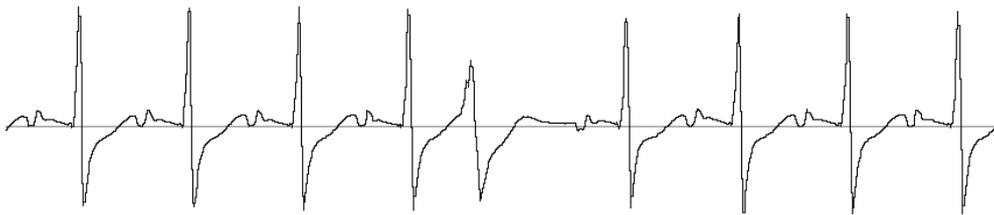
Zur Analyse der HRT wurde nur der während der 6-stündigen Reperfusion aufgezeichnete Abschnitt des EKGs herangezogen. Die Auswertung wurde mithilfe der Software Ponemah Physiology Platform<sup>®</sup> (Data Sciences International) durchgeführt. Hierzu wurden die EKG-Daten zunächst aus dem Datenakquisitionssystem in ein entsprechendes für Ponemah<sup>®</sup> lesbares Dateiformat (\*.raw) konvertiert. Im gleichen Arbeitsschritt erfolgte die Trennung der EKG-Abschnitte anhand der aus dem Versuchsprotokoll ersichtlichen Zeitangaben. So erhielt man für jedes Tier eine ca. 30-60 minütige EKG-Aufzeichnung vor Beginn der Ischämie, die Aufzeichnung während der 40 Minuten Ischämiezeit und schließlich das Langzeit-EKG über 6 Stunden während der Reperusionsphase.

Zunächst mussten die ventrikulären Extrasystolen detektiert werden. Im EKG-Analysemodul der Ponemah<sup>®</sup> Software wurde der gesamte Reperusionsabschnitt durchgesehen und anhand des Tachogramms jeder vorzeitige, von der aktuellen Grundfrequenz abweichende, Herzschlag für eine spätere Analyse markiert. In einem zweiten Schritt wurden Artefakte aussortiert und die vorzeitigen Schläge hinsichtlich des vermutlichen Entstehungsortes kategorisiert. In die Kalkulation eingeschlossen wurden dann nur solche Schläge, die eindeutig den unten genannten Kriterien einer ventrikulären Extrasystole (VES) entsprachen. Folgende Kriterien mussten erfüllt sein, damit eine VES für die Berechnung der HRT herangezogen wurde:

- verbreiteter (und deformierter) QRS-Komplex
- eine Vorzeitigkeit von mindestens 20%

- eine postextrasystolischen Pause, die um mindestens 20% länger als das Normalintervall ist
- ein Sinusrhythmus frei von Artefakten und Arrhythmien von  $\geq 3$  Sinusintervallen vor der VES und  $\geq 15$  Sinusintervallen nach der VES

Interpolierte VES ohne Einfluss auf den Sinusrhythmus sowie supraventrikuläre Extrasystolen wurden, den von Malik et al vorgeschlagenen Standards folgend, ausgeschlossen [78]. Es wurde zunächst ein Vergleich hinsichtlich der Anzahl aufgetretener VES zwischen den Genotypen gezogen, bevor die Heart Rate Turbulence berechnet wurde.



**Abbildung 14** Ventrikuläre Extrasystole aus dem 6-h-EKG nach Myokardischämie einer TASK-1<sup>-/-</sup>-Maus  
Verbreiter und deformierter QRS-Komplex, Kriterien der Vorzeitigkeit und der post-extrasystolischen Pause erfüllt.

### 2.5.2 Berechnung der HRT

Die Daten von 10 der 15 Tiere des Versuchskollektivs konnten in die Analyse der HRT verwendet werden. Drei Mäuse (darunter zwei TASK-1<sup>-/-</sup> und eine TASK-1<sup>+/+</sup>) verstarben vor Ende der sechs Stunden post Ischämie, so dass für diese Tiere keine mit dem Kollektiv vergleichbare sechs stündige EKG-Aufzeichnung zur Verfügung stand. Ausgeschlossen wurden desweiteren je eine TASK-1<sup>-/-</sup> - und eine TASK-1<sup>+/+</sup>- Maus, weil diese Individuen keine einzige ventrikuläre Extrasystole während der gesamten Aufzeichnungsdauer der Reperfusion aufwiesen.

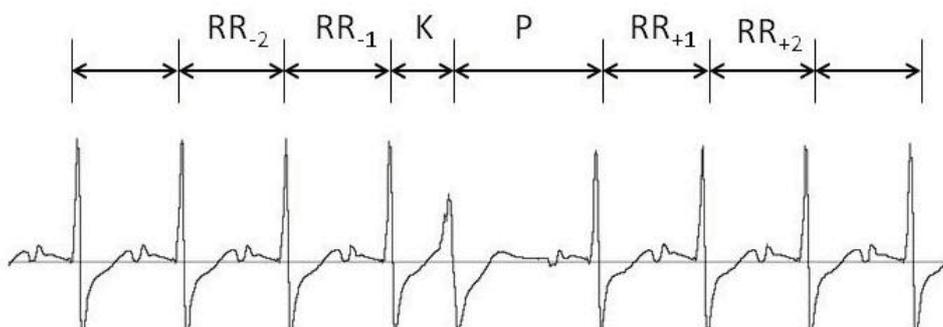
Die HRT wurde anhand der Änderung der RR-Abstände um eine ventrikuläre Extrasystole herum berechnet. Die Messungen im Analysemodul von Ponemah<sup>®</sup> erfolgten mit einer Genauigkeit von einer Millisekunde. Quantifiziert wurden die Frequenzänderungen durch die Parameter *Turbulence Onset (TO)* und *Turbulence Slope (TS)*.

### 2.5.2.1 Turbulence Onset (TO)

Der *Turbulence Onset (TO)*, entsprechend der prozentualen Änderung der Herzfrequenz unmittelbar nach der VES im Vergleich zur Herzfrequenz unmittelbar vor der VES, wurde nach der Formel

$$TO [\%] = ((RR_1 + RR_2) - (RR_{-2} + RR_{-1})) / (RR_{-2} + RR_{-1}) * 100$$

berechnet. Hierbei stellen  $RR_{-2}$  und  $RR_{-1}$  die beiden ersten Normalintervalle vor der ventrikulären Extrasystole (VES) und  $RR_1$  und  $RR_2$  die beiden ersten Normalintervalle nach der kompensatorischen Pause (P) dar. Das Schlagintervall vor der ventrikulären Extrasystole wird als Kopplungsintervall (K) definiert. Als Bezugspunkt für die Intervallmessung diente der größte positive Ausschlag der R-Zacke.



**Abbildung 15** Nomenklatur der Intervalle um eine VES

Ein Wert  $< 0\%$  des *Turbulence Onset* entsprach also eine Beschleunigung des Sinusrhythmus nach einer Extrasystole, ein Wert  $\geq 0\%$  bedeutete eine Verlangsamung des Sinusrhythmus nach einer Extrasystole. Da es sich beim *TO* um einen relativen Wert handelt, musste keine Frequenznormierung vorgenommen werden um auf normale, beziehungsweise pathologische Werte zu schließen. Wie auch beim Menschen wurden Werte  $< 0\%$  als normale Reaktion, Werte  $\geq 0\%$  als abnormale Reaktion gewertet.

### 2.5.2.2 Turbulence Slope (TS)

Der *Turbulence Slope (TS)* quantifiziert die allmähliche Verlangsamung der Herzfrequenz in der zweiten Phase der HRT-Antwort. Zur Berechnung des *TS* wurde die steilste Regressionsgerade einer Sequenz von fünf aufeinanderfolgenden Normalintervallen im gemittelten Tachogramm bestimmt. Hierzu wurden 15 RR-Intervalle (in ms) nach dem Triggerereignis zur Berechnung herangezogen. Weil die Normalwerte für den

*Turbulence Slope* sich auf den Menschen beziehen, wurde von Mersmann et al eine Normierung der Herzfrequenzen der Mäuse auf die menschliche Standardfrequenz von  $75 \text{ min}^{-1}$ , entsprechend eines RR-Intervalls von  $800 \text{ ms}$ , vorgeschlagen [84]. Für die Auswertung wurde daher jedes RR-Intervall ( $RR_x$ ) vor Berechnung des TS nach folgender Formel normiert:

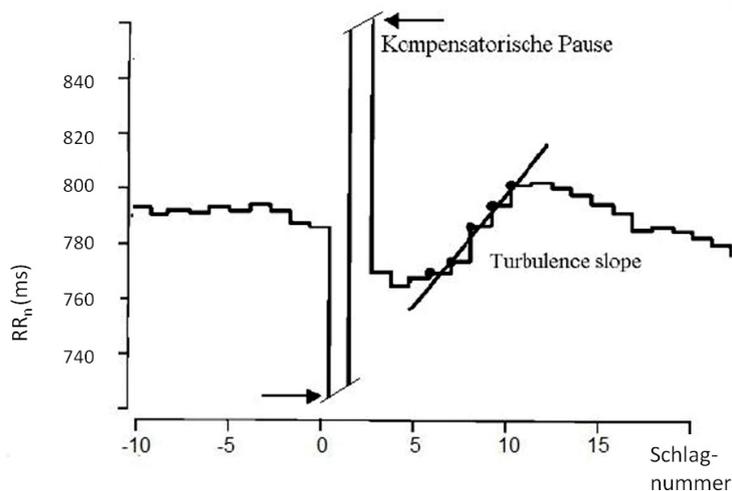
$$RR_n := RR_x / \left( \frac{RR_{-2} + RR_{-1}}{2} * 800 \text{ ms} \right) \quad \text{mit:}$$

$RR_n$  = normiertes RR-Intervall

$RR_{-2}$  bzw.  $RR_{-1}$  = die beiden der VES vorangehenden RR-Intervalle

Für diese normierten 15 RR-Intervalle ( $RR_n$ ) ergaben sich rein rechnerisch 11 mögliche Regressionsgeraden (Intervall 1-5, 2-6, 3-7, 4-8, 5-9, 6-10, 7-11, 8-12, 9-13, 10-14 und 12-15). Die Steigungen aller möglichen Geraden wurden in Excel<sup>®</sup> berechnet und der höchste der 11 Werte als *TS* verwendet. Aus der Steigungsfunktion ergibt sich für den *TS* die Einheit Millisekunden pro RR-Intervall (ms/RRI).

Der *Turbulence Slope* sollte bei adäquater Reaktion, entsprechend einer Zunahme der RR-Intervalldauer, positiv sein.



**Abbildung 16** *Turbulence Slope* im lokalen Tachogramm anhand normierter RR-Intervalle  
Modifiziert nach Schmidt et al [116].

## 2.6 Statistische Analyse

Im Ergebnisteil werden die Daten als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung einer bestimmten Anzahl Mäuse (n) angegeben, welche in den verschiedenen experimentellen Versuchsansätzen jeweils variiert. Die statistische Signifikanz wurde mit Hilfe des ungepaarten T-Tests ermittelt. Als statistisch signifikant wurde ein p-Wert  $< 0,05$  angenommen. Für die Berechnungen wurde das Programm GraphPad Prism<sup>®</sup> Version 5.02 verwendet.

## 2.7 Liste der verwendeten Geräte und Programme

### *Oberflächen-EKG:*

#### Akquisition

- Ambu<sup>®</sup> Blue Sensor NF, Ambu GmbH, Bad Nauheim, DE
- PowerLab<sup>®</sup> 8/30, ADInstruments Germany, Spechbach, DE
- Animal Bio Amp<sup>®</sup>, Model ML, ADInstruments Germany, Spechbach, DE

#### Auswertung

- PC mit Betriebssystem Windows Vista<sup>®</sup> Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE
- LabChartPro<sup>®</sup> Version 6.1.1 für Windows erweitert um ECGAnalysis Version 2.1.1., ADInstruments Germany, Spechbach, DE
- Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2007, Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE

### *Telemetrie/HRV-Analyse:*

#### Akquisition

- DSI DataQuest<sup>®</sup> A.R.T. Silver Version 4.0, Data Sciences International, St. Paul, Minnesota, USA
- PC mit Betriebssystem Windows XP<sup>®</sup>, Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE

- DSI PhysioTel<sup>®</sup> Transmitter, TA10EA-F20, Data Science International, St. Paul, Minnesota, USA
- DSI PhysioTel<sup>®</sup> Receiver RPC-1, Data Science International, St. Paul, Minnesota, USA

#### Auswertung

- PC mit Betriebssystem Windows XP<sup>®</sup>, Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE
- DSI P3 Raw Convert<sup>®</sup>, Version 1.0, Data Sciences International, St. Paul, Minnesota, USA
- DSI PoNeMah Physiology Platform<sup>®</sup> Vers. 4.60, Real Time Analysis Module ECG, Data Science International, St. Paul, Minnesota, USA
- Cygwin<sup>®</sup> Version 1.5.25-15, Red Hat Europe, Grasbrunn, DE
- PC mit Betriebssystem Windows Vista<sup>®</sup> Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE
- LabChartPro<sup>®</sup> Version 6.1.1 für Windows erweitert um ECGAnalysis Version 2.1.1., ADInstruments Germany, Spechbach, DE
- LabChart<sup>®</sup> HRV Module Version 1.2, ADInstruments Germany, Spechbach, DE
- Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2007, Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE

#### *HRT-Analyse:*

- DSI PoNeMah Physiology Platform<sup>®</sup> Vers. 4.60, Real Time Analysis Module ECG, Data Science International, St. Paul, Minnesota, USA
- Microsoft Office Excel<sup>®</sup> 2007, Microsoft Deutschland GmbH, Unterschleißheim, DE

#### *Statistik:*

- GraphPad Prism<sup>®</sup> Version 5.02 für Windows, GraphPad Software, San Diego, California, USA

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Körperindices

Zur Bestimmung der Körperindices wurden 16 TASK-1<sup>-/-</sup> und 15 Littermate-Mäuse untersucht. Als Parameter wurden Geschlecht, Körpergewicht, Herzgewicht, Herz/Körpergewicht-Ratio und Herzgewicht/Tibia-Ratio ausgewertet. Wie zu erwarten, waren männliche Tiere im Durchschnitt schwerer als ihre weiblichen Wurfgeschwister. Auch das durchschnittliche Herzgewicht differierte mit 0,2 g versus 0,15 g zwischen den Geschlechtern. Bei der Auswertung der Tibialänge bestätigte sich die anerkannte Annahme, dass dieser Parameter zwischen den Geschlechtern nur wenig abweicht. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied der Tibialänge zwischen den männlichen und weiblichen Versuchstieren.

Um trotz der geschlechtsspezifischen Differenzen eine gute Vergleichbarkeit der Genotypen zu gewährleisten wurden männliche und weibliche Genotypen in ausgeglichenerm Verhältnis in die Versuchsreihen mit einbezogen. Keiner der Parameter zeigte einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den Genotypen. Insbesondere die vom Lebensalter unabhängige, und auch zwischen den Geschlechtern sowie Tieren aus unterschiedlichen Wurfstärken vergleichbare Messgröße Herzgewicht zu Tibia Ratio war zwischen den Genotypen absolut vergleichbar. Es gab keinen Anhalt für eine sich messbar auf das Herzgewicht auswirkende Herzhypertrophie bei TASK-1-defizienten Mäusen. TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse zeigten keine Anzeichen für eine kardial bedingte Wachstumsrestriktion oder Kachexie.

	<i>männlich</i> (n =15)	<i>weiblich</i> (n =16)	
Körpergewicht (g)	39,1± 5,1	30,6 ± 6,9	**
Herzgewicht (g)	0,2 ± 0,02	0,15 ± 0,03	**
Tibiallänge (cm)	1,81 ± 0,03	1,82 ± 0,03	n.s.
HG/KG	0,005 ± 0,0006	0,005 ± 0,0008	n.s.
HG/TL	0.111 ± 0.012	0.084 ± 0.004	**

**Tabelle 5** Gewichtsanalytische Parameter - Vergleich Geschlechter  
\*\* p < 0,0005

	<i>TASK-1<sup>+/+</sup></i> (n = 15, 7w/8m)	<i>TASK-1<sup>-/-</sup></i> (n = 16, 9w/7m)	
Körpergewicht (g)	33.3 ± 7.7	36.5 ± 6.7	n.s.
Herzgewicht (g)	0,17 ± 0,04	0,18 ± 0,03	n.s.
Tibiallänge (cm)	1,81 ± 0,03	1,82 ± 0,04	n.s.
HG/KG	0.005 ± 0.001	0.005 ± 0.001	n.s.
HG/TL	0.091 ± 0.022	0.101 ± 0.017	n.s.

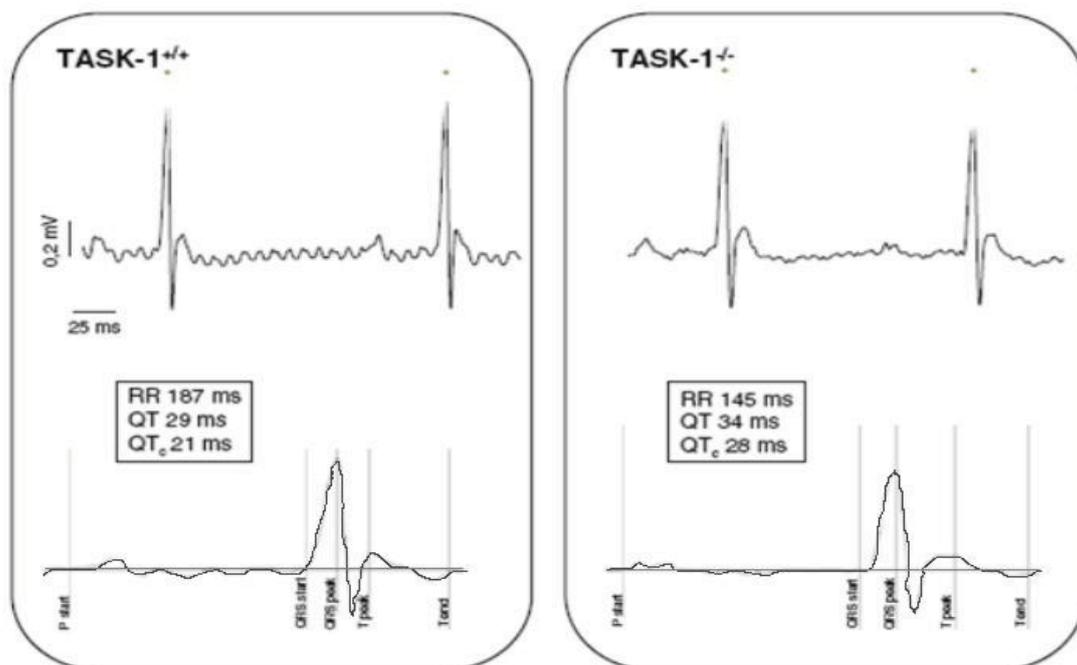
**Tabelle 6** Gewichtsanalytische Parameter – Vergleich Genotypen  
HG Herzgewicht, KG Körpergewicht, TL Tibiallänge. Mittelwert ± SD, n.s. nicht signifikant

### 3.2 Analyse der Oberflächen-EKGs

Zur Analyse der Zeitintervalle im elektrischen Herzzyklus wurden unter Sedierungen mit Ketamin und Xylazin Kontakt-EKGs aufgezeichnet. Zur Auswertung wurde nur die qualitativ beste Ableitung (Abl. II) verwendet. Für jedes Tier wurden über 70 konsekutive Herzschläge folgende Parameter ermittelt:

- **Herzfrequenz**
- **P-Dauer**
- **PR Intervall**
- **QRS Intervall**
- **QT-Zeit**
- **QT<sub>c</sub>** nach Mitchell[87]

TASK-1<sup>-/-</sup>-Knockout-Mäuse zeigten während der Ableitung der Oberflächen-EKGs eine signifikant höhere Herzfrequenz im Vergleich zu ihren TASK-1<sup>+/+</sup> Wurfgeschwistern. Eine mittlere Herzfrequenz von  $310 \pm 38 \text{ min}^{-1}$  bei den Wildtypen stand einer mittleren Frequenz von  $402 \pm 82 \text{ min}^{-1}$  bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Tieren gegenüber. Die Dauer der P-Welle und das QRS Intervall unterschied sich nicht zwischen den beiden Gruppen, während das PR Intervall im Vergleich bei den TASK-1<sup>-/-</sup> Mäusen geringfügig verlängert war. Die korrigierte QT-Zeit (QT<sub>c</sub>) war bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Tieren mit  $26,3 \pm 3 \text{ ms}$  im Vergleich zur Kontrollgruppe mit  $22,8 \pm 1,5 \text{ ms}$  signifikant verlängert, was auf eine Rolle von TASK-1 bei der kardialen Repolarisation hindeutet. Die Untersuchung der kumulativen Verteilung aller ausgemessenen QT<sub>c</sub> in dieser Gruppe ergab darüber hinaus, dass jede Maus mit einer QT<sub>c</sub> über 27 ms eine TASK-1<sup>-/-</sup>-Maus war.



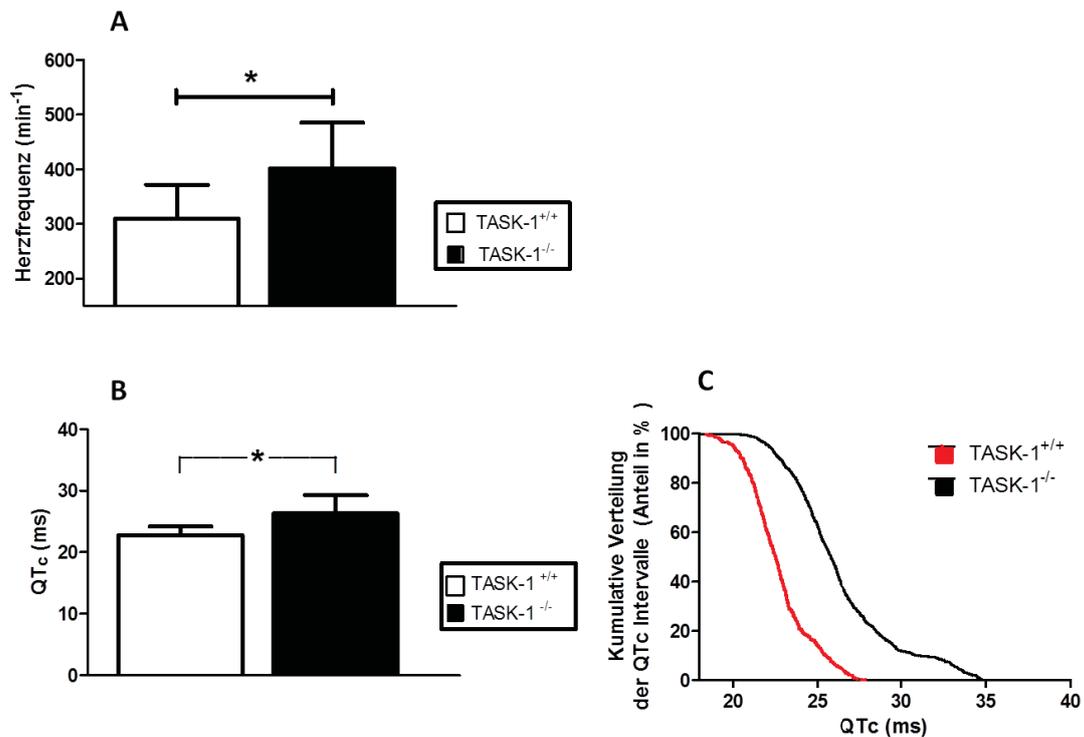
**Abbildung 17** Manuelle Analyse der Oberflächen-EKGs.

Exemplarische EKG-Aufzeichnung von TASK-1<sup>+/+</sup> (li) und TASK-1<sup>-/-</sup> (re) mit den entsprechenden Zeitmessungen (kleiner Kasten).

	<i>TASK-1</i> <sup>+/+</sup> (n = 7)	<i>TASK-1</i> <sup>-/-</sup> (n = 11)	
HF (min <sup>-1</sup> )	310 ± 62	402 ± 83	*
P Welle, Dauer (ms)	8.5 ± 1.4	8.5 ± 1.7	n.s.
PR Intervall (ms)	43.6 ± 4.0	47.6 ± 2.2	*
QRS Intervall (ms)	11.9 ± 0.7	11.8 ± 0.7	n.s.
QT <sub>c</sub> Intervall (ms)	22,8 ± 1.5	26,3 ± 3	*

**Tabelle 7** Intervalle im Oberflächen-EKG.

Analyse von 70 konsekutiven Herzschlägen. Dargestellt sind Mittelwert ± Standardabweichung. *TASK-1*<sup>-/-</sup>-Mäuse zeigen im Vergleich zum Wildtyp eine signifikant höhere Herzfrequenz sowie eine verlängerte QT-Zeit. Auch das PR-Intervall ist bei *TASK-1*<sup>-/-</sup> verlängert. \*p < 0,05



**Abbildung 18** Vergleichende Analyse der Oberflächen-EKGs: Grafische Darstellung der Ergebnisse

Auswertung von 70 konsekutiven EKG-Zyklen.

**A:** Signifikant höhere Herzfrequenz bei *TASK-1*<sup>-/-</sup>-Tieren. Dargestellt sind Mittelwert ± Standardabweichung. (402 ± 83 min<sup>-1</sup> vs. 310 ± 62 min<sup>-1</sup>)

**B:** Signifikant verlängerte korrigierte QT-Zeit, QT<sub>c</sub> nach Mitchell[87]. Dargestellt sind Mittelwert ± Standardabweichung. (22,8 ± 1.5 ms *TASK-1*<sup>+/+</sup> vs. 26,3 ± 3 bei *TASK-1*<sup>-/-</sup>)

**C:** Kaplan-Meier-Kurve zur Verdeutlichung der kumulativen Verteilung der QT<sub>c</sub>-Intervalle. Jedes QT<sub>c</sub>-Intervall über 27 ms gehört zu einer *TASK-1*<sup>-/-</sup>-Maus.

(n = 7/11 \*p < 0,05)

### 3.3 Telemetrische Elektrokardiographie und Analyse der HRV

Anhand von telemetrischen EKG-Aufzeichnungen über einen Zeitraum von 24 Stunden wurden die Herzfrequenz sowie die Herzfrequenzvariabilität der TASK-1<sup>+/-</sup>- und TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse untersucht. Die Auswertung der Langzeit-EKGs erfolgte getrennt nach Tag- und Nachtzyklus, um aktive und inaktive Phasen getrennt beurteilen zu können.

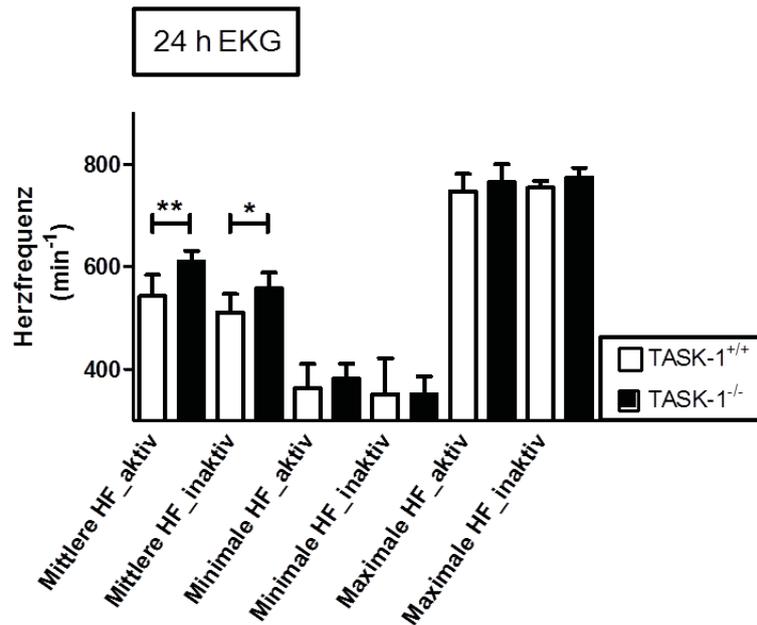
#### 3.3.1 Ergebnisse für die Herzfrequenz

Im Beobachtungszeitraum von 24 Stunden hatten die TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse im Vergleich zur Kontrollgruppe eine signifikant höhere mittlere Herzfrequenz. Besonders akzentuiert war dieser Unterschied in der mittleren Herzfrequenz in Phasen körperlicher Aktivität, also während der 12 stündigen Dunkelheitsphase. TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäuse hatten während dieser 12 Stunden im Durchschnitt eine Frequenz von 543 Herzschlägen pro Minute. Demgegenüber stand die signifikant höhere Frequenz von 611 pro Minute bei der durchschnittlichen TASK-1<sup>-/-</sup>-Maus. In der inaktiven Phase wurde für die TASK-1-defizienten Mäuse eine durchschnittliche Herzfrequenz von 557 pro Minute ermittelt. Die Gruppe der Wurfgeschwister kam auf einen Durchschnittswert von nur 510 pro Minute. Für die minimale und maximale Herzfrequenz der Tiere wurde hingegen kein Unterschied zwischen den Genotypen gefunden.

	<b>Aktiv</b>			<b>Inaktiv</b>		
	TASK-1 <sup>+/+</sup>	TASK-1 <sup>-/-</sup>		TASK-1 <sup>+/+</sup>	TASK-1 <sup>-/-</sup>	
Mittlere Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	543 ± 15	611 ± 9	**	510 ± 13	557 ± 12	*
Minimale Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	363 ± 17	381 ± 12	n.s.	350 ± 25	350 ± 14	n.s.
Maximale Herzfrequenz (min <sup>-1</sup> )	747 ± 14	765 ± 16	n.s.	754 ± 6	774 ± 9	n.s.

**Tabelle 8** Ergebnisse der Herzfrequenzanalyse im 24h-EKG von TASK-1<sup>+/-</sup>- und TASK-1<sup>-/-</sup>- Mäusen.

Getrennt nach Aktivitätsniveau in Nacht- und Taganteil.  
n=8 TASK-1<sup>+/+</sup> und 6 TASK-1<sup>-/-</sup>, \*p < 0,05, \*\*p < 0,005



**Abbildung 19** Herzfrequenz von TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäusen und TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen im 24h-EKG. Dargestellt sind Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung der mittleren, minimalen und maximalen Herzfrequenz im Vergleich zwischen den Genotypen, sowie aufgetrennt nach Aktivitäts- und Inaktivitätsphase. Deutlich signifikant ist der Unterschied der mittleren Herzfrequenz während der aktiven Phase ( $543 \pm 15$  für TASK-1<sup>+/+</sup> vs.  $611 \pm 9$  für TASK-1<sup>-/-</sup>). Auch während der inaktiven Phase wurde bei TASK-1<sup>-/-</sup> eine signifikant höhere Herzfrequenz gefunden ( $510 \pm 13$  für TASK-1<sup>+/+</sup> vs.  $557 \pm 12$  für TASK-1<sup>-/-</sup>). Keine signifikante Abweichung besteht dagegen bezüglich der minimalen und maximalen Herzfrequenzen, welche die Tiere über die Langzeitmessung zeigten. (n=8 TASK-1<sup>+/+</sup> und 6 TASK-1<sup>-/-</sup>, \*p < 0,05, \*\*p < 0,005)

### 3.3.2 Herzfrequenzvariabilität (HRV)

Die Analyse der Herzfrequenzvariabilität erfolgte anhand der telemetrisch aufgezeichneten 24 Stunden EKGs von sechs TASK-1<sup>+/+</sup>- und sechs TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen. In EKG-Segmenten ohne Artefakt generierte Signalschwankungen wurden die Parameter der *Time Domain* und *Frequency Domain* erfasst.

#### 3.3.2.1 Time Domain

Die Analyse der *Time Domain* bestätigte, dass die mittleren RR-Abstände bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen signifikant kürzer waren als bei ihren Wurfgeschwistern, sie also auch in dieser Untersuchung eine höhere mittlere Herzfrequenz aufwiesen. Der Wert für die Standardabweichung aller regulären RR-Intervalle (NN Intervalle), SDNN, welcher ein Maß für die Gesamtheit der autonomen Variabilität darstellt, war bei den TASK-1-defizienten Tieren signifikant niedriger. Dieses Ergebnis deutet auf eine global redu-

zierte Herzratenvariabilität der TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse im Vergleich zur Kontrollgruppe hin. Die Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen benachbarter NN-Intervalle (*RMSSD*) und der prozentuale Anteil aufeinanderfolgender NN-Intervalle, die mehr als 6 ms voneinander abweichen (*pNN6*) sind Maßzahlen für die schnellen (hochfrequenten) Schwankungen der Herzfrequenz. Beide Parameter waren bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen sowohl während der aktiven Nachtphase als auch am Tage signifikant kleiner als bei den TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäusen (Tabelle 9). Diese geringeren Werte indizieren einen verminderten Einfluss des Parasympathikus auf die Herzaktion der TASK-1-defizienten Tiere.

Nacht (aktiv)	TASK-1 <sup>+/+</sup>	TASK-1 <sup>-/-</sup>		Tag (inaktiv)	TASK-1 <sup>+/+</sup>	TASK-1 <sup>-/-</sup>	
Mean NN (ms)	113±6	100±4	**	Mean RR (ms)	127±6	111±6)	**
SDNN (ms)	9±1	3±1	***	SDNN (ms)	7±1	4±1	**
RMSSD (ms)	9±3	2±1	**	RMSSD (ms)	7±1	3±1	***
pNN6 (%)	29±2	1±1	***	pNN6 (%)	36±5	5±3	***

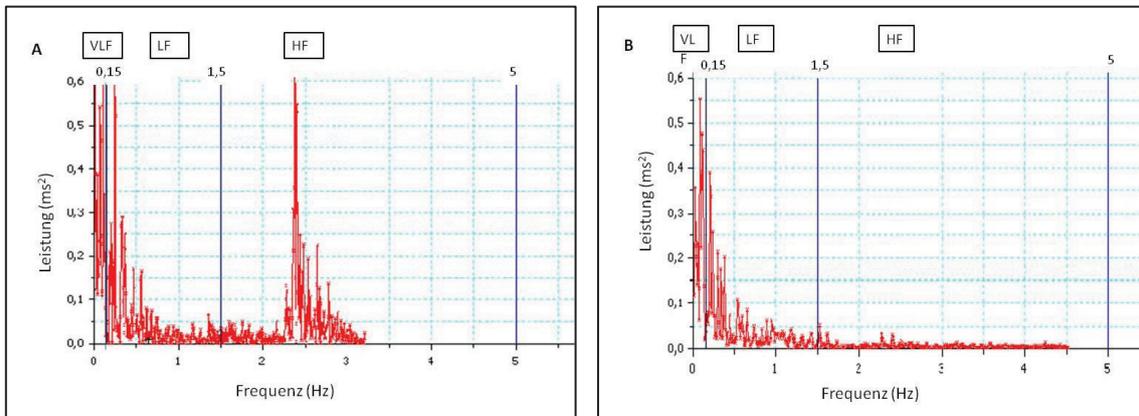
**Tabelle 9** Herzfrequenzvariabilität: Ergebnisse in der Time Domain

TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse zeigen eine deutlich geringere Gesamtvariabilität (SDNN). Die Indikatoren parasymphathischer Aktivität (RMSSD und pNN6) sind hoch signifikant niedriger als bei den TASK-1<sup>+/+</sup>-Wurfgeschwistern. Mean NN: Mittelwert aller „normal-to-normal“-Intervalle), SDNN: Standardabweichung aller „normal-to-normal“-Intervalle, RMSSD: Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen benachbarter NN-Intervalle, pNN6: prozentualer Anteil aufeinanderfolgender NN-Intervalle, die mehr als 6 ms voneinander abweichen. n=6/6, \*\* p < 0,002, \*\*\* p < 0,0001

### 3.3.2.2 Frequency Domain

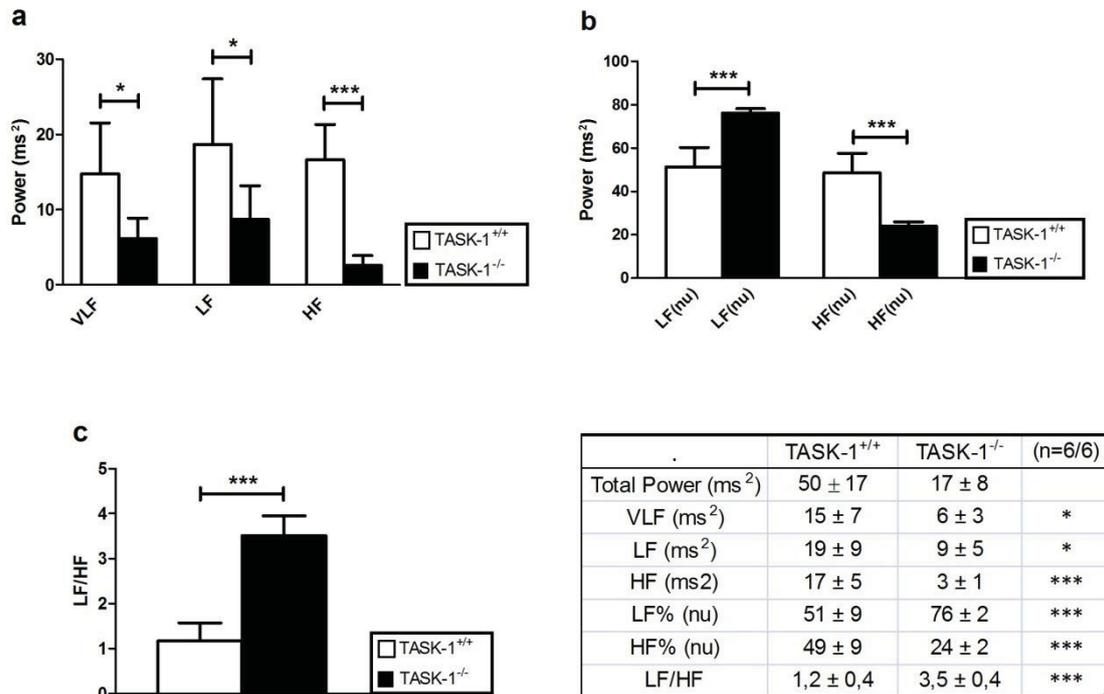
Die Analyse der *Frequency Domain* in den 12h-EKGs der hellen Phase ergab, dass TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse in allen der drei untersuchten Frequenzbereichen eine signifikant geringere Leistung zeigten. Diese verringerte Gesamtleistung (*Total Power* in ms<sup>2</sup>) zeigt in Übereinstimmung mit der reduzierten Standardabweichung aus der *Time Domain* eine global reduzierte Herzfrequenzvariabilität an. Auch das Muster der Leistungsdichtespektren unterschied sich zwischen den Genotypen. Die Leistung in der Hochfrequenzbande (HF) war bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Tieren reduziert, wie in Abbildung 19 exemplarisch dargestellt. Für die quantitative Erfassung dieses Unterschieds über einen längeren Zeitraum wurden für alle Parameter der *Frequency Domain* pro Tier mindestens sechs 3-Minuten-Analysen pro 12 Stunden gemittelt. Es zeigte sich, dass die

TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse im Vergleich mit ihren Wurfgeschwistern neben der geringeren Gesamtleistung vor allem eine signifikant niedrigere Leistung in der Hochfrequenz-Bande aufwiesen. Besonders deutlich wird dieses Ungleichgewicht, wenn man die Leistung in Niedrigfrequenz- (LF) und Hochfrequenz-Bande (HF) in normierten Größen ausdrückt. Die normierte *HF-Power*, die überwiegend den parasympathisch gesteuerten Anteil der Herzratenvariabilität repräsentiert, war bei den TASK-1-defizienten Mäusen signifikant reduziert. Die normierte *LF-Power*, welche unter Einfluss sowohl des sympathischen als auch des parasympathischen Systems steht, war dagegen bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen im Vergleich zu den Littermates signifikant erhöht. TASK-1-defiziente Mäuse zeigen also im Vergleich zu genetisch unbeeinträchtigten Tieren eine reduzierte Herzratenvariabilität mit betonter Reduktion des parasympathischen Anteils. Das Verhältnis LF/HF reflektiert die sympathovagale Balance in der HRV. TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse wiesen eine signifikant erniedrigte LF/HF-Relation auf, ein Ergebnis, das ebenfalls auf ein relatives Übergewicht des Sympathikus hinweist. Die Tabelle in Abbildung 20 zeigt die Ergebnisse der frequenzbezogenen HRV-Analyse im Detail.



**Abbildung 20** Herzfrequenzvariabilität: Repräsentative Leistungsdichtespektren der Frequenzanalyse

Abgebildet ist die Analyse eines 3-Minuten-Segments des Langzeit-EKGs einer TASK-1<sup>+/+</sup>-Maus (A) und einer TASK-1<sup>-/-</sup>-Maus (B). Das resultierende Spektrum wurde für die Analyse in 3 Frequenzbänder unterteilt: Die „Very Low Frequency“ (VLF) von 0-0,15 Hz, die „Low Frequency“ (LF) von 0,15-1,5 Hz und die „High Frequency“ (HF) von 1,5-5 Hz. Die Leistung in der LF leitet sich sowohl von parasympathischer als auch von sympathischer Aktivität ab, während die HF die parasympathisch gesteuerte Komponente der HRV repräsentiert. Wie in diesem Beispielspektrum weisen TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse eine deutlich niedrigere Leistung im Bereich der HF auf, was auf eine verminderte parasympathische Komponente der Herzratenvariation hindeutet.



**Abbildung 21** Herzfrequenzvariabilität bei TASK<sup>+/+</sup>- und TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen: Grafische Darstellung der Ergebnisse.

Analyse der Frequency Domain anhand telemetrisch aufgezeichneter 12-Stunden-EKG. **a** Die Frequenzbänder wurden auf die Bereiche VLF (0-0,15 Hz), LF (0,15-1,5 Hz) und HF (1,5-5 Hz) festgelegt. TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse zeigten in allen drei Bereichen eine signifikant geringere Leistung. **b** Darstellung der LF und HF normiert auf die Gesamtleistung abzüglich der VLF: Hier wiesen die TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse im Vergleich mit ihren TASK<sup>+/+</sup>-Wurfgeschwistern einen signifikant höheren Wert für die LF-Komponente und einen signifikant niedrigeren Wert für die HF-Komponente auf. **c** Das Verhältnis LF/HF war bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Tieren signifikant größer. (n=6/6, \*p < 0,05, \*\*\* p < 0,0001)

### 3.4 Heart Rate Turbulence nach Myokardischämie

Die Anzahl ventrikulärer Extrasystolen innerhalb der sechsständigen Reperusionsphase nach Myokardischämie variierte zwischen den Individuen von 1 bis 14. Drei Tiere wurden von der Auswertung ausgeschlossen, da sie kurze Zeit nach Ende der Ischämiezeit verstarben, und somit für diese Tiere keine mit dem Kollektiv vergleichbare sechsständige EKG-Aufzeichnung zur Verfügung stand. Hierunter waren zwei Knockout-Mäuse und eine Wildtyp-Maus. Es gab keinen Hinweis auf einen Unterschied zwischen TASK-1<sup>+/+</sup>- und TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen hinsichtlich des Auftretens von ventrikulären Extrasystolen als Reaktion auf eine Myokardischämie.

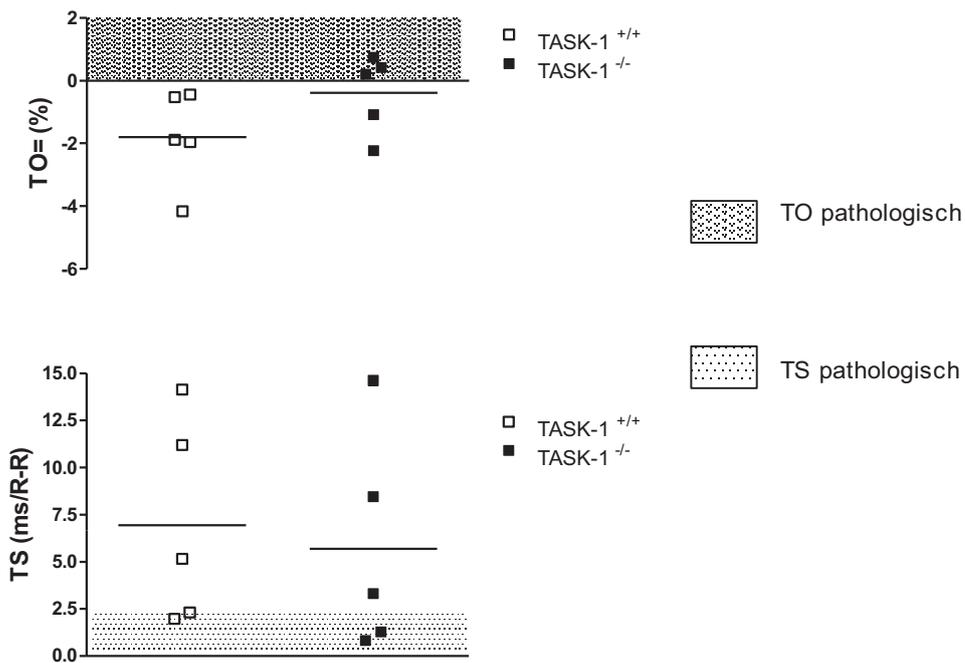
	VES	Couplets	TASK-1 <sup>+/+</sup> (n=5)	TASK-1 <sup>-/-</sup> (n=5)	
<b>TASK-1<sup>+/+</sup></b> (n=5)					
<b>1</b>	9	1			
<b>2</b>	6	0			
<b>3</b>	5	0			
<b>4</b>	6	0			
<b>5</b>	14	2			
<b>TASK-1<sup>-/-</sup></b> (n=5)					
<b>1</b>	7	0			
<b>2</b>	5	0			
<b>3</b>	10	3			
<b>4</b>	1	0			
<b>5</b>	5	0			
			<b>VES</b>	8 ± 3,7	5 ± 3,7    n.s.

**Tabelle 10** Ventrikuläre Extrasystolen nach Myokardischämie  
Zwischen den Genotypen wurde kein signifikanter Unterschied in der mittleren Anzahl ventrikulärer Extrasystolen pro 6 Stunden gefunden.

Für die beiden Parameter der Heart Rate Turbulence konnte kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen gefunden werden. Für den Turbulence Onset (TO) als Parameter für die initiale Reaktion auf eine vorzeitige Ventrikelkontraktion ergab sich für die TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäuse im Mittel ein Wert von -1,8% bei einer Standardabweichung von ± 0,67%. Die interindividuelle Spannweite in dieser Gruppe lag zwischen einem Turbulence Onset von minimal - 0,44% bis maximal - 4,16%. Alle Tiere lagen somit bei einem TO < 0%, was einer normalen Reaktion entspricht.

Die TASK-1<sup>-/-</sup> Mäuse kamen im Mittel auf einen TO von - 0,39% bei einer Standardabweichung von 0,56%. Es fiel auf, dass für drei der fünf TASK-1<sup>-/-</sup> Mäuse ein TO > 0% errechnet wurde, was einer Herzfrequenzverlangsamung (RR-Intervall-Verlängerung) entspricht. Definitionsgemäß gilt ein Wert von 0% als Cut-off zur Abgrenzung einer normalen Reaktion mit einem TO < 0% von einer pathologischen Reaktion mit einem TO > 0%. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich also ein Trend ablesen, dass TASK-1<sup>-/-</sup> - Mäuse häufiger einen pathologischen Wert für den TO aufweisen als TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäuse. Diese Beobachtung ist jedoch statistisch nicht signifikant.

Der mittlere Turbulence Slope (TS) normiert auf eine humane Standardfrequenz von 75 min<sup>-1</sup> lag im Mittel bei den Wildtyp-Mäusen minimal und statistisch nicht signifikant höher als bei den TASK-1-defizienten Mäusen. Zusammenfassend ergab sich aus der Untersuchung der HRT somit kein sicherer Anhalt für eine reduzierte Baroreflexaktivität bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen.



**Turbulence Onset TO (%)**

**Turbulence Slope TS (ms/RR-Intervall)  
\*frequenznormiert**

TASK-1 <sup>+/+</sup> (n=5)	TASK-1 <sup>-/-</sup> (n=5)		TASK-1 <sup>+/+</sup> (n=5)	TASK-1 <sup>-/-</sup> (n=5)
-4,16	0,2	1	14,14	0,81
-0,44	-2,24	2	2,3	8,46
-0,53	-1,08	3	1,97	14,62
-1,89	0,74	4	11,2	1,28
-1,96	0,42	5	5,16	3,32

**-1,8 ± 0,67**

**- 0,39 ± 0,56**

**$\bar{x} \pm SD$**

**6,96 ± 5,46**

**5,7 ± 5,83**

**Abbildung 22** Parameter der Heart Rate Turbulence bei TASK-1<sup>+/+</sup>- und TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen nach Myokardischämie.

Es zeigte sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Genotypen. Beim Turbulence Onset lagen drei Knockout-Mäuse im pathologischen Bereich, während die Wildtypen alle einen Wert im Normbereich aufwiesen. Für den TS wurden die RR-Intervalle auf 75 min<sup>-1</sup> normiert. ( Mittelwert ± SD, n= 5/5)

---

## 4 Diskussion

### 4.1 Die funktionelle Rolle von TASK-1 für das Herz

#### 4.1.1 Bedeutung von TASK-1 für das kardiale Aktionspotential

Neben den spannungs- und zeitabhängigen Kaliumauswärtsströmen  $I_{to}$ ,  $I_{ks}$  und  $I_{kr}$ , die beim Aktionspotential das wesentliche Gegengewicht zum Natriumeinstrom bilden, existiert an der Herzmuskelzelle ein weiterer weitgehend zeitunabhängiger, auswärtsgerichteter (Hintergrund-) Kaliumstrom, der als  $I_{kp}$  bezeichnet wird [120]. Mitglieder der K2P-Kanäle scheinen für diesen Hintergrundstrom, der im *Patch-Clamp*-Experiment an Einzelzellen die Aktionspotentialdauer maßgeblich beeinflusst, eine entscheidende Rolle zu spielen [5]. Dem TASK-1-Kanal wird in ventrikulären Kardiomyozyten ein entscheidender Beitrag zu  $I_{kp}$  zugesprochen [108], über seine funktionellen Eigenschaften im Tiermodell liefert diese Arbeit erste Erkenntnisse.

Frühere Arbeiten an isolierten Kardiomyozyten zeigen nach Hemmung von TASK-1 durch Pharmaka, pH-Veränderungen oder PAF eine Verlängerung des kardialen Aktionspotentials und das Auftreten von frühen Nachdepolarisationen (*early afterdepolarizations*) [9, 14, 108]. Diese Feststellungen weisen auf eine Rolle von TASK-1 für die kardiale Repolarisation hin und sprechen TASK-1 einen potentiellen Beitrag zur Entstehung von Herzrhythmusstörungen zu. Einen Interessanten Ansatz stellt insbesondere die Tatsache dar, dass mit einer Erniedrigung des pH-Werts beziehungsweise mit dem Mediator PAF, Indikatoren zellulären Energiemangels TASK-1 als Zielstruktur zu nutzen scheinen um die Entstehung von Arrhythmien zu begünstigen. Bei einer chronischen oder akuten ischämischen Herzerkrankung gelten gehäuft auftretende ventrikuläre Extrasystolen und ventrikuläre Tachykardien als Risikoprädiktoren für den weiteren Krankheitsverlauf.

Barbuti et al konnten zeigen, dass PAF den TASK-1-Kanal blockiert und über eine Zunahme der Aktionspotentialdauer mit Arrest in der Plateauphase zu frühen Nachdepolarisationen führt [9]. Unsere Ergebnisse im Tiermodell stützen mit einer verlängerten Aktionspotentialdauer bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen die Hypothese, dass der Kaliumhintergrundstrom durch TASK-1 auch im Tiermodell eine physiologische Rolle in

der Regulation der Aktionspotentialdauer hat. Er wäre somit zum Beispiel als Zielstruktur für Medikamente zur Prävention von Arrhythmien denkbar.

#### 4.1.2 Verlängerte kardiale Repolarisation bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen (APD und QT<sub>c</sub>)

In Studien an der Langendorff-Apparatur konnte unsere Arbeitsgruppe bereits eine Verlängerung der Aktionspotentialdauer (APD<sub>90</sub>) für die isolierten TASK-1<sup>-/-</sup>-Herzen demonstrieren. [36]. Diese APD-Verlängerung durch Wegfall des TASK-1-Kanals war besonders ausgeprägt bei niedriger Stimulationsfrequenz, also längerer Zykluslänge, und während des spontanen Rhythmus [36]. Eine umgekehrte Proportionalität von APD und Frequenz bestand in unseren Experimenten bei allen Organen, so dass anzunehmen ist, dass dies ein generelles Phänomen in beiden Genotypen darstellt. Dies steht in Einklang mit kürzlich auch an menschlichen und an Kaninchen-Kardiomyozyten gefundenen Beobachtungen zum Einfluss verschiedener, die APD modifizierender Pharmaka, und unterstützt die Hypothese, dass es in allen Spezies eine positive Beziehung zwischen APD und Herzzykluslänge gibt, die auf den intrinsischen Eigenschaften der kardialen Zellmembran beruht [7, 8].

In unseren Untersuchungen zeigte sich die verlängerte APD der TASK<sup>-/-</sup>-Herzen bei niedrigen Herzfrequenzen besonders prononciert. Die Messungen der monophasischen Aktionspotentiale untermauern einen Beitrag von TASK-1 zur kardialen Repolarisation und die Arbeitsgruppe konnte zum ersten Mal zeigen, dass die Beobachtungen an isolierten Kardiomyozyten sich auch auf das gesamte Organ übertragen lassen.

Es wurde in anderen Studien bereits gezeigt, dass die volatilen Anästhetika Halothan und Isofluran TASK-1 in Neuronen aktivieren und somit zu einer Hyperpolarisation der neuronalen Membran führen. Diese Eigenschaft lässt vermuten, dass TASK eine wichtige Zielstruktur für die Wirkung von Narkosegasen darstellt [69, 98]. Isofluran könnte analog auch die kardialen TASK-1-Kanäle beeinflussen und zu einem vermehrten Kaliumausstrom mit resultierender Hyperpolarisation führen. Daher scheint Isofluran kein geeignetes Anästhetikum, um TASK-1<sup>+/+</sup> Tiere mit TASK-1<sup>-/-</sup> Mäusen zu vergleichen. Es wurde stattdessen für die vergleichende Analyse der Oberflächen-EKGs eine Sedierung mit Ketamin/Xylazin gewählt, für die es bisher keinen Hinweis auf einen Effekt auf K<sub>2</sub>P-

Kanäle gibt. Studien zeigen zwar, dass Ketamin den ATP-abhängigen Kaliumkanal ( $K_{ATP}$ ) an isolierten Ratten-Kardiomyozyten hemmt und Nebenwirkungen auf das Herz-Kreislaufsystem hat [63], dieser Effekt sollte jedoch bei beiden Genotypen den gleichen Einfluss ausüben.

Die Herzfrequenz bei den sedierten Mäusen war im Wesentlichen vergleichbar mit der Frequenz, die die nicht sedierten Mäuse während ihrer Ruhephasen in den telemetrischen 24-Stunden-EKGs zeigten. Die etwas niedrigere Frequenz während der Sedierung ist neben möglichen bradykardisierenden Effekten des Xylazins auch konsistent mit den Beobachtungen anderer Studien, dass die Herzfrequenz bei Mäusen mit implantiertem Transmitter generell etwas höher ist als bei Mäusen ohne diesen Eingriff [136]. Für die Berechnung der korrigierten QT-Zeit ( $QT_c$ ) wurde die Formel nach Mitchell verwendet, die einer für das murine EKG modifizierten Bazett-Formel entspricht. Sie unterscheidet sich von dieser durch eine Normierung des jeweiligen RR-Intervalls auf ein für die Spezies Maus anzunehmendes, durchschnittliches RR-Intervall von 100 ms [87]. Die frequenzkorrigierte QT-Zeit war bei den  $TASK-1^{-/-}$ -Tieren signifikant länger als bei den Kontrollmäusen. Dieses Ergebnis weitet also die vermutete Signifikanz von TASK-1 für die kardiale Repolarisation auf eine dritte Ebene aus. Für die Messergebnisse an Einzelzelle und Organ in-vitro kann mit der verlängerten QT-Zeit auch eine Entsprechung in-vivo gefunden werden. Bestätigt werden die Daten durch eine kürzlich veröffentlichte Studie derselben Knockout-Maus von Decher et al, die ebenfalls eine verlängerte  $QT_c$  und eine verlängerte APD beschreibt [33].

Interessanterweise ist der Zusammenhang von verlängertem MAP und verlängerter  $QT_c$ -Zeit im EKG keineswegs obligat, und lässt auch keinen Rückschluss auf die klinische Relevanz zu. Das Mausmodell für das Jervell-und-Lange-Nielsen-Syndrom beispielsweise ist charakterisiert durch eine normale APD in isolierten  $KCNQ1^{-/-}$ -Herzen, aber eine Verlängerung der frequenzkorrigierten QT-Zeit im EKG. Die EKG-Veränderungen bei JLNS scheinen also auf extrakardiale Effekte zurückzuführen sein. Beim  $TASK-1^{-/-}$ -Mausmodell dagegen scheinen die Veränderungen in der Repolarisation durch die kardiale TASK-1-Defizienz und nicht durch extrakardiale Effekte bedingt zu sein. Zudem konnte in unserer [36], und später auch in einer zweiten unabhängigen Studie der Knockout-Maus [33] keine signifikant veränderte Expression anderer kardialer Ionenkanäle gefunden werden. Eine Tatsache, die dafür spricht, dass die verlänger-

---

te APD und QT<sub>c</sub>-Zeit tatsächlich der Abwesenheit von TASK-1 geschuldet ist. Zur Diskussion steht noch, welche Rolle die Expression von TASK-1 im murinen Reizleitungssystem [42] für die Veränderungen im Oberflächen-EKG bei TASK-1-Knock-Out-Mäusen spielt. Decher et al vermuten, auch vor dem Hintergrund der von ihnen gefundenen Abweichung des QRS-Komplexes bei TASK-1<sup>-/-</sup>, dass die substantielle Verlängerung der QT<sub>c</sub>-Zeit nicht allein durch die veränderte APD in den ventrikulären Kardiomyozyten zu erklären ist, sondern dass zusätzliche eine vom Wildtyp abweichenden Erregungsausbreitung über die Ventrikel hierzu beiträgt [33]. Um in dieser Frage weiterzukommen, müsste man die Erregungsausbreitung der Langendorff-perfundierten und am AV-Knoten stimulierten Herzen vergleichen. Eine relativ neue und vielversprechende Methode zur Darstellung der zeitlichen und räumlichen Erregungsausbreitung und -rückbildung ist die optische Erfassung der elektrischen Potentialänderungen auf Grundlage spannungsensitiver fluoreszierender Farbstoffe [66].

#### **4.1.3 TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen zeigen höhere mittlere Herzfrequenzen als ihre Wurfgeschwister**

Neben der verlängerten QT-Zeit fiel in den Oberflächen-EKGs der TASK-1-Knockout-Mäuse eine signifikant höhere Herzfrequenz auf. Zwar unterlagen alle Tiere während der Aufzeichnung den gleichen Bedingungen, trotzdem handelt es sich bei den 70 ausgewerteten Schlägen nur um eine Momentaufnahme. Um die Herzfrequenzunterschiede zu verifizieren und zu quantifizieren wurden daher telemetrisch abgeleitete EKGs nach einem standardisierten Schema ausgewertet. So wurde gewährleistet, dass ein tatsächlich repräsentatives Ergebnis für die Frequenzen der Versuchstiere gemessen wurde. Es zeigte sich im Vergleich der Genotypen, dass die TASK-1<sup>-/-</sup> auch während der 24 Stunden-EKG-Aufzeichnung eine signifikant höhere mittlere Herzfrequenz aufwiesen. Somit bestätigte sich der in der kurzfristigen Oberflächen-Elektrokardiographie und auch während der Echokardiographie gefundene Unterschied der mittleren Herzfrequenz auch über die langfristige Betrachtung.

Der Unterschied bestand sowohl während Phasen der Inaktivität, als auch während der aktiven Nachtphase. Da die Streuung in den beiden Gruppen nicht signifikant differierte, kann man ausschließen, dass individuelle Ausreißer das Ergebnis maßgeblich beeinflusst haben. Keiner der Tiere wich während der Aufzeichnung vom Sinusrhythmus ab,

---

so dass intermittierende AV-Blöcke oder irreguläre Tachykardien nicht verantwortlich gemacht werden können. Um mehr über das Zustandekommen dieses höheren Mittelwerts zu verstehen, wurden zusätzlich die minimalen und maximalen Herzfrequenzen evaluiert, die die Mäuse über den Zeitraum von 24 Stunden zeigten. Interessanterweise zeigte sich hier kein signifikanter Unterschied, das heißt, TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse erreichten in Ruhephasen ähnlich niedrige und in Phasen körperlicher Aktivität oder physischen Stresses ähnlich hohe Frequenzwerte wie die TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäuse. In einem anderen Teilprojekt unserer Arbeitsgruppe konnte diese Beobachtung durch EKG-Ableitungen während physischen Stresses durch Schwimm- und Laufbandbelastung bestätigt werden. Die maximal erreichte Herzfrequenz differierte hier während der Belastung nicht zwischen den Genotypen und die Tiere erreichten die gleichen Belastungsstufen [36]. Die kurzfristige maximale Rekrutierung des Sympathikus zur Frequenzsteigerung bei physischem Stress ist also intakt. Bei Sympathikusaktivierung scheint die TASK-1-Defizienz weniger zum Tragen zu kommen als unter Ruhebedingungen. Unterstützt wird diese Annahme durch ein Ergebnis unserer Untersuchungen an Langendorff-perfundierten Herzen, bei denen die signifikant verlängerte APD der TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse ab einer *Pacing*-Frequenz von 600/min nicht mehr nachweisbar war [36]. Auch Decher et al fanden, dass nach Isoprenalininjektion die Oberflächen-EKGs der TASK-1<sup>-/-</sup>-Tiere kaum von denen der Wildtypen differierte, und dass die signifikante QTc-Verlängerung dann nicht mehr nachweisbar war [33].

Weil die signifikant höhere mittlere Herzfrequenz der TASK-1-defizienten Mäuse ihre Ursache in einer veränderten autonomen Regulation haben könnte, wurden anhand der Langzeit-EKGs die Parameter der HRV analysiert. Die Herzratenvariabilität wird durch das komplexe Zusammenspiel von sympathischen und parasympathischen Einflüssen auf die Herzfrequenz bestimmt und könnte daher einen Erklärungsansatz für die höheren Herzfrequenzen der TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse bieten. Eine alternative Erklärung für eine höhere Herzfrequenz wäre auf Organ- beziehungsweise Einzelzellebene zu suchen. Theoretisch ist als Ursache für eine gesteigerte Herzfrequenz ohne Abweichung vom Sinusrhythmus auch ein verändertes kardialer Reizleitungssystem oder eine erhöhte Erregbarkeit an der myozytären Membran denkbar. Gegen diese Theorien spricht allerdings, dass denervierte Langendorff-perfundierte TASK-1<sup>-/-</sup>-Herzen, im Vergleich mit TASK-1<sup>+/+</sup>-Herzen, keinen Unterschied in der nativen Schlagfrequenz aufwei-

---

sen [36]. Außerdem werden nach den bisherigen Erkenntnissen die Erregungsvorgänge an der Membran durch den fehlenden Kanal eher verlangsamt (siehe vorangehende Abschnitte). Das indiziert, dass die wahrscheinlichste Erklärung in der Modulation des Sinusknoten durch das autonome Nervensystem zu suchen ist.

#### 4.1.4 Veränderte Herzfrequenzvariabilität bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen

Die Analyse der Herzfrequenzvariabilität (HRV) wird in der kardiovaskulären Forschung häufig zur Funktionsbeurteilung des autonomen Nervensystems eingesetzt. Sie stellt eine wenig invasive Methode zur Evaluation der sympathovagalen Balance auf sinuatrialem Level dar. Für den Menschen existiert schon seit 1996 eine Leitlinie der europäischen Gesellschaft für Kardiologie zur standardisierten Messung und Interpretation der HRV [78]. In Deutschland hat die Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin das Thema systematisch aufgearbeitet und eine Leitlinie zur Anwendung und Methode der HRV in der Arbeitsmedizin herausgegeben [102]. Die HRV-Analyse bei Mäusen stellt den Untersucher aufgrund einer enorm hohen Herzfrequenz und häufig auftretender Artefakte vor einige Schwierigkeiten. Eine kürzlich erschienene Arbeit stellt systematisch die bisherigen Überlegungen zur Analyse der HRV bei Mäusen zusammen und schlägt ein standardisiertes Protokoll für die Langzeitmessung vor [127]. Analog zum Menschen gibt es somit mittlerweile auch für die Maus anerkannte Parameter, um das komplexe Zusammenspiel von Sympathikus und Parasympathikus in der Herzfrequenzvariabilität zu erfassen. Daher bot sich die Analyse von *Time Domain* und *Frequency Domain* in Anlehnung an diese Leitlinie an, um zu klären, ob die TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse ein anderes Muster autonomer Regulationseinflüsse zeigen als ihre TASK-1<sup>+/+</sup>-Wurfgeschwister.

Die Standardabweichung der RR-Intervalle in der Zeitbereichsanalyse (*SDNN*) und die Gesamtleistung in der Frequenzanalyse (*Total Power*), zwei Parameter, die beide die Gesamtheit autonomer Variabilität reflektieren [78], waren bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen signifikant reduziert. Dieses Ergebnis deutet auf eine limitierte Modifikation der Herzfrequenz durch das autonome Nervensystem bei TASK-1-defiziente Mäusen hin. Auch wenn die Mäuse wie oben erwähnt die gleiche Spannbreite von Herzfrequenzen erreichen können, scheint über einen Zeitraum von 12 Stunden gesehen, gegenüber den Kontrollmäusen ein starreres Frequenzmuster vorzuherrschen. Zwei weitere Parame-

---

ter der *Time Domain* waren bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Tieren signifikant reduziert: Die Quadratwurzel aus dem Mittelwert der quadrierten Differenzen sukzessiver NN-Intervalle (*RMSSD*) und der prozentuale Anteil aufeinanderfolgender NN-Intervalle, die mehr als 6 ms voneinander abweichen (*pNN6*). Dies sind Größen, die den vagalen Einfluss auf die Herzfrequenz widerspiegeln. Dieser Befund deckt sich mit den Ergebnissen aus der Frequenzanalyse. Hier wurde für die TASK-1<sup>-/-</sup>-Maus im Vergleich zu den Kontrollmäusen ein niedrigerer Wert für die normierte Leistung in der *High Frequency*-Bande ( $HF_{nu}$ ) und ein höherer Wert für die normierte Leistung in der *Low Frequency*-Bande ( $LF_{nu}$ ) gefunden. Die HF-Komponente des Spektrums konnte in Experimenten mit autonomen Manövern, wie elektrischer vagaler Stimulation beziehungsweise Muskarinrezeptorblockade und operativer Vagotomie, eindeutig den parasympathischen Efferenzen zum Sinusknoten zugeordnet werden [1, 81, 105]. Die LF-Komponente interpretieren viele Wissenschaftler als Marker der sympathischen Modulation [57, 81]. Für andere ist die LF ein Parameter, der unter Einfluss des sympathischen und aber auch des parasympathischen Systems entsteht [1]. Die Relation der Leistungen in LF und HF wird allgemein als Abbild der sympathovagalen Balance betrachtet [78]. Der Quotient LF/HF war bei den TASK-1-Knockout-Mäusen erhöht. Die TASK-1-defizienten Mäuse weisen also ein verändertes HRV-Muster im Sinne eines reduzierten vagalen Einflusses mit relativem Übergewichts des Sympathikotonus auf. Diese Veränderungen können auch die höhere mittlere Herzfrequenz erklären.

Nicht die TASK-1-Defizienz im Kardiomyozyten oder im zellulären Reizleitungssystem scheint für die veränderte Herzfrequenz verantwortlich, sondern übergeordnete regulatorische Strukturen müssen durch das Fehlen von TASK-1 beeinträchtigt sein.

Der Mechanismus der vagalen Frequenzmodulation auf sinuatrialer Ebene ist gut verstanden. Er wird durch Acetylcholin-aktivierte Kaliumkanäle vermittelt, die sowohl beim Menschen als auch bei kleinen Säugetieren wie der Maus reichlich in der Sinusknotenregion vorhanden sind [22]. Auch für die sympathische, durch die Nn. cardiaci vermittelte, Modulation sind im Sinusknoten entsprechende Zielstrukturen identifiziert. Die, für das Schrittmacherpotential verantwortlichen HNC-Kanäle (*hyperpolarization-activated, cyclic nucleotide-gated cation channel*) werden direkt durch intrazelluläres cAMP aktiviert [35]. In dem Zusammenhang interessant ist auch

---

die kürzlich gewonnene Erkenntnis, dass der Kanal, im Vergleich zur paranodalen Region, zumindest im humanen Sinusknoten kaum exprimiert wird [22]. Übereinstimmend hiermit kommt unserer Arbeitsgruppe bei ihren invasiven elektrophysiologischen Untersuchungen der TASK-1<sup>-/-</sup>- und TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäuse zu dem Ergebnis, dass zwischen den Genotypen keine Unterschied in der Refraktärzeit des Sinusknotens (SNRT), den atrioventrikulären Überleitungszeiten und der Refraktärzeit des AV-Knotens gibt [100]. Auf dieser Ebene scheint TASK-1 also keine Rolle für die autonome Regulation der Herzfrequenz zu spielen. Für die immunhistochemische Untersuchung der exakten zellulären Lokalisation von TASK-1 am Herzen der verschiedenen Spezies ist allerdings noch einige Forschungsarbeit zu leisten. Die kommerziell erhältlichen Antikörper zur Markierung des Kanals für *Western Blot* und immunhistochemische Färbung weisen zudem eine ungenügende Spezifität für den TASK-1-Kanal auf. In unserer Arbeitsgruppe wurden drei verschiedene Antikörper der Firmen Chemicon [86], Santa Cruz [114] und Aviva Systems [4] getestet. Sowohl die Protein-Expression im Western Blot als auch das Muster in der Fluoreszenzfärbung war bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen identisch zu denen bei Wildtyp-Mäusen [36]. Zu diesem Ergebnis kommen auch Aller et al unter Verwendung anderer kommerzieller Antikörper (Alomone Labs und Sigma) [2].

Die übergeordneten Zentren, die im vegetativen Nervensystem an der Integration von afferenten Signalen und der Steuerung der efferenten Aktivität beteiligt sind, befinden sich hauptsächlich in Medulla oblongata und im Hypothalamus. Kerngebiete in der Medulla oblongata steuern die Grundaktivität des Sympathikus, eine Funktion, die eng mit der ebenfalls hier gesteuerten Kreislaufhomöostase verbunden ist [118]. In genau diesen Kerngebieten der ventrolateralen Medulla oblongata (VLM) wird auch TASK-1 exprimiert [12, 131]. TASK-1 scheint hier zur Chemosensitivität der Atmungsregulation beizutragen. Der Kanal könnte die exzitatorischen Effekte vieler Transmitter, wie Substanz P oder Serotonin, sowie die Effekte von pH-Änderungen auf die Neuronen übertragen [64, 131]. Eine Arbeitsgruppe konnte die Präsenz von TASK-1 in spezifischen Neuronen der rostralen VLM von Ratten nachweisen. Diese Entdeckung indiziert, dass der Kanal zur Regulation des sympathisch vermittelten Vasomotorentonus beitragen könnte [131]. Hier ergibt sich also ein Erklärungsansatz für die reduzierte Herzfrequenzvariabilität bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen. Die sympathovagale Imbalance mit reduzierter Vagusrekrutierung und/oder erhöhtem Sympathikotonus könnte mit der fehlenden

---

Expression von TASK-1 in den Neuronen der Medulla oblongata dieser Mäuse zusammenhängen.

#### **4.1.5 Abgeschwächter Baroreflex bei TASK-1-Defizienz ? - Indirekte Abschätzung der Baroreflexsensitivität durch Messung der Heart Rate Turbulence**

Das komplexe Zusammenspiel von Sympathikus und Parasympathikus bei der kurzfristigen Herzfrequenzregulation steht unter ständigem Einfluss reflektorischer Feedbackschleifen. Vor allem der Baroreflex spielt bei der Adjustierung der beiden Gegengewichte eine große Rolle [80]. Die Herzfrequenz-turbulenz (HRT) nach ventrikulärer Extrasystole gilt als nicht-invasive Alternative zur Messung der Baroreflexsensitivität [73] und stellt somit einen weiteren Marker des autonomen Tonus dar. Im Gegensatz zur HRV, die vor allem Ausdruck tonischer vagaler beziehungsweise sympathischer Aktivität ist, beschreibt die HRT eine reflektorische Aktivität des ANS. Bei post-Myokardinfarkt-Patienten wurde eine starke Korrelation zwischen HRV und HRT gefunden, wobei diese Korrelation vor allem für den Parameter *Turbulence Slope (TS)* besteht [29, 95]. Es war daher interessant, diese sich ergänzenden Messungen auf die TASK-1-defizienten Mäuse anzuwenden. Zudem hatten vorangehende Ergebnisse der Arbeitsgruppe zur kardialen Phänotypisierung der TASK-1<sup>-/-</sup>-Maus, Hinweise auf einen möglicherweise abgeschwächten Baroreflex erbracht. Während die TASK-1<sup>+/+</sup>-Mäuse auf Epinephrininjektion die charakteristische Reaktion eines Herzfrequenzabfalls zeigten, die vermutlich durch Barorezeptorstimulation mit nachfolgender Erregung vagaler Kardiomotorneuronen im Nucleus ambiguus der Medulla oblongata zurückzuführen ist [60], blieben die TASK-1-defizienten Mäuse nach Injektion gleicher Mengen Epinephrin auf hohem Frequenzniveau [36].

Sowohl der afferente Schenkel als auch der efferente Schenkel des Baroreflexes laufen über Nervenbahnen des autonomen Nervensystems, welches bei den TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen nach den Ergebnissen der HRV-Analyse hinsichtlich der Herzfrequenzmodulation beeinträchtigt zu sein scheint. Der afferente Schenkel läuft über parasymphatische Fasern von den Barorezeptoren in Karotissinus und der Aorta zum Nucleus tractus solitarii im Hirnstamm. Der efferente Schenkel nimmt seinen Ursprung im primären Kernzentrum zur Steuerung der sympathischen Aktivität in der ventralen Medulla oblongata (VLM), aber auch im parasymphatischen Nucleus ambiguus [20]. Ein abge-

---

schwächer Baroreflex könnte also theoretisch an jeder Stelle des Regelkreises von den Barorezeptorkörpern bis zum Effekt am Sinusknoten bedingt sein. Wenn die TASK-1-Defizienz als Grundlage für einen abgeschwächten Baroreflex in Erwägung gezogen wird, zielt der erste Überlegungsansatz jedoch auf eine Beeinträchtigung des efferenten Schenkels im Hirnstamm, da TASK-1 genau dort in den sympathischen Kerngebieten der ventralen Medulla oblongata und im parasympathischen Nucleus ambiguus [131] exprimiert wird.

In dieser Arbeit konnte bei der indirekten Beurteilung der Reflexaktivität, durch Messung der HRT bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen, kein signifikanter Unterschied zur Kontrollgruppe gefunden werden. Die Vermutung eines eingeschränkten Baroreflexes bei TASK-1-Defizienz konnte somit nicht untermauert werden. Allerdings ist zu berücksichtigen, dass die Messungen an EKGs durchgeführt wurden, die unmittelbar nach einer Myokardischämie aufgezeichnet wurden. Dies gewährleistete zwar, dass innerhalb des Messzeitraums ventrikuläre Extrasystolen auftraten, um die Parameter der HRT bestimmen zu können, schränkt jedoch die Aussagekraft der Ergebnisse ein. Zum Zeitpunkt der Aufzeichnung unterlag die HRT durch die Myokardischämie beziehungsweise die Reperfusion so starken Einflussfaktoren, dass die TASK-1-Defizienz in den Hintergrund treten könnte. Die autonome kardiale Modulation ist nach einem akuten Herzinfarkt oft dramatisch reduziert, eine Reduktion, die stark mit der kardiovaskulären Mortalität korreliert [116]. Gerade diese Tatsache macht ja die HRV und HRT zu geschätzten Risikoprädiktoren nach Myokardinfarkt. Die Versuchsmäuse unterlagen den identischen Bedingungen einer Myokardischämie und eine reduzierte HRT war demnach zu erwarten. Man kann eher davon ausgehen, dass man mit der HRT in diesem Versuchsaufbau die additive Auswirkung einer TASK-1-Defizienz auf die durch die Myokardischämie ohnehin reduzierte HRT misst. Darüber hinaus trat in unseren Versuchen nicht bei allen Mäusen eine ausreichende Anzahl an VES auf, um eine verlässliche Messung der HRT zu gewährleisten. Bauer et al schlagen hierfür eine Anzahl von mehr als 5 VES vor. Bei Verwendung von weniger VES zur Berechnung überlagern andere Einflussfaktoren wie Atmung und körperliche Aktivität das Reaktionsmuster [10].

Die Arbeitsgruppe untersuchte die HRT anschließend noch in einem alternativen Versuchsaufbau, in dem die überlagernden Einflussfaktoren nicht vorlagen. Bei der HRT-Analyse nach elektrisch über einen transvenösen Katheter induzierten VES konnte un-

---

sere Arbeitsgruppe eine signifikant verringerte TO bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen zeigten [100]. Um die basale Baroreflexsensitivität der TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäuse ohne künstlichen Eingriff in das Herzkreislaufsystem zu bestimmen wären alternative Methoden zu bevorzugen. Eine kürzlich veröffentlichte Studie stellt zum Beispiel eine Methode vor, mit der die spontane BRS bei Mäusen abgeschätzt werden kann. Ähnlich der Methode zur telemetrischen EKG-Aufzeichnung wird bei den Tieren hierfür eine invasive Langzeit-Blutdruckmessung durchgeführt und die Blutdruckschwankungen werden mit der Herzfrequenz in Beziehung gesetzt. Interessanterweise fanden die Untersucher eine deutliche Dominanz des Parasympathikus in der baroreflektorisch vermittelten Herzfrequenzvariation. Die BRS konnte durch Injektion von Atropin merklich abgeschwächt werden [67]. Diese Messungen bei TASK-1-defizienten Mäusen durchzuführen, bei denen nach den Ergebnissen dieser Arbeit ein reduzierter Vagotonus vorliegt, wäre ein nächster Schritt um die Auswirkung der TASK-1-Defizienz auf die autonome Herzfrequenzvariation zu erforschen.

#### ***4.2 Die Maus als Untersuchungsmodell***

Neben dem Streben nach Verständnis der physiologischen Grundlagen bis auf die molekulare Ebene, ist vor allem der potentielle Beitrag zu Arrhythmogenese ein häufig genannter Motivationsgrund zur Erforschung der kardialen Ionenkanäle. Man erhofft sich, das Risiko für den plötzlichen Herztod besser einschätzen zu können oder Zielstrukturen für antiarrhythmische Medikamente zu finden. Die Maus ist verständlicherweise ein beliebtes Modell zur Erforschung elektrophysiologischer und molekularer Grundlagen der Herzfunktion. Aber sind die elektrophysiologischen Vorgänge überhaupt mit denen beim Menschen vergleichbar?

Strukturell sind die Erregungsleitungsbahnen im Mäuseherzen, bestehend aus Sinusknoten, AV-Knoten, His-Bündel und Purkinje-Fasern, denen größerer Säugetiere, wie auch denen beim Menschen, sehr ähnlich [110]. Auch gibt es bei Maus und Mensch eine große Übereinstimmung der kardialen Ionenkanäle und der zugehörigen Ionenströme während des Aktionspotentials. Es konnte jedoch auch gezeigt werden, dass die quantitative Bedeutung einiger Ionenströme zwischen den verschiedenen Spezies variiert [90, 91, 106]. Im Sinusknoten beispielsweise ist zwar die Expression einiger

---

Schlüssel-Ionenkanäle durchaus vergleichbar, andere wichtige Kanäle werden beim Menschen aber in sehr viel geringem Ausmaß exprimiert als bei der Maus [82]. Wenn man bedenkt, dass die normale Herzfrequenz des Menschen bei 70 und die der Maus bei 400 bis 800 Schlägen pro Minute liegt, verwundern diese Unterschiede nicht. Die Morphologie des Aktionspotentials weist bei der Maus einen augenscheinlichen Unterschied auf. Es fehlt die typische Plateauphase, die beim menschlichen Aktionspotential durch die Leitfähigkeit der Kalziumkanäle vom L-Typ getragen wird. Zudem ist das murine Aktionspotential deutlich kürzer. Die APD<sub>90</sub>, entsprechend der Dauer eines monophasischen Aktionspotentials (MAP) bei 90 prozentiger Repolarisation, wird in der Literatur mit 25-60 ms angegeben.

Die Unterschiede in der kardialen Elektrophysiologie bei Maus und Mensch führt oft zu der Frage, ob die Maus ein brauchbares Modell für Untersuchungen zur Arrhythmogenese und den Ursachen des plötzlichen Herztodes darstellt. Neuere Untersuchungen konnten jedoch zeigen, dass der räumliche und zeitliche Ablauf der De- und Repolarisation des murinen Herzens qualitativ gleichartig zum Erregungsablauf des menschlichen Herzens ist. Wie beim Menschen werden auch im Mäuseherzen zunächst die endokardialen, dann die epikardialen Anteile der Herzspitze und zuletzt die Herzbasis depolarisiert. Die zuletzt erregten Anteile werden anschließend zuerst repolarisiert, entsprechend einer Repolarisationssequenz: Herzbasis vor Herzspitze und Epikardium vor Endokardium [74]. Die APD zeigt beim murinen ebenso wie beim humanen Aktionspotential eine deutliche regionale Dispersion im Vergleich endokardialer und epikardialer Schichten [6, 62, 74]. Durch die fortschreitende Entwicklung im Bereich der Genforschung ist das genetisch veränderte Mausmodell eine weitverbreitete und anerkannte Methode, um die funktionelle Rolle von Genen im Organismus, speziell im kardiovaskulären System, aufzuklären. Einige Beispiele zeigen, dass der Transfer von „Maus zu Mann“ durchaus gezogen werden kann [23]. Es gelang zum Beispiel, ein Mausmodell für das Jervell-und-Lange-Nielsen-Syndrom zu erzeugen, das sowohl in Geno- als auch in Phänotyp homolog zum Menschen ist [21]. Eine Forschergruppe aus Belgien und den Niederlanden entwickelte ein Mausmodell für die dominante Form des erblichen Long-QT-Syndroms. Durch die sogenannte *Knock-in-Technik* wurde exakt die bei den Patienten vorliegende Deletion im myokardialen Kali-

---

umkanal ins Genom der Tiere integriert. Heterozygote Tiere zeigen analog zu den betroffenen Patienten die typischen elektrophysiologischen und klinischen Charakteristika mit verlängerter QT-Zeit, spontanem Auftreten von ventrikulären Rhythmusstörungen und erhöhtem Risiko für einen plötzlichen Herztod [34].

Gleichzeitig haben sich in letzter Zeit auch die labortechnischen Möglichkeiten zur Aufzeichnung und Analyse des Herzzyklus und der Vitalparameter bei Mäusen verbessert. Dies führt dazu, dass man beim Menschen anerkannte Analysemethoden - wie die HRV-Analyse - zunehmend besser zur Erforschung des kardialen Phänotyps transgener Mäuse einsetzen kann.

#### 4.2.1 TASK-1 in Maus und Mensch

Die Ergebnisse unabhängiger Forschungsgruppen sprechen für eine relevante kardiale Expression von TASK-1 sowohl bei Mäusen und Ratten [37, 59, 68, 75], als auch bei Menschen [37, 83]. Weniger Klarheit herrscht allerdings in der Frage nach der speziesspezifischen relativen Verteilung von TASK-1 in Vorhöfen und Ventrikeln. Im quantitativen Vergleich der TASK-1-RNA-Expression in Vorhof- und Ventrikelmyokard konnten im murinen Ventrikel signifikant höhere Expressionslevel detektiert werden [36, 56]. In menschlichen Biopsien dagegen wurde eine TASK-1-Expression vor allem im Vorhof und weniger in den Ventrikeln nachgewiesen [38, 72]. Diese Diskrepanz könnte entweder in den speziesspezifischen Unterschieden begründet sein, oder mit einer *Down-Regulation* der Kanalexpression unter pathologischen Bedingungen zusammenhängen, da die Proben ventrikulärer Kardiomyozyten bei den Untersuchungen aus einem Patientengut mit terminaler Herzinsuffizienz stammten.

Wie auch immer die exakte regionale Verteilung von TASK-1 im murinen und im humanen Herzen sein mag, gibt es, bezüglich der funktionellen Rolle von TASK-1, aktuell erste Erkenntnistransfers vom Mausmodell in die klinische Forschung. Limberg et al konnten den Ionenstrom durch TASK-1 in menschlichen Kardiomyozyten des rechten Vorhofs quantifizieren und gehen davon aus, dass  $I_{TASK-1}$  dort, analog zu den Vorgängen in murinen ventrikulären Kardiomyozyten, die Aktionspotentialdauer beeinflussen kann. Die Gruppe sieht in TASK-1 eine mögliche pharmakologische Zielstruktur zur Prävention und Behandlung von Vorhofflimmern [72]. Diese Erkenntnis basiert also auf

den zahlreichen Studien, die zuvor in kleineren Säugetieren und vor allem auch in der TASK-1-Knockout-Maus durchgeführt wurden.

Die Verfügbarkeit dieses und anderer Tiermodelle wird dazu beitragen, weitere pathophysiologische Erkenntnisse über kardiovaskuläre Erkrankungen zu gewinnen. Zudem können sie es ermöglichen, Studien über das therapeutische Potential von bekannten oder neu entwickelten Substanzen durchzuführen, bevor diese beim Menschen erprobt werden.

## 5 Zusammenfassung

Der Kaliumkanal TASK-1 gehört zu der Familie der Zwei-Porendomänen Kaliumkanäle, kurz K2P. Als solcher vermittelt er auf Einzelkanalebene einen Kaliumauswärtsstrom aus der Zelle und erfüllt elektrophysiologisch die Eigenschaften eines Kaliumhintergrundkanals. Die Besonderheit des Kanals, der hauptsächlich im kardiovaskulären- und im Zentralnervensystem exprimiert wird, liegt jedoch in seiner Regulierbarkeit, eine Eigenschaft, die dem TASK-1-Kanal eine signalintegrierende Funktion zukommen lässt. Über die Signifikanz des Kanals für die Herzphysiologie gibt es bisher relativ wenige Daten. Diese Arbeit ist Teil des Projekts zur kardialen Phänotypisierung der TASK-1-defizienten Maus und beschäftigt sich im Speziellen mit den Auswirkungen des Fehlens von TASK-1 auf das Signal in Sedierung abgeleiteter Oberflächen-EKGs, sowie telemetrisch an sich frei bewegenden Mäusen abgeleiteter EKGs. Im Oberflächen-EKG von TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen zeigte sich eine signifikant verlängerte frequenzkorrigierte QT-Zeit (QT<sub>c</sub>). Eine Erkenntnis, die sich mit einer signifikant verlängerten APD<sub>90</sub> bei der Aufzeichnung monophasischer Aktionspotentiale (MAPs) isolierter TASK-1<sup>-/-</sup>-Herzen deckt. Die Studien der telemetrisch aufgezeichneten 24h-EKGs an sich frei bewegenden Mäusen erbrachte für die TASK-1-defizienten Mäuse eine höhere mittlere Herzfrequenz, sowie eine signifikant reduzierte Herzfrequenzvariabilität (HRV). Die Analyse der *Time* und *Frequency Domain* deckte eine sympathovagale Imbalance mit reduziertem vagalen Einfluss auf die Herzfrequenzmodulation bei TASK-1<sup>-/-</sup>-Mäusen auf. Hinweise auf einen eingeschränkten Baroreflex konnten mit der Analyse der Herat-Rate-Turbulence (HRT) nicht sicher untermauert werden und müssen mit alternativem Versuchsaufbau weiterverfolgt werden.

Zusammenfassend konnte dem TASK-1-Kanal nach den bisherigen Erkenntnissen an Herzmuskelzellen auch in vivo eine funktionelle Rolle in der Repolarisation des kardialen Aktionspotentials nachgewiesen werden. Außerdem reduziert das Fehlen von TASK-1 die Herzfrequenzvariabilität bei Mäusen. Dies könnte in der Expression des Kanals in übergeordneten Zentren des vegetativen Nervensystems der Medulla oblongata begründet sein.

---

## 6 Literaturverzeichnis

1. **Akselrod, S., D. Gordon, F. A. Ubel, D. C. Shannon, A. C. Berger, and R. J. Cohen.** 1981. Power spectrum analysis of heart rate fluctuation: a quantitative probe of beat-to-beat cardiovascular control. *Science* **213**:220-222
2. **Aller, M. I., E. L. Veale, A. M. Linden, C. Sandu, M. Schwaninger, L. J. Evans, E. R. Korpi, A. Mathie, W. Wisden, and S. G. Brickley.** 2005. Modifying the subunit composition of TASK channels alters the modulation of a leak conductance in cerebellar granule neurons. *J.Neurosci.* **25**:11455-11467
3. **Antoni H.** 2000. Erregungsphysiologie des Herzens, p. 472-497. *In*: L. F. Schmidt RF Thews G (ed.), *Physiologie des Menschen*. 28 ed. Springer, Berlin Heidelberg New York.
4. **Aviva Systems Biology Corporation.** Data Sheet kcnk3 antibody Aviva Systems. Zugriff am 01.02.2013. <http://www.avivasysbio.com>. <http://www.avivasysbio.com/kcnk3-antibody-c-terminal-region-arp35090-t100.html>
5. **Backx, P. H. and E. Marban.** 1993. Background potassium current active during the plateau of the action potential in guinea pig ventricular myocytes. *Circ.Res.* **72**:890-900
6. **Baker, L. C., B. London, B. R. Choi, G. Koren, and G. Salama.** 2000. Enhanced dispersion of repolarization and refractoriness in transgenic mouse hearts promotes reentrant ventricular tachycardia. *Circ.Res.* **86**:396-407
7. **Banyasz, T., B. Horvath, L. Virag, L. Barandi, N. Szentandrassy, G. Harmati, J. Magyar, S. Marangoni, A. Zaza, A. Varro, and P. P. Nanasi.** 2009. Reverse rate dependency is an intrinsic property of canine cardiac preparations 3. *Cardiovasc.Res.* **84**:237-244
8. **Barandi, L., L. Virag, N. Jost, Z. Horvath, I. Koncz, R. Papp, G. Harmati, B. Horvath, N. Szentandrassy, T. Banyasz, J. Magyar, A. Zaza, A. Varro, and P. P. Nanasi.** 2010. Reverse rate-dependent changes are determined by baseline action potential duration in mammalian and human ventricular preparations 2. *Basic Res.Cardiol* **105**:315-323
9. **Barbuti, A., S. Ishii, T. Shimizu, R. B. Robinson, and S. J. Feinmark.** 2002. Block of the background K(+) channel TASK-1 contributes to arrhythmogenic effects of platelet-activating factor. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **282**:H2024-H2030
10. **Bauer, A., M. Malik, G. Schmidt, P. Barthel, H. Bonnemeier, I. Cygankiewicz, P. Guzik, F. Lombardi, A. Muller, A. Oto, R. Schneider, M. Watanabe, D. Wichterle, and W. Zareba.** 2008. Heart rate turbulence: standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use: International

- Society for Holter and Noninvasive Electrophysiology Consensus. *J.Am.Coll.Cardiol.* **52**:1353-1365
11. **Bayliss, D. A., J. E. Sirois, and E. M. Talley.** 2003. The TASK family: two-pore domain background K<sup>+</sup> channels. *Mol.Interv.* **3**:205-219
  12. **Bayliss, D. A., E. M. Talley, J. E. Sirois, and Q. Lei.** 2001. TASK-1 is a highly modulated pH-sensitive 'leak' K<sup>(+)</sup> channel expressed in brainstem respiratory neurons 1. *Respir.Physiol* **129**:159-174
  13. **Bazett, H. C.** 1920. An analysis of the time-relations of electrocardiograms. *Heart* **7**:353-370
  14. **Besana, A., A. Barbuti, M. A. Tateyama, A. J. Symes, R. B. Robinson, and S. J. Feinmark.** 2004. Activation of protein kinase C epsilon inhibits the two-pore domain K<sup>+</sup> channel, TASK-1, inducing repolarization abnormalities in cardiac ventricular myocytes. *J.Biol.Chem.* **279**:33154-33160
  15. **Bigger, J. T., Jr., J. L. Fleiss, R. C. Steinman, L. M. Rolnitzky, R. E. Kleiger, and J. N. Rottman.** 1992. Frequency domain measures of heart period variability and mortality after myocardial infarction. *Circulation* **85**:164-171
  16. **Bockenhauer, D., N. Zilberberg, and S. A. Goldstein.** 2001. KCNK2: reversible conversion of a hippocampal potassium leak into a voltage-dependent channel. *Nat.Neurosci.* **4**:486-491
  17. **Bokil, N. J., J. M. Baisden, D. J. Radford, and K. M. Summers.** 2010. Molecular genetics of long QT syndrome 1. *Mol.Genet.Metab* **101**:1-8
  18. **Brandts, B. K. and L. Pott.** 2000. Kaliumströme und die Repolarisation des Herzaktionspotentials. *DPG Physiologie* **15**:10-21
  19. **Buckler, K. J., B. A. Williams, and E. Honore.** 2000. An oxygen-, acid- and anaesthetic-sensitive TASK-like background potassium channel in rat arterial chemoreceptor cells. *J.Physiol* **525 Pt 1**:135-142
  20. **Busse, R.** 2011. Kreislauf, p. 645-646. *In*: R. F. Schmidt, F. Lang, and M. Heckmann (eds.), *Physiologie des Menschen*. 31 ed. Springer, Berlin, Heidelberg.
  21. **Casimiro, M. C., B. C. Knollmann, S. N. Ebert, J. C. Vary, Jr., A. E. Greene, M. R. Franz, A. Grinberg, S. P. Huang, and K. Pfeifer.** 2001. Targeted disruption of the *Kcnq1* gene produces a mouse model of Jervell and Lange-Nielsen Syndrome. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **98**:2526-2531
  22. **Chandler, N. J., I. D. Greener, J. O. Tellez, S. Inada, H. Musa, P. Molenaar, D. Difrancesco, M. Baruscotti, R. Longhi, R. H. Anderson, R. Billeter, V. Sharma, D. C. Sigg, M. R. Boyett, and H. Dobrzynski.** 2009. Molecular architecture of the human sinus node: insights into the function of the cardiac pacemaker 2. *Circulation* **119**:1562-1575

23. **Charpentier, F., S. Demolombe, and D. Escande.** 2004. Cardiac channelopathies: from men to mice 1. *Ann.Med.* **36 Suppl 1**:28-34
24. **Chiou, C. W. and D. P. Zipes.** 1998. Selective vagal denervation of the atria eliminates heart rate variability and baroreflex sensitivity while preserving ventricular innervation. *Circulation* **98**:360-368
25. **Choe, S.** 2002. Potassium channel structures. *Nat.Rev.Neurosci.* **3**:115-121
26. **Coetzee, W. A., Y. Amarillo, J. Chiu, A. Chow, D. Lau, T. McCormack, H. Moreno, M. S. Nadal, A. Ozaita, D. Pountney, M. Saganich, M. E. Vega-Saenz de, and B. Rudy.** 1999. Molecular diversity of K<sup>+</sup> channels. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* **868**:233-285
27. **Cook, M. J.** 1965. *The Anatomy of the Laboratory Mouse.* adapted for the web by <http://www.informatics.jax.org/mouse/genome/informatics> (MGI): <http://www.informatics.jax.org/cookbook/> zuletzt revidiert 02/2008, Zugriff am 01.02.2013.
28. **Corr, P. B., K. A. Yamada, and F. Witkowski.** 1986. Mechanisms controlling cardiac autonomic function and their relation to arrhythmogenesis, p. 1343-1403. *In: H. A. Fozzard (ed.), The Heart and Cardiovascular System.* Raven Press, New York.
29. **Cygangiewicz, I., J. K. Wranicz, H. Bolinska, J. Zaslonka, and W. Zareba.** 2004. Relationship between heart rate turbulence and heart rate, heart rate variability, and number of ventricular premature beats in coronary patients 5. *J.Cardiovasc.Electrophysiol.* **15**:731-737
30. **Czirjak, G., T. Fischer, A. Spat, F. Lesage, and P. Enyedi.** 2000. TASK (TWIK-related acid-sensitive K<sup>+</sup> channel) is expressed in glomerulosa cells of rat adrenal cortex and inhibited by angiotensin II. *Mol.Endocrinol.* **14**:863-874
31. **Czirjak, G., G. L. Petheo, A. Spat, and P. Enyedi.** 2001. Inhibition of TASK-1 potassium channel by phospholipase C. *Am.J.Physiol Cell Physiol* **281**:C700-C708
32. **Davies, L. A., C. Hu, N. A. Guagliardo, N. Sen, X. Chen, E. M. Talley, R. M. Carey, D. A. Bayliss, and P. Q. Barrett.** 2008. TASK channel deletion in mice causes primary hyperaldosteronism. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **105**:2203-2208
33. **Decher, N., K. Wemhoner, S. Rinne, M. F. Netter, M. Zuzarte, M. I. Aller, S. G. Kaufmann, X. T. Li, S. G. Meuth, J. Daut, F. B. Sachse, and S. K. Maier.** 2011. Knock-out of the potassium channel TASK-1 leads to a prolonged QT interval and a disturbed QRS complex 2. *Cell Physiol Biochem.* **28**:77-86
34. **Demolombe, S., G. Lande, F. Charpentier, M. A. van Roon, M. J. van den Hoff, G. Toumaniantz, I. Baro, G. Guihard, B. N. Le, A. Corbier, B. J. de, T. Opthof, A. Wilde, A. F. Moorman, and D. Escande.** 2001. Transgenic mice overexpressing

- human KvLQT1 dominant-negative isoform. Part I: Phenotypic characterisation  
4. *Cardiovasc.Res.* **50**:314-327
35. **Difrancesco, D. and P. Tortora.** 1991. Direct activation of cardiac pacemaker channels by intracellular cyclic AMP. *Nature* **351**:145-147
36. **Donner, B. C., M. Schullenberg, N. Geduldig, A. Huning, J. Mersmann, K. Zacharowski, A. Kovacevic, U. Decking, M. I. Aller, and K. G. Schmidt.** 2011. Functional role of TASK-1 in the heart: studies in TASK-1-deficient mice show prolonged cardiac repolarization and reduced heart rate variability 1. *Basic Res.Cardiol* **106**:75-87
37. **Duprat, F., F. Lesage, M. Fink, R. Reyes, C. Heurteaux, and M. Lazdunski.** 1997. TASK, a human background K<sup>+</sup> channel to sense external pH variations near physiological pH. *EMBO J.* **16**:5464-5471
38. **Ellinghaus, P., R. J. Scheubel, D. Dobrev, U. Ravens, J. Holtz, J. Huetter, U. Nielsch, and H. Morawietz.** 2005. Comparing the global mRNA expression profile of human atrial and ventricular myocardium with high-density oligonucleotide arrays 2. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* **129**:1383-1390
39. **Enyedi, P. and G. Czirjak.** 2010. Molecular background of leak K<sup>+</sup> currents: two-pore domain potassium channels 1. *Physiol Rev.* **90**:559-605
40. **Gardener, M. J., I. T. Johnson, M. P. Burnham, G. Edwards, A. M. Heagerty, and A. H. Weston.** 2004. Functional evidence of a role for two-pore domain potassium channels in rat mesenteric and pulmonary arteries 9. *Br.J.Pharmacol.* **142**:192-202
41. **Goldstein, S. A., D. Bockenhauer, I. O'Kelly, and N. Zilberberg.** 2001. Potassium leak channels and the KCNK family of two-P-domain subunits. *Nat.Rev.Neurosci.* **2**:175-184
42. **Graham, V., H. Zhang, S. Willis, and T. L. Creazzo.** 2006. Expression of a two-pore domain K<sup>+</sup> channel (TASK-1) in developing avian and mouse ventricular conduction systems 3. *Dev.Dyn.* **235**:143-151
43. **Gu, Z., L. M. Steinmetz, X. Gu, C. Scharfe, R. W. Davis, and W. H. Li.** 2003. Role of duplicate genes in genetic robustness against null mutations. *Nature* **421**:63-66
44. **Guo, W., H. Li, B. London, and J. M. Nerbonne.** 2000. Functional consequences of elimination of *i(to,f)* and *i(to,s)*: early afterdepolarizations, atrioventricular block, and ventricular arrhythmias in mice lacking Kv1.4 and expressing a dominant-negative Kv4 alpha subunit. *Circ.Res.* **87**:73-79
45. **Gurney, A. and B. Manoury.** 2009. Two-pore potassium channels in the cardiovascular system. *Eur.Biophys.J.* **38**:305-318

46. **Gurney, A. M., O. N. Osipenko, D. MacMillan, K. M. McFarlane, R. J. Tate, and F. E. Kempson.** 2003. Two-pore domain K channel, TASK-1, in pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ.Res.* **93**:957-964
47. **Guzik, P. and G. Schmidt.** 2002. A phenomenon of heart-rate turbulence, its evaluation, and prognostic value. *Card Electrophysiol.Rev.* **6**:256-261
48. **Hainsworth, R.** 1998. Physiology of the cardiac autonomic system, p. 3-28. *In*: M. Malik (ed.), *Clinical Guide to Cardiac Autonomic Test*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht.
49. **Havranek, S., P. Stovicek, M. Psenicka, D. Wichterle, and A. Linhart.** 2007. Heart rate turbulence after ventricular pacing trains during programmed ventricular stimulation. *Pacing Clin.Electrophysiol.* **30 Suppl 1**:S170-S173
50. **Heitzmann, D., R. Derand, S. Jungbauer, S. Bandulik, C. Sterner, F. Schweda, W. A. El, E. Lalli, N. Guy, R. Mengual, M. Reichold, I. Tegtmeier, S. Bendahhou, C. E. Gomez-Sanchez, M. I. Aller, W. Wisden, A. Weber, F. Lesage, R. Warth, and J. Barhanin.** 2008. Invalidation of TASK1 potassium channels disrupts adrenal gland zonation and mineralocorticoid homeostasis. *EMBO J.* **27**:179-187
51. **Hon, E. H. and S. T. LEE.** 1963. ELECTRONIC EVALUATION OF THE FETAL HEART RATE. VIII. PATTERNS PRECEDING FETAL DEATH, FURTHER OBSERVATIONS. *Am.J.Obstet.Gynecol.* **87**:814-826
52. **Honore, E., F. Maingret, M. Lazdunski, and A. J. Patel.** 2002. An intracellular proton sensor commands lipid- and mechano-gating of the K(+) channel TREK-1. *EMBO J.* **21**:2968-2976
53. **Hottenrott, K., O. Hoos, and H. D. Esperer.** 2006. Heart rate variability and physical exercise. Current status. *Herz* **31**:544-552
54. **Hüning, A.** 2010. Kardiale Phänotypisierung der TASK-1 Knockout-Maus. Dissertation aus der Klinik für Kinderkardiologie und Pneumologie der Universität Düsseldorf.
55. **JERVELL, A. and F. LANGE-NIELSEN.** 1957. Congenital deaf-mutism, functional heart disease with prolongation of the Q-T interval and sudden death. *Am.Heart J.* **54**:59-68
56. **Jones, S. A., M. J. Morton, M. Hunter, and M. R. Boyett.** 2002. Expression of TASK-1, a pH-sensitive twin-pore domain K(+) channel, in rat myocytes. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **283**:H181-H185
57. **Kamath, M. V. and E. L. Fallen.** 1993. Power spectral analysis of heart rate variability: a noninvasive signature of cardiac autonomic function. *Crit Rev.Biomed.Eng* **21**:245-311

- 
58. **Kawachi I** . Heart Rate Variability. revidiert am 1997, Zugriff am 19.02.2012. MacArthur Research Network on SES & Health, University of California, San Francisco. <http://www.macses.ucsf.edu/research/allostatic/hearttrate.php>
59. **Kim, Y., H. Bang, and D. Kim**. 1999. TBAK-1 and TASK-1, two-pore K(+) channel subunits: kinetic properties and expression in rat heart 1. *Am.J.Physiol* **277**:H1669-H1678
60. **Kirchheim, H. R., A. Just, and H. Ehmke**. 1998. Physiology and pathophysiology of baroreceptor function and neuro-hormonal abnormalities in heart failure 2. *Basic Res.Cardiol* **93 Suppl 1**:1-22
61. **Kiyoshi, H., D. Yamazaki, S. Ohya, M. Kitsukawa, K. Muraki, S. Y. Saito, Y. Ohizumi, and Y. Imaizumi**. 2006. Molecular and electrophysiological characteristics of K<sup>+</sup> conductance sensitive to acidic pH in aortic smooth muscle cells of WKY and SHR 2. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **291**:H2723-H2734
62. **Knollmann, B. C., A. N. Katchman, and M. R. Franz**. 2001. Monophasic action potential recordings from intact mouse heart: validation, regional heterogeneity, and relation to refractoriness. *J.Cardiovasc.Electrophysiol.* **12**:1286-1294
63. **Ko, S. H., S. K. Lee, Y. J. Han, H. Choe, Y. G. Kwak, S. W. Chae, K. P. Cho, and H. S. Song**. 1997. Blockade of myocardial ATP-sensitive potassium channels by ketamine. *Anesthesiology* **87**:68-74
64. **Koizumi, H., S. E. Smerin, T. Yamanishi, B. R. Moorjani, R. Zhang, and J. C. Smith**. 2010. TASK channels contribute to the K<sup>+</sup>-dominated leak current regulating respiratory rhythm generation in vitro 3. *J.Neurosci.* **30**:4273-4284
65. **Lammers, A., H. Kaemmerer, R. Hollweck, R. Schneider, P. Barthel, S. Braun, A. Wacker, S. Brodherr-Heberlein, M. Hauser, A. Eicken, G. Schmidt, and J. Hess**. 2006. Impaired cardiac autonomic nervous activity predicts sudden cardiac death in patients with operated and unoperated congenital cardiac disease 1. *J.Thorac.Cardiovasc.Surg.* **132**:647-655
66. **Lang, D., M. Sulkin, Q. Lou, and I. R. Efimov**. 2011. Optical mapping of action potentials and calcium transients in the mouse heart 1. *J.Vis.Exp.*
67. **Laude, D., V. Baudrie, and J. L. Elghozi**. 2008. Applicability of recent methods used to estimate spontaneous baroreflex sensitivity to resting mice 1. *Am.J.Physiol Regul.Integr.Comp Physiol* **294**:R142-R150
68. **Leonoudakis, D., A. T. Gray, B. D. Winegar, C. H. Kindler, M. Harada, D. M. Taylor, R. A. Chavez, J. R. Forsayeth, and C. S. Yost**. 1998. An open rectifier potassium channel with two pore domains in tandem cloned from rat cerebellum. *J.Neurosci.* **18**:868-877
69. **Lesage, F. and M. Lazdunski**. 2000. Molecular and functional properties of two-pore-domain potassium channels. *Am.J.Physiol Renal Physiol* **279**:F793-F801

70. **Lesage, F., F. Maingret, and M. Lazdunski.** 2000. Cloning and expression of human TRAAK, a polyunsaturated fatty acids-activated and mechano-sensitive K(+) channel. *FEBS Lett.* **471**:137-140
71. **Levy, M. N. and P. J. Schwartz.** 1994. Vagal control of the heart: Experimental basis and clinical implications. Future, Armonk.
72. **Limberg, S. H., M. F. Netter, C. Rolfes, S. Rinne, G. Schlichthorl, M. Zuzarte, T. Vassiliou, R. Moosdorf, H. Wulf, J. Daut, F. B. Sachse, and N. Decher.** 2011. TASK-1 channels may modulate action potential duration of human atrial cardiomyocytes 2. *Cell Physiol Biochem.* **28**:613-624
73. **Lin, L. Y., L. P. Lai, J. L. Lin, C. C. Du, W. Y. Shau, H. L. Chan, Y. Z. Tseng, and S. K. Huang.** 2002. Tight mechanism correlation between heart rate turbulence and baroreflex sensitivity: sequential autonomic blockade analysis 2. *J.Cardiovasc.Electrophysiol.* **13**:427-431
74. **Liu, G., J. B. Iden, K. Kovithavongs, R. Gulamhusein, H. J. Duff, and K. M. Kavanagh.** 2004. In vivo temporal and spatial distribution of depolarization and repolarization and the illusive murine T wave. *J.Physiol* **555**:267-279
75. **Lopes, C. M., P. G. Gallagher, M. E. Buck, M. H. Butler, and S. A. Goldstein.** 2000. Proton block and voltage gating are potassium-dependent in the cardiac leak channel Kcnk3. *J.Biol.Chem.* **275**:16969-16978
76. **Lown, B. and R. L. Verrier.** 1976. Neural activity and ventricular fibrillation 1 9. *N.Engl.J.Med.* **294**:1165-1170
77. **Maingret, F., A. J. Patel, M. Lazdunski, and E. Honore.** 2001. The endocannabinoid anandamide is a direct and selective blocker of the background K(+) channel TASK-1. *EMBO J.* **20**:47-54
78. **Malik M et al.** 1996. Heart rate variability. Standards of measurement, physiological interpretation, and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology. *Eur.Heart J.* **17**:354-381
79. **Malik, M., D. Wichterle, and G. Schmidt.** 1999. Heart-Rate Turbulence. *G Ital Cardiol* **29**:65-69
80. **Malliani, A.** 2000. Principles of Cardiovascular Neural Regulation in Health and Disease. Kluwer Academic Publishers, Bosten, Dordrecht, London.
81. **Malliani, A., M. Pagani, F. Lombardi, and S. Cerutti.** 1991. Cardiovascular neural regulation explored in the frequency domain 6. *Circulation* **84**:482-492
82. **Marionneau, C., B. Couette, J. Liu, H. Li, M. E. Mangoni, J. Nargeot, M. Lei, D. Escande, and S. Demolombe.** 2005. Specific pattern of ionic channel gene expression associated with pacemaker activity in the mouse heart 9. *J.Physiol* **562**:223-234

- 
83. **Medhurst, A. D., G. Rennie, C. G. Chapman, H. Meadows, M. D. Duckworth, R. E. Kellsell, I. I. Gloger, and M. N. Pangalos.** 2001. Distribution analysis of human two pore domain potassium channels in tissues of the central nervous system and periphery 5. *Brain Res.Mol.Brain Res.* **86**:101-114
84. **Mersmann, J., A. Koch, N. Tran, R. Zimmermann, T. F. Granja, J. Larmann, C. Herzog, G. Theilmeier, S. R. Bornstein, C. J. Kirschning, and K. Zacharowski.** 2010. Toll-like receptor 2 signaling triggers fatal arrhythmias upon myocardial ischemia-reperfusion 3. *Crit Care Med.* **38**:1927-1932
85. **Millar, J. A., L. Barratt, A. P. Southan, K. M. Page, R. E. Fyffe, B. Robertson, and A. Mathie.** 2000. A functional role for the two-pore domain potassium channel TASK-1 in cerebellar granule neurons. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* **97**:3614-3618
86. **Millipore Corporation.** Data Sheet kcnk3 antibody Chemicon (Millipore). Stand 15.09.2011, Zugriff am 01.02.2013. <http://www.millipore.com>. [http://www.millipore.com/publications.nsf/a73664f9f981af8c852569b9005b4eee/a44676ae78825fb28525791300828d47/\\$FILE/AB5250-200UL.pdf](http://www.millipore.com/publications.nsf/a73664f9f981af8c852569b9005b4eee/a44676ae78825fb28525791300828d47/$FILE/AB5250-200UL.pdf)
87. **Mitchell, G. F., A. Jeron, and G. Koren.** 1998. Measurement of heart rate and Q-T interval in the conscious mouse. *Am.J.Physiol* **274**:H747-H751
88. **Montano, N., T. G. Ruscone, A. Porta, F. Lombardi, M. Pagani, and A. Malliani.** 1994. Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt 1. *Circulation* **90**:1826-1831
89. **Mück, H. and Löllgen, D.** Kurze Geschichte der HRV. Stand 30.01.2012. Zugriff am 19.02.2012. Alles über Herzratenvariabilität [www.hrv24.de](http://www.hrv24.de). <http://www.hrv24.de/HRV-Geschichte.htm>
90. **Nerbonne, J. M.** 2000. Molecular basis of functional voltage-gated K<sup>+</sup> channel diversity in the mammalian myocardium. *J.Physiol* **525 Pt 2**:285-298
91. **Nerbonne, J. M., C. G. Nichols, T. L. Schwarz, and D. Escande.** 2001. Genetic manipulation of cardiac K(+) channel function in mice: what have we learned, and where do we go from here? *Circ.Res.* **89**:944-956
92. **Nichols, C. G. and A. N. Lopatin.** 1997. Inward rectifier potassium channels. *Annu.Rev.Physiol* **59**:171-191
93. **Ohm, J. and H. Lüke.** 2007. Signalübertragung: Grundlagen der digitalen und analogen Nachrichtenübertragungssysteme. Springer Verlag, Berlin, Heidelberg.
94. **Olschewski, A., Y. Li, B. Tang, J. Hanze, B. Eul, R. M. Bohle, J. Wilhelm, R. E. Morty, M. E. Brau, E. K. Weir, G. Kwapiszewska, W. Klepetko, W. Seeger, and H. Olschewski.** 2006. Impact of TASK-1 in human pulmonary artery smooth muscle cells. *Circ.Res.* **98**:1072-1080

95. **Ortak, J., G. Weitz, U. K. Wiegand, F. Bode, F. Eberhardt, H. A. Katus, G. Richardt, H. Schunkert, and H. Bonnemeier.** 2005. Changes in heart rate, heart rate variability, and heart rate turbulence during evolving reperfused myocardial infarction 9. *Pacing Clin. Electrophysiol.* **28 Suppl 1**:S227-S232
96. **Papadatos, G. A., P. M. Wallerstein, C. E. Head, R. Ratcliff, P. A. Brady, K. Benndorf, R. C. Saumarez, A. E. Trezise, C. L. Huang, J. I. Vandenberg, W. H. Colledge, and A. A. Grace.** 2002. Slowed conduction and ventricular tachycardia after targeted disruption of the cardiac sodium channel gene *Scn5a*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A* **99**:6210-6215
97. **Papazian, D. M., L. C. Timpe, Y. N. Jan, and L. Y. Jan.** 1991. Alteration of voltage-dependence of Shaker potassium channel by mutations in the S4 sequence. *Nature* **349**:305-310
98. **Patel, A. J., E. Honore, F. Lesage, M. Fink, G. Romey, and M. Lazdunski.** 1999. Inhalational anesthetics activate two-pore-domain background K<sup>+</sup> channels. *Nat. Neurosci.* **2**:422-426
99. **Patel, A. J., E. Honore, F. Maingret, F. Lesage, M. Fink, F. Duprat, and M. Lazdunski.** 1998. A mammalian two pore domain mechano-gated S-like K<sup>+</sup> channel. *EMBO J.* **17**:4283-4290
100. **Petric, S., L. Clasen, W. C. van, N. Geduldig, Z. Ding, M. Schullenberg, J. Mersmann, K. Zacharowski, M. I. Aller, K. G. Schmidt, and B. C. Donner.** 2012. In vivo electrophysiological characterization of TASK-1 deficient mice 1. *Cell Physiol Biochem.* **30**:523-537
101. **Petzelbauer, P., P. A. Zacharowski, Y. Miyazaki, P. Friedl, G. Wickenhauser, F. J. Castellino, M. Groger, K. Wolff, and K. Zacharowski.** 2005. The fibrin-derived peptide Bbeta15-42 protects the myocardium against ischemia-reperfusion injury. *Nat. Med.* **11**:298-304
102. **Pfister EA and Scheuch K.** 2001, zuletzt überarbeitet 2006. Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e. V. Herzrhythmusanalyse in der Arbeitsmedizin. DGAUM Dresden, Rostock, Lübeck
103. **Piper, H. M.** 2011. Herzerregung, p. 574-576. *In*: R. F. Schmidt and F. Lang (eds.), *Physiologie des Menschen*. 30. Aufl. ed. Springer, Heidelberg.
104. **Plant, L. D., Bayliss, D. A., Kim, D., Lesage, F., and Goldstein, S. A.** Two-P potassium channels. zuletzt modifiziert 07/05/2012. Zugriff am 01/02/2013. IUPHAR database (IUPHAR-DB) [www.iuphar-db.org](http://www.iuphar-db.org). <http://www.iuphar-db.org/DATABASE/FamilyIntroductionForward?familyId=79>.
105. **Pomeranz, B., R. J. Macaulay, M. A. Caudill, I. Kutz, D. Adam, D. Gordon, K. M. Kilborn, A. C. Barger, D. C. Shannon, R. J. Cohen, and .** 1985. Assessment of autonomic function in humans by heart rate spectral analysis 12. *Am.J. Physiol* **248**:H151-H153

106. **Pond, A. L. and J. M. Nerbonne.** 2001. ERG proteins and functional cardiac I(Kr) channels in rat, mouse, and human heart. *Trends Cardiovasc.Med.* **11**:286-294
107. **Pourrier, M., G. Schram, and S. Nattel.** 2003. Properties, expression and potential roles of cardiac K<sup>+</sup> channel accessory subunits: MinK, MiRPs, KChIP, and KChAP. *J.Membr.Biol.* **194**:141-152
108. **Putzke, C., K. Wemhoner, F. B. Sachse, S. Rinne, G. Schlichthorl, X. T. Li, L. Jae, I. Eckhardt, E. Wischmeyer, H. Wulf, R. Preisig-Muller, J. Daut, and N. Decher.** 2007. The acid-sensitive potassium channel TASK-1 in rat cardiac muscle. *Cardiovasc.Res.* **75**:59-68
109. **Rajan, S., E. Wischmeyer, L. G. Xin, R. Preisig-Muller, J. Daut, A. Karschin, and C. Derst.** 2000. TASK-3, a novel tandem pore domain acid-sensitive K<sup>+</sup> channel. An extracellular histidine as pH sensor. *J.Biol.Chem.* **275**:16650-16657
110. **Rentschler, S., D. M. Vaidya, H. Tamaddon, K. Degenhardt, D. Sassoon, G. E. Morley, J. Jalife, and G. I. Fishman.** 2001. Visualization and functional characterization of the developing murine cardiac conduction system. *Development* **128**:1785-1792
111. **Roach, D., M. L. Koshman, H. Duff, and R. Sheldon.** 2002. Induction of heart rate and blood pressure turbulence in the electrophysiologic laboratory. *Am.J.Cardiol.* **90**:1098-1102
112. **Sampson, M. B., N. A. Mudaliar, and A. S. Lele.** 1980. Fetal heart rate variability as an indicator of fetal status. *Postgrad.Med.* **67**:207-5
113. **Sandercock, G. R. and D. A. Brodie.** 2006. The role of heart rate variability in prognosis for different modes of death in chronic heart failure. *Pacing Clin.Electrophysiol.* **29**:892-904
114. **Santa Cruz Biotechnology, Inc.** Data Sheet kcnk3 antibody, Santa Cruz Biotechnology, inc. Zugriff am 01.02.2013. <http://www.scbio.de>. <http://datasheets.scbt.com/sc-32067.pdf>
115. **Sayers, B. M.** 1973. Analysis of heart rate variability. *Ergonomics* **16**:17-32
116. **Schmidt, G., M. Malik, P. Barthel, R. Schneider, K. Ulm, L. Rolnitzky, A. J. Camm, J. T. Bigger, Jr., and A. Schomig.** 1999. Heart-rate turbulence after ventricular premature beats as a predictor of mortality after acute myocardial infarction. *Lancet* **353**:1390-1396
117. **Schwartz, P. J. and S. Priori.** 1990. Sympathetic nervous system and cardiac arrhythmias, p. 330-343. *In*: D. P. Zipes and J. Jalife (eds.), *Cardiac Electrophysiology. From Cell to Bedside.* W.B. Saunders, Philadelphia.
118. **Seller, H.** 2003. Neurovegetative Regulationen, p. 701-716. *In*: R. Klinke and S. Silbernagl (eds.), *Lehrbuch der Physiologie.* 4. korr. Aufl. ed. Georg Thieme Verlag, Stuttgart.

- 
119. **Sirois, J. E., Q. Lei, E. M. Talley, C. Lynch, III, and D. A. Bayliss.** 2000. The TASK-1 two-pore domain K<sup>+</sup> channel is a molecular substrate for neuronal effects of inhalation anesthetics. *J.Neurosci.* **20**:6347-6354
  120. **Snyders, D. J.** 1999. Structure and function of cardiac potassium channels 1. *Cardiovasc.Res.* **42**:377-390
  121. **Splawski, I., J. Shen, K. W. Timothy, M. H. Lehmann, S. Priori, J. L. Robinson, A. J. Moss, P. J. Schwartz, J. A. Towbin, G. M. Vincent, and M. T. Keating.** 2000. Spectrum of mutations in long-QT syndrome genes. KVLQT1, HERG, SCN5A, KCNE1, and KCNE2. *Circulation* **102**:1178-1185
  122. **Talley, E. M. and D. A. Bayliss.** 2002. Modulation of TASK-1 (Kcnk3) and TASK-3 (Kcnk9) potassium channels: volatile anesthetics and neurotransmitters share a molecular site of action. *J.Biol.Chem.* **277**:17733-17742
  123. **Talley, E. M., Q. Lei, J. E. Sirois, and D. A. Bayliss.** 2000. TASK-1, a two-pore domain K<sup>+</sup> channel, is modulated by multiple neurotransmitters in motoneurons. *Neuron* **25**:399-410
  124. **Tamargo, J., R. Caballero, R. Gomez, C. Valenzuela, and E. Delpon.** 2004. Pharmacology of cardiac potassium channels. *Cardiovasc.Res.* **62**:9-33
  125. **Tang, B., Y. Li, C. Nagaraj, R. E. Morty, S. Gabor, E. Stacher, R. Voswinckel, N. Weissmann, K. Leithner, H. Olschewski, and A. Olschewski.** 2009. Endothelin-1 inhibits background two-pore domain channel TASK-1 in primary human pulmonary artery smooth muscle cells. *Am.J.Respir.Cell Mol.Biol.* **41**:476-483
  126. **Tester, D. J., M. L. Will, C. M. Haglund, and M. J. Ackerman.** 2005. Compendium of cardiac channel mutations in 541 consecutive unrelated patients referred for long QT syndrome genetic testing. *Heart Rhythm.* **2**:507-517
  127. **Thireau, J., B. L. Zhang, D. Poisson, and D. Babuty.** 2008. Heart rate variability in mice: a theoretical and practical guide. *Exp.Physiol* **93**:83-94
  128. **Tiemann, K., D. Weyer, P. C. Djoufack, A. Ghanem, T. Lewalter, U. Dreiner, R. Meyer, C. Grohe, and K. B. Fink.** 2003. Increasing myocardial contraction and blood pressure in C57BL/6 mice during early postnatal development. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **284**:H464-H474
  129. **Trapp, S., M. I. Aller, W. Wisden, and A. V. Gourine.** 2008. A role for TASK-1 (KCNK3) channels in the chemosensory control of breathing. *J.Neurosci.* **28**:8844-8850
  130. **Veitia, R. A.** 2002. Exploring the etiology of haploinsufficiency. *Bioessays* **24**:175-184

131. **Washburn, C. P., D. A. Bayliss, and P. G. Guyenet.** 2003. Cardiorespiratory neurons of the rat ventrolateral medulla contain TASK-1 and TASK-3 channel mRNA 2. *Respir.Physiol Neurobiol.* **138**:19-35
132. **Welch, W. J., M. L. Smith, R. F. Rea, R. A. Bauernfeind, and D. L. Eckberg.** 1989. Enhancement of sympathetic nerve activity by single premature ventricular beats in humans. *J.Am.Coll.Cardiol.* **13**:69-75
133. **Wichterle, D., V. Melenovsky, and M. Malik.** 2002. Mechanisms involved in heart rate turbulence. *Card Electrophysiol.Rev.* **6**:262-266
134. **Wichterle, D., V. Melenovsky, J. Simek, J. Malik, and M. Malik.** 2006. Hemodynamics and autonomic control of heart rate turbulence. *J.Cardiovasc.Electrophysiol.* **17**:286-291
135. **Wickenden, A. D., P. Lee, R. Sah, Q. Huang, G. I. Fishman, and P. H. Backx.** 1999. Targeted expression of a dominant-negative K(v)4.2 K(+) channel subunit in the mouse heart. *Circ.Res.* **85**:1067-1076
136. **Wickman, K., J. Nemeč, S. J. Gendler, and D. E. Clapham.** 1998. Abnormal heart rate regulation in GIRK4 knockout mice. *Neuron* **20**:103-114
137. **Williams, B. A. and K. J. Buckler.** 2004. Biophysical properties and metabolic regulation of a TASK-like potassium channel in rat carotid body type 1 cells. *Am.J.Physiol Lung Cell Mol.Physiol* **286**:L221-L230
138. **Xian, T. L., V. Dyachenko, M. Zuzarte, C. Putzke, R. Preisig-Muller, G. Isenberg, and J. Daut.** 2006. The stretch-activated potassium channel TREK-1 in rat cardiac ventricular muscle. *Cardiovasc.Res.* **69**:86-97
139. **Xu, M., A. Welling, S. Papparisto, F. Hofmann, and N. Klugbauer.** 2003. Enhanced expression of L-type Cav1.3 calcium channels in murine embryonic hearts from Cav1.2-deficient mice. *J.Biol.Chem.* **278**:40837-40841
140. **Yamamoto, Y., W. Kummer, Y. Atoji, and Y. Suzuki.** 2002. TASK-1, TASK-2, TASK-3 and TRAAK immunoreactivities in the rat carotid body. *Brain Res.* **950**:304-307
141. **Yan, G. X., Y. Wu, T. Liu, J. Wang, R. A. Marinchak, and P. R. Kowey.** 2001. Phase 2 early afterdepolarization as a trigger of polymorphic ventricular tachycardia in acquired long-QT syndrome : direct evidence from intracellular recordings in the intact left ventricular wall. *Circulation* **103**:2851-2856
142. **Yin, F. C., H. A. Spurgeon, K. Rakusan, M. L. Weisfeldt, and E. G. Lakatta.** 1982. Use of tibial length to quantify cardiac hypertrophy: application in the aging rat. *Am.J.Physiol* **243**:H941-H947
143. **Zareba, W. and I. Cygankiewicz.** 2008. Long QT syndrome and short QT syndrome. *Prog.Cardiovasc.Dis.* **51**:264-278

144. **Zaritsky, J. J., J. B. Redell, B. L. Tempel, and T. L. Schwarz.** 2001. The consequences of disrupting cardiac inwardly rectifying K(+) current (I(K1)) as revealed by the targeted deletion of the murine Kir2.1 and Kir2.2 genes. *J.Physiol* **533**:697-710
  
145. **Zhou, J., S. Kodirov, M. Murata, P. D. Buckett, J. M. Nerbonne, and G. Koren.** 2003. Regional upregulation of Kv2.1-encoded current, I<sub>K,slow2</sub>, in Kv1DN mice is abolished by crossbreeding with Kv2DN mice. *Am.J.Physiol Heart Circ.Physiol* **284**:H491-H500

---

Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere an Eides statt, dass die Dissertation selbstständig und ohne unzulässige fremde Hilfe erstellt worden ist und die hier vorgelegte Dissertation nicht von einer anderen Medizinischen Fakultät abgelehnt worden ist.

12.02.2013, Nora Geduldig

Unterschrift

---

## 7 Danksagungen

Danken möchte ich zuallererst meiner Doktormutter Frau Prof. Birgit Donner für die kompetente Betreuung meiner Arbeit und stete Hilfsbereitschaft. Großer Dank gilt auch allen am Forschungsprojekt beteiligten MTAs und Doktoranden der Unikinderklinik Düsseldorf. Besonders wichtig für meine Arbeit war die vorangegangene Forschungsarbeit der Tierärztin Frau Martina Schullenberg, der ich hiermit ebenfalls herzlich danken möchte.

Grundlage für das Projekt war natürlich die freundliche Kooperation mit Prof. Dr. W. Wisden aus der Abteilung für Klinische Neurobiologie der Universität Heidelberg, der uns die die TASK-1<sup>-/-</sup> Maus zur Verfügung gestellt hat.

---

## 8 Lebenslauf

### ▪ PERSÖNLICHE DATEN

Name Nora Marie Geduldig  
Geburtsdatum, -ort 14.08.1985, Meerbusch

### ▪ SCHUL-UND HOCHSCHULAUSBILDUNG

<b>November 2011</b>	<b>2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 1,0)</b>
2008-2009	Stipendium der Herzog Erik von Arenberg-Stiftung
<b>August 2007</b>	<b>1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung (Note 1,0)</b>
Oktober 2005	Aufnahme des Medizinstudiums an der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf
1996-2005	Gesamtschule Heiligenhaus, Abschluss Abitur (Note 1,3)

### ▪ PRAKTISCHES JAHR

August 2010–Juli 2011

1. Tertial	<b>Innere Medizin</b>	<b>Zürcher Höhenklinik Wald</b> , Wald (ZH), Schweiz
2. Tertial	<b>Pädiatrie</b>	<b>Universitätsklinik Düsseldorf</b>
3. Tertial	<b>Chirurgie</b>	<b>Universitätsklinik Düsseldorf</b>

### ▪ DERZEITIGE TÄTIGKEIT

Seit April 2012 Facharztweiterbildung Kinder- und Jugendmedizin  
an der Universitätsklinik Essen