

DOI	10.1007/s12181-010-0283-1
Copyright	Springer-Verlag – 2010

Klinische Pharmakologie

Ryanodin-Rezeptor-Stabilisatoren

Neue Strategie zur Behandlung von Herzrhythmusstörungen und Herzinsuffizienz

K. Hellenkamp¹ · S.E. Lehnart^{1,2}

¹ Heart Research Center Goettingen, Dept. of Cardiology & Pulmonology, Georg August University Medical School, Goettingen

² Center for Biomedical Engineering and Technology, University of Maryland Baltimore, Baltimore, USA

Korrespondenzadresse

S.E. Lehnart

Heart Research Center Goettingen, Dept. of Cardiology & Pulmonology, Georg August University Medical School

Robert-Koch-Str. 40

37075 Goettingen

slehnart@med.uni-goettingen.de

Online publiziert: Onlinedatum erscheint nach Freigabe

Zusammenfassung

Unterschiedliche Krankheitsformen wie Arrhythmie, Herzinsuffizienz, Skelettmuskeldystrophie und Epilepsie werden neuerdings mit pathologisch gesteigerter Freisetzung („Leak“) von Ca^{2+} aus intrazellulären Organellen assoziiert. Intrazelluläre Ca^{2+} -Freisetzung wird im Herzen durch kardiale Ryanodin-Rezeptoren (RyR2) vermittelt, die als intrazelluläre Freisetzungskanäle im Ca^{2+} -Speicherorganell des sarkoplasmatischen Retikulum (SR) vorkommen. RyR2-abhängige Ca^{2+} -Freisetzung ist essenziell für die physiologische

Kontraktion und Relaxation und somit für die systolische und diastolische Herzfunktion. Die Funktion des RyR2-Freisetzungskanals wird durch 4 identische Untereinheiten und jeweils mit den Untereinheiten assoziierte Enzyme moduliert. Sowohl genetische als auch erworbene Herzerkrankungen beeinträchtigen die stabile Schließung von RyR2 in der Diastole, was zu Undichtigkeit des Kanals und SR-Ca²⁺-Leak führt. Die akute Form von SR-Ca²⁺-Leak kann zu Nachdepolarisationen des Membranpotenzials und tödlichen Arrhythmien führen, die chronische Form zu Ca²⁺-Verarmung der SR-Speicher und progredienter Verschlechterung der Herzmuskelfunktion bei Herzinsuffizienz (HI). Undichte RyR2 sind das pharmakologische Ziel neuer RyR-selektiver 1,4-Benzothiazepin-Derivate, die den geschlossenen Kanalzustand durch vermehrte Calstabin2-Bindung stabilisieren, SR-Ca²⁺-Leak verhindern und therapeutische Wirksamkeit bei Arrhythmien und Herzinsuffizienz in vivo gezeigt haben.

Schlüsselwörter

Ryanodin-Rezeptoren · Arrhythmien · Herzrhythmusstörungen · Herzinsuffizienz · Ca²⁺-Freisetzung

Ryanodine receptor stabilizers

New strategies for the treatment of cardiac arrhythmias and heart failure

Abstract

Different disease syndromes including arrhythmias, heart failure, skeletal myopathy, and epilepsy have been associated with abnormally increased Ca²⁺ leak from the intracellular organelles. In the heart, intracellular Ca²⁺ release is controlled by cardiac ryanodine receptors (RyR2s) which are Ca²⁺ release channels situated in the membranes of the sarcoplasmic reticulum (SR) storage organelles. RyR2-dependent Ca²⁺ release is essential for myocardial contraction and relaxation which control systolic and diastolic heart function. The function of the Ca²⁺ release channel depends on four identical RyR2 subunits each associated with a specific set of enzymes which modulate cardiac function. Both genetic and acquired forms of heart disease result in unstable RyR2 channel closure in diastole and detrimental SR Ca²⁺ leak. The acute form of SR Ca²⁺ leak leads to afterdepolarizations of the membrane potential which may trigger deadly arrhythmias, whereas the chronic form of SR Ca²⁺ leak

depletes intracellular Ca^{2+} stores and contributes to heart failure. Leaky RyR2 channels are the pharmacological target of novel RyR-selective 1,4-benzothiazepin derivatives, which were found to stabilize the channel closed state through increased calstabin2 binding, to inhibit SR Ca^{2+} leak, and to exert therapeutic in vivo effects against arrhythmias and heart failure progression.

Keywords

Ryanodine receptors · Arrhythmias · Cardiac arrhythmias · Heart failure · Ca^{2+} release

In Herzmuskelzellen (Kardiomyozyten) aktiviert ein Aktionspotenzial vorübergehend einen Ca^{2+} -Einwärtsstrom (I_{Ca}) durch spannungsabhängige L-Typ- Ca^{2+} ($\text{Ca}_v1.2$)-Kanäle. Der L-Typ- Ca^{2+} -Einwärtsstrom aktiviert kardiale Ryanodin-Rezeptoren (RyR2), die Ca^{2+} aus intrazellulären Speicherorganellen (sarkoplasmatisches Retikulum, SR) freisetzen und das zytosolische Ca^{2+} -Signal verstärken. RyR2-Kanäle werden v. a. im Herzen und im Gehirn stark exprimiert [1]. Im Herzen kontrollieren RyR2 intrazelluläre Ca^{2+} -Signale während der Erregungs-Kontraktions-Koppelung, die Kontraktion und Relaxation von Herzschlag zu Herzschlag vermittelt. Unter physiologischen Bedingungen wird intrazelluläre Ca^{2+} -Freisetzung in Kardiomyozyten einerseits räumlich auf mikroskopische subzelluläre Signaldomänen begrenzt und andererseits zeitlich durch die stabile Schließung der RyR2-Kanäle auf die frühe Systole begrenzt. Diese raumzeitlichen Schutzmechanismen werden bei Herzerkrankungen entscheidend kompromittiert, sodass es zu diastolischem Ca^{2+} -Leak mit teilweise tödlichen Folgen kommen kann.

Formung intrazellulärer Signalkomplexe durch Ryanodin-Rezeptoren

RyR2-Kanäle sind aus 4 identischen Untereinheiten aufgebaut, die symmetrisch um die Ca^{2+} leitende Porenregion angeordnet sind [2]. Jede RyR2-Einheit hat eine ungewöhnlich große zytosolische Domäne, an die jeweils eine Gruppe von Enzymen spezifisch assoziiert ist, welche die Ca^{2+} -Freisetzung modulieren (**Abb. 1a**). So bindet jede RyR2-

Untereinheit ein Molekül Calstabin2 (auch FKBP12.6 genannt), das die Schließung des Ca^{2+} -Freisetzungskanals stabilisiert und somit unkontrollierte intrazelluläre Ca^{2+} -Freisetzung in der Diastole verhindert [3, 4]. Zusätzlich werden eine überschießende Aktivierung des RyR2-Kanals und unkontrollierte Ca^{2+} -Freisetzung durch Phosphatasen (PP1 und PP2A), eine cAMP-spezifische Phosphodiesterase (PDE4D3) und Calmodulin verhindert. Andererseits steigern die ebenfalls assoziierten Protein-Kinase-A- (PKA) und Ca^{2+} -Calmodulin-abhängige Kinase (CaMK) RyR2- Ca^{2+} -Freisetzung [4, 5].

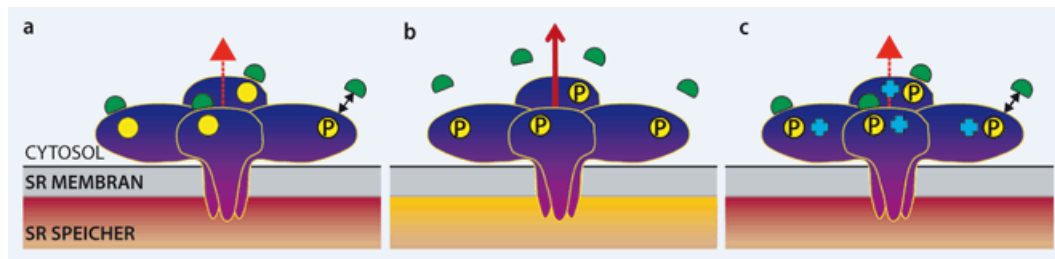


Abb. 1 Herzinsuffizienz verändert Ryanodin-Rezeptoren und induziert Ca^{2+} -Leak. **a** Geschlossener RyR2-Zustand unter normalen Bedingungen: die Mehrzahl von 4 identischen RyR2-Untereinheiten (*lila*) ist nicht phosphoryliert (*gelber Kreis*), und Calstabin2- (*grün*) Bindung (*Doppelpfeil*) wird durch PKA-Phosphorylierung (*P*) aktiviert. In der Summe ist der basale Kalzium-Leak in der Diastole minimal (*roter gepunkteter Pfeil*). **b** Im Gegensatz zu **a** sind bei Herzinsuffizienz maximal alle RyR2-Untereinheiten phosphoryliert (*P*), Calstabin2 bindet nicht mehr stabil, Kalzium-Leak aus den SR-Speichern ist groß (*roter Pfeil*), sodass der Kalziumgehalt des SR effektiv abnimmt (*orange*). **c** Behandlung mit RyR2-stabilisierenden Substanzen (*hellblaue Kreuze*), bei Herzinsuffizienz verstärkt Calstabin2-Bindung, stabilisiert die Kanalschließung, verhindert SR-Kalzium-Leak insbesondere von maximal durch PKA-Phosphorylierung stimulierte RyR2 (vergleiche mit **b**) und verlangsamt das progrediente Fortschreiten der Herzinsuffizienz

Chronisches Ca^{2+} -Leak bei Herzinsuffizienz durch Änderungen der Zusammensetzung von RyR2-Kanälen

Die Komposition der stöchiometrischen Zusammensetzung des RyR2-Kanalkomplexes mit den physiologischerweise assoziierten Enzymen ist funktionell bedeutend, z. B. sind Frequenz und Dauer subzellulärer Ca^{2+} -Freisetzungssignale (sog. Sparks) unter basalen (nicht stimulierten) Bedingungen und in verschiedenen Zellregionen stabil, sodass keine unkontrollierte Ca^{2+} -Freisetzung stattfindet [6]. In Kardiomyozyten werden RyR2-Kanäle

direkt durch Agonisten von β -adrenergen Rezeptoren (β -AR) stimuliert, die durch PKA-Phosphorylierung zu gesteigerter Kanalaktivität, vermehrter Ca^{2+} -Freisetzung und zur Zunahme der Kontraktionskraft (Inotropie) beitragen [4, 7]. Dagegen kommt es bei Herzinsuffizienz zu chronisch gesteigerter PKA-Phosphorylierung und Veränderungen der Zusammensetzung des RyR2-Komplexes mit Verlust mehrerer protektiver Enzyme inklusive des stabilisierenden Calstabin2 (**Abb. 1b**, [4, 8]). In insuffizienten menschlichen Herzen ist auch eine verminderte cAMP-Hydrolyse im RyR2-Kanal durch Verlust einer Phosphodiesterase (PDE4D3) identifiziert worden, die direkt zu einer chronisch gesteigerten RyR2-Phosphorylierung durch PKA beitragen kann [5]. Vermehrte PKA-Phosphorylierung von RyR2 durch PDE4D3-Verlust und verminderte Bindung des stabilisierenden Calstabin2 tragen gemeinsam zu chronischem SR- Ca^{2+} -Leak und progredienter Verschlechterung der Pumpfunktion bei Herzinsuffizienz bei [5]. Verminderte Phosphodiesterase-Aktivität im RyR2-Kanal ist auch ein möglicher Mechanismus von Nebenwirkungen bei chronischer Behandlung mit Phosphodiesterase-Inhibitoren [9].

Durch akute RyR2-Dysfunktion und Ca^{2+} -Leak verursachte Arrhythmien

Im Gegensatz zu chronischem SR- Ca^{2+} -Leak sind akute Leak-Mechanismen von Bedeutung für die Pathogenese von lebensbedrohlichen ventrikulären Arrhythmien. Missense-Mutationen des *Ryr2*-Gens verursachen charakteristischerweise stressinduzierte Synkopen und plötzlichen Herztod, ein Syndrom, das als katecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie (CPVT) beschrieben wurde [10, 11]. Neuere experimentelle Daten haben gezeigt, dass bei CPVT-Patienten häufig auftretende Krampfanfälle nicht wie ursprünglich vermutet die Folge von Gehirnhypoxie infolge von Minderperfusion bei anhaltenden Arrhythmien, sondern primär neurologisch bedingt sind, sodass wir vorgeschlagen haben, CPVT als kombiniertes neurokardiogenes Syndrom zu beschreiben [1]. In der Tat sind post mortem in Opfern eines plötzlichen unerwarteten Todes bei Epilepsie RyR2-Mutationen identifiziert worden [12]. RyR2-Missense-Mutationen destabilisieren typischerweise den Geschlossenenzustand des RyR2-Kanals, was insbesondere in Gegenwart starker β -AR-Stimulation möglicherweise durch verminderte Calstabin2-Bindung und direkte Destabilisierung der Kanaluntereinheiten zu akutem Ca^{2+} -Leak und getriggerten Arrhythmien führt [13, 14]. Bei vermehrtem physiologischem Stress – vergleichbar zu Belastungsuntersuchungen bei Patienten – hat ein

Mausmodell mit RyR2-Missense-Mutation den humanen Phänotyp von CPVT inklusive plötzlichem Herztod reproduziert [1]. Da Ca^{2+} -getriggerte Arrhythmien nicht nur bei CPVT, sondern insbesondere bei der sehr häufigen Herzinsuffizienz von großer Bedeutung sind, ist die Aufklärung molekularer Mechanismen bei CPVT auch von unmittelbarer Bedeutung für das Verständnis der Pathophysiologie von Arrhythmien bei Herzinsuffizienz sowie die Entwicklung und Testung neuartiger pharmakologischer Strategien [15].

Beeinflussung von RyR2-Kanälen durch pharmakologische Substanzen

Die maximale Leitfähigkeit des RyR2-Kanals ist relativ zu L-Typ Ca^{2+} -Kanälen ca. 10-fach höher [16]. Hohe RyR2- Ca^{2+} -Flussraten ermöglichen eine Anpassung durch physiologische Regulationsmechanismen wie oben beschrieben. Zusätzlich kann die RyR- Ca^{2+} -Flussrate durch eine Vielzahl von pharmakologisch aktiven Substanzen beeinflusst werden, von denen die wichtigsten hier exemplarisch zusammengefasst werden (Tab. 1). Weitere Substanzen sind in früheren Übersichtsarbeiten diskutiert worden [17, 18].

Ryanodin ist ein neutrales Pflanzenalkaloid, das die Funktion gestreifter Muskeln inhibiert. Ryanodin bindet selektiv an offene Kanäle mit sehr hoher Affinität [19, 20]. Bereits nanomolare Konzentrationen aktivieren RyR2, wohingegen mikro- bis millimolare Konzentrationen den Kanal blockieren. Ryanodin wird aufgrund der hohen Spezifität oft zum Nachweis von RyR-Proteinen eingesetzt.

Kaffein ist ein Methylxanthin und als Genussdroge sehr verbreitet. Experimentell spielt Kaffein eine wichtige Rolle, da es in millimolaren Konzentrationen Ca^{2+} -Freisetzung aus intrazellulären Speichern aktiviert. Kaffein erhöht die Sensitivität von RyR2 für physiologische Liganden [21]. Kaffein wird auch für die In-vitro-Diagnostik von Myopathien und experimentell zur Behandlung von Muskeler schöpfung in kleinen Patientenstudien eingesetzt [22].

Maligne Hyperthermie (MH) stellt eine subklinische Myopathie dar, die in den meisten Fällen durch Mutationen der Skelettmuskel-RyR1-Isoform verursacht wird [23]. MH-Veranlagung beschreibt eine klinische Prädisposition für die Auslösung eines lebensgefährlichen metabolischen Schocksyndroms durch Inhalationsanästhetika und depolarisierende Muskelrelaxanzien. MH-mutierte RyR1-Kanäle verursachen bei

entsprechender pharmakologischer Exposition unkontrollierte intrazelluläre Ca^{2+} -Freisetzung [24]. Dantrolen ist ein RyR1-Kanalblocker, der als Notfallsubstanz in der akuten MH-Krise eingesetzt wird [25]. Dantrolen zeigte auch therapeutische Aktivität in Kardiomyozyten aus insuffizienten Herzen [26]. Dagegen aktiviert 4-Chloro-m-cresol (4-CmC) intrazelluläre Ca^{2+} -Freisetzung durch RyR1 (Tab. 1, [27]). Wie Kaffein wird auch 4-CmC zur In-vitro-Diagnostik von Muskelbiopsaten von MH-Patienten eingesetzt.

FK506 und Rapamycin sind Makrolidimmunsuppressiva, die spezifisch an FKBP12 und FKBP12.6 binden [28]. FKBP12 (Calstabin1) ist zu 85% identisch mit FKBP12.6 (Calstabin2). Beide Calstabin-Proteine haben eine hydrophobe Bindungsstelle für Ryanodin-Rezeptoren [28, 29]. Kompetitive FK506- oder Rapamycin-Bindung dissoziiert Calstabin2 von RyR2, was intrazelluläres Ca^{2+} -Leak induziert [30, 31].

In Kardiomyozyten steigern β -AR-Agonisten intrazelluläre cAMP-Synthese und die PKA-vermittelte Phosphorylierung intrazellulärer Substrate inklusive RyR2. PKA-Phosphorylierung steigert die Sensitivität von RyR2 für zytosolische Ca^{2+} -Aktivierung, sodass der Kanal bei einer gegebenen zytosolischen Ca^{2+} -Konzentration aktiver ist [5, 32]. In RyR2-Mutationsträgern sind teilweise lebensgefährliche Nebenwirkungen von β -AR-Agonisten bei Wiederbelebungsversuchen beschrieben worden [33, 34]. Andererseits schützen Blocker von β -AR bei Herzinsuffizienz vor gesteigerter RyR2-Phosphorylierung und Ca^{2+} -Leak [35, 36] und in einem Teil von RyR2-Mutationsträgern vor ventrikulären Arrhythmien [37].

Therapeutische Wirksamkeit von neuen RyR2 modulierenden Substanzen

Da diastolisches SR- Ca^{2+} -Leak ein wichtiger pathogenetischer Faktor bei Herzinsuffizienz und Arrhythmien ist, ist das Interesse an neuartigen RyR2-wirksamen Substanzen als therapeutischem Mechanismus groß (Tab. 2). Ein 1,4-Benzothiazepin-Derivat namens JTV519 (auch K201 genannt) zeigte in Untersuchungen an herzinsuffizienten Hunden in vivo therapeutische Wirksamkeit [38]. Wir konnten zeigen, dass JTV519 die Affinität von Calstabin2 an RyR2 erhöht, die Schließung des Kanals stabilisiert und diastolisches Ca^{2+} -Leak verhindert (Abb. 1c, [13, 39, 40]). JTV519 verhinderte auch späte Nachdepolarisationen und getriggerte ventrikuläre Arrhythmien, und diese Wirkung ist an die Expression von Calstabin2 gebunden [3, 40]. JTV519-behandelte Tiere sind vor progressiver

Dilatation und Funktionsverlust bei Herzinsuffizienz nach Myokardinfarkt im Vergleich zu placebobehandelten Tieren geschützt [5, 41, 42]. JTV519-Behandlung führte auch in isolierten Muskelpräparaten terminal insuffizienter menschlicher Herzen zu einer Funktionsverbesserung [43]. In Kardiomyozyten sind aber auch inhibitorische JTV519-Effekte auf L-Typ-Ca²⁺-Kanäle und Na⁺-Kanäle beschrieben worden [44], sodass die Entwicklung von RyR-selektiven Derivaten mit verbesserter Wasserlöslichkeit vorteilhaft wäre.

Ein solches wasserlösliches RyR2-selektives Derivat ist S107 (Tab. 2). S107-behandelte Tiere mit einer RyR2-Missense-Mutation sind im Vergleich zu placebobehandelten Tieren vor stressinduzierten ventrikulären Arrhythmien und plötzlichem Herztod geschützt [1]. S107 passiert die Blut-Hirn-Schranke und konnte eine vermehrte Calstabin2-Bindung an RyR2 im Großhirn induzieren, sodass die Latenz bis zum Auftreten generalisierter Krampfanfälle signifikant verlängert werden konnte [1]. S107 zeigte aber auch therapeutische Wirkungen im Skelettmuskel, z. B. resultierte S107-Behandlung in einer Verbesserung der Muskelfunktion bei anhaltender Belastung und zur Abnahme von Muskelfaserverlust bei Muskeldystrophie [45, 46]. Zusätzlich für die Anwendung bei Patienten optimierte 1,4-Benzothiazepin-Derivate werden aktuell in klinischen Phase-I/II-Studien bei CPVT und Herzinsuffizienz untersucht. Zusammenfassend hat S107 bei unterschiedlichen Formen von Organdysfunktion therapeutische Effektivität gezeigt.

Im Gegensatz zu S107 und JTV519 blockieren Tetracain und Procainamid die Pore von spannungsabhängigen Natriumkanälen (Na_v), aber auch die Pore von RyR2 unter experimentellen Bedingungen [47, 48, 49]. Tetracain wurde als mögliches therapeutisches Prinzip in Kardiomyozyten charakterisiert [50]. Andererseits verursacht Tetracain eine instabile und potenziell proarrhythmische Dynamik der SR-Ca²⁺-Beladung [51], und effektive RyR2-inhibitorische Konzentrationen von Tetracain sind zu hoch für den klinischen Einsatz. Auch Flecainid blockiert Na_v- und RyR2-Kanäle. Neuere Studien haben therapeutische Wirksamkeit von Flecainid gegen Extrasystolie in 2 CPVT-Patienten gezeigt [52]. Flecainid blockiert aktivitätsabhängig den Offenzustand von RyR2 in vitro, sodass im Mittel längere Geschlossen Zustände und weniger SR-Ca²⁺-Leak auftreten [53]. Welcher der beiden Mechanismen – Blockade von RyR2- oder Na⁺-Kanal – für die In-vivo-Wirksamkeit von Flecainid entscheidend ist und ob Flecainid durch direkte Blockade von SR-Ca²⁺-Freisetzung auch kardiodepressiv wirkt, wurde bisher nicht untersucht [54].

Fazit für die Praxis

Ryanodin-Rezeptor-stabilisierende Substanzen haben bei Arrhythmien, Herzinsuffizienz, Myopathie und Epilepsie in vivo therapeutische Wirksamkeit gezeigt. Interessanterweise wurden für das Klasse-Ic-Antiarrhythmikum Flecainid RyR2-Kanal-blockierende Wirkungen und neue therapeutische Wirkungen festgestellt. Im Gegensatz zu klassischen antiarrhythmischen Kanalblockern stabilisieren 1,4-Benzothiazepin-Derivate den physiologischen Geschlossenenzustand des RyR2-Kanals durch verstärkte Bindung von Calstabin2 und möglicherweise weitere Mechanismen. RyR2 stabilisierende Substanzen inhibieren durch Verstärkung physiologischer Mechanismen vermehrte Ca^{2+} -Freisetzung („Leak“) aus intrazellulären Speicherorganellen bei Herzinsuffizienz und Arrhythmien. Instabile RyR2-Schließung ist auch das Ziel neuer und selektiver 1,4-Benzothiazepin-Derivate, die aktuell in klinischen Phase-I/II-Studien bei CPVT und Herzinsuffizienz getestet werden.

Danksagung ■■■■■■■■ The research leading to these results has received funding from the European Community's Seventh Framework Programme FP7/2007–2013 under grant agreement No. HEALTH-F2-2009-241526, EUTrigTreat (to S.E.L). ■■■■■■■■ Die experimentellen Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (KFO 155 Le 1313/2-1/2) und das Nationale Genom Forschungsnetzwerk (NGFN+) unterstützt (beide an S.E.L).

Interessenkonflikt Der korrespondierende Autor gibt an, dass kein Interessenkonflikt besteht.

Literatur

1. Lehnart SE, Mongillo M, Bellinger A et al (2008) Leaky Ca^{2+} release channel/ryanodine receptor 2 causes seizures and sudden cardiac death in mice. *J Clin Invest* 118:2230–2245
2. Balshaw D, Gao L, Meissner G (1999) Luminal loop of the ryanodine receptor: a pore-forming segment? *Proc Natl Acad Sci U S A* 96:3345–3347
3. Wehrens XH, Lehnart SE, Huang F et al (2003) FKBP12.6 deficiency and defective calcium release channel (ryanodine receptor) function linked to exercise-induced sudden cardiac death. *Cell* 113:829–840

4. Marx SO, Reiken S, Hisamatsu Y et al (2000) PKA phosphorylation dissociates FKBP12.6 from the calcium release channel (ryanodine receptor): defective regulation in failing hearts. *Cell* 101:365–376
5. Lehnart SE, Wehrens XH, Reiken S et al (2005) Phosphodiesterase 4D deficiency in the ryanodine-receptor complex promotes heart failure and arrhythmias. *Cell* 123:25–35
6. Cannell MB, Cheng H, Lederer WJ (1995) The control of calcium release in heart muscle. *Science* 268:1045–1049
7. Ogrodnik J, Niggli E (2010) Increased Ca^{2+} leak and spatiotemporal coherence of Ca^{2+} release in cardiomyocytes during beta-adrenergic stimulation. *J Physiol* 588:225–242
8. Reiken S, Gaburjakova M, Guatimosim S et al (2003) Protein kinase A phosphorylation of the cardiac calcium release channel (ryanodine receptor) in normal and failing hearts. Role of phosphatases and response to isoproterenol. *J Biol Chem* 278:444–453
9. Lehnart SE, Marks AR (2006) Phosphodiesterase 4D and heart failure: a cautionary tale. *Expert Opin Ther Targets* 10:677–688
10. Priori SG, Napolitano C, Tiso N et al (2001) Mutations in the cardiac ryanodine receptor gene (hRyR2) underlie catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 103:196–200
11. Laitinen PJ, Brown KM, Piippo K et al (2001) Mutations of the cardiac ryanodine receptor (RyR2) gene in familial polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 103:485–490
12. Johnson JN, Tester DJ, Bass NE et al (n d) Cardiac channel molecular autopsy for sudden unexpected death in epilepsy. *J Child Neurol* ■■■■■■■■■■
13. Lehnart SE, Wehrens XH, Laitinen PJ et al (2004) Sudden death in familial polymorphic ventricular tachycardia associated with calcium release channel (ryanodine receptor) leak. *Circulation* 109:3208–3214
14. Uchinoumi H, Yano M, Suetomi T et al (n d) Catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia is caused by mutation-linked defective conformational regulation of the ryanodine receptor. *Circ Res* ■■■■■■■■■■
15. Pogwizd SM, Hoyt RH, Saffitz JE et al (1992) Reentrant and focal mechanisms underlying ventricular tachycardia in the human heart. *Circulation* 86:1872–1887
16. Tinker A, Williams AJ (1992) Divalent cation conduction in the ryanodine receptor channel of sheep cardiac muscle sarcoplasmic reticulum. *J Gen Physiol* 100:479–493

17. Fill M, Copello JA (2002) Ryanodine receptor calcium release channels. *Physiol Rev* 82:893–922
18. Wehrens XH, Lehnart SE, Marks AR (2005) Intracellular calcium release and cardiac disease. *Annu Rev Physiol* 67:69–98
19. Sutko JL, Airey JA, Welch W et al (1997) The pharmacology of ryanodine and related compounds. *Pharmacol Rev* 49:53–98
20. Tanna B, Welch W, Ruest L et al (1998) Interactions of a reversible ryanoid (21-amino-9 α -hydroxy-ryanodine) with single sheep cardiac ryanodine receptor channels. *J Gen Physiol* 112:55–69
21. Rousseau E, Ladine J, Liu QY et al (1988) Activation of the Ca²⁺ release channel of skeletal muscle sarcoplasmic reticulum by caffeine and related compounds. *Arch Biochem Biophys* 267:75–86
22. Tarnopolsky MA (2008) Effect of caffeine on the neuromuscular system – potential as an ergogenic aid. *Appl Physiol Nutr Metab* 33:1284–1289
23. Ibarra MC, Wu S, Murayama K et al (2006) Malignant hyperthermia in Japan: mutation screening of the entire ryanodine receptor type 1 gene coding region by direct sequencing. *Anesthesiology* 104:1146–1154
24. Tong J, McCarthy TV, MacLennan DH (1999) Measurement of resting cytosolic Ca²⁺ concentrations and Ca²⁺ store size in HEK-293 cells transfected with malignant hyperthermia or central core disease mutant Ca²⁺ release channels. *J Biol Chem* 274:693–702
25. Parness J, Palnitkar SS (1995) Identification of dantrolene binding sites in porcine skeletal muscle sarcoplasmic reticulum. *J Biol Chem* 270:18465–18472
26. Kobayashi S, Yano M, Suetomi T et al (2009) Dantrolene, a therapeutic agent for malignant hyperthermia, markedly improves the function of failing cardiomyocytes by stabilizing interdomain interactions within the ryanodine receptor. *J Am Coll Cardiol* 53:1993–2005
27. Fessenden JD, Feng W, Pessah IN et al (2006) Amino acid residues Gln4020 and Lys4021 of the ryanodine receptor type 1 are required for activation by 4-chloro-m-cresol. *J Biol Chem* 281:21022–21031
28. Deivanayagam CC, Carson M, Thotakura A et al (2000) Structure of FKBP12.6 in complex with rapamycin. *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 56:266–271

29. Samso M, Shen X, Allen PD (2006) Structural characterization of the RyR1-FKBP12 interaction. *J Mol Biol* 356:917–927
30. Xiao RP, Valdivia HH, Bogdanov K et al (1997) The immunophilin FK506-binding protein modulates Ca²⁺ release channel closure in rat heart. *J Physiol* 500 (Pt 2):343–354
31. Kaftan E, Marks AR, Ehrlich BE (1996) Effects of rapamycin on ryanodine receptor/Ca(2+)-release channels from cardiac muscle. *Circ Res* 78:990–997
32. Lindegger N, Niggli E (2005) Paradoxical SR Ca²⁺ release in guinea-pig cardiac myocytes after beta-adrenergic stimulation revealed by two-photon photolysis of caged Ca²⁺. *J Physiol* 565:801–813
33. Priori SG, Napolitano C, Memmi M et al (2002) Clinical and molecular characterization of patients with catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia. *Circulation* 106:69–74
34. Mohamed U, Gollob MH, Gow RM et al (2006) Sudden cardiac death despite an implantable cardioverter-defibrillator in a young female with catecholaminergic ventricular tachycardia. *Heart Rhythm* 3:1486–1489
35. Reiken S, Wehrens XH, Vest JA et al (2003) Beta-blockers restore calcium release channel function and improve cardiac muscle performance in human heart failure. *Circulation* 107:2459–2466
36. Doi M, Yano M, Kobayashi S et al (2002) Propranolol prevents the development of heart failure by restoring FKBP12.6-mediated stabilization of ryanodine receptor. *Circulation* 105:1374–1379
37. Lehnart SE, Ackerman MJ, Benson DW Jr et al (2007) Inherited arrhythmias: a National Heart, Lung, and Blood Institute and Office of Rare Diseases workshop consensus report about the diagnosis, phenotyping, molecular mechanisms, and therapeutic approaches for primary cardiomyopathies of gene mutations affecting ion channel function. *Circulation* 116:2325–2345
38. Yano M, Ono K, Ohkusa T et al (2000) Altered stoichiometry of FKBP12.6 versus ryanodine receptor as a cause of abnormal Ca(2+) leak through ryanodine receptor in heart failure. *Circulation* 102:2131–2136
39. Wehrens XH, Lehnart SE, Reiken SR et al (2004) Protection from cardiac arrhythmia through ryanodine receptor-stabilizing protein calstabin2. *Science* 304:292–296

40. Lehnart SE, Terrenoire C, Reiken S et al (2006) Stabilization of cardiac ryanodine receptor prevents intracellular calcium leak and arrhythmias. *Proc Natl Acad Sci U S A* 103:7906–7910
41. Wehrens XH, Lehnart SE, Reiken S et al (2005) Enhancing calstabin binding to ryanodine receptors improves cardiac and skeletal muscle function in heart failure. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:9607–9612
42. Yano M, Kobayashi S, Kohno M et al (2003) FKBP12.6-mediated stabilization of calcium-release channel (ryanodine receptor) as a novel therapeutic strategy against heart failure. *Circulation* 107:477–484
43. Toischer K, Lehnart SE, Tenderich G et al (2009) K201 improves aspects of the contractile performance of human failing myocardium via reduction in Ca²⁺ leak from the sarcoplasmic reticulum. *Basic Res Cardiol* ■■■■■■■■
44. Kimura J, Kawahara M, Sakai E et al (1999) Effects of a novel cardioprotective drug, JTV-519, on membrane currents of guinea pig ventricular myocytes. *Jpn J Pharmacol* 79:275–281
45. Bellinger AM, Reiken S, Dura M et al (2008) Remodeling of ryanodine receptor complex causes „leaky“ channels: a molecular mechanism for decreased exercise capacity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:2198–2202
46. Bellinger AM, Reiken S, Carlson C et al (2009) Hypernitrosylated ryanodine receptor calcium release channels are leaky in dystrophic muscle. *Nat Med* 15:325–330
47. Nieman CJ, Eisner DA (1985) Effects of caffeine, tetracaine, and ryanodine on calcium-dependent oscillations in sheep cardiac Purkinje fibers. *J Gen Physiol* 86:877–889
48. Xu L, Jones R, Meissner G (1993) Effects of local anesthetics on single channel behavior of skeletal muscle calcium release channel. *J Gen Physiol* 101:207–233
49. Shoshan-Barmatz V, Zchut S (1993) The interaction of local anesthetics with the ryanodine receptor of the sarcoplasmic reticulum. *J Membr Biol* 133:171–181
50. Venetucci LA, Trafford AW, Diaz ME et al (2006) Reducing ryanodine receptor open probability as a means to abolish spontaneous Ca²⁺ release and increase Ca²⁺ transient amplitude in adult ventricular myocytes. *Circ Res* 98:1299–1305
51. Gyorke S, Lukyanenko V, Gyorke I (1997) Dual effects of tetracaine on spontaneous calcium release in rat ventricular myocytes. *J Physiol* 500(Pt 2):297–309

52. Watanabe H, Chopra N, Laver D et al (2009) Flecainide prevents catecholaminergic polymorphic ventricular tachycardia in mice and humans. *Nat Med* 15:380–383
53. Hilliard FA, Steele DS, Laver D et al (n d) Flecainide inhibits arrhythmogenic Ca²⁺ waves by open state block of ryanodine receptor Ca²⁺ release channels and reduction of Ca²⁺ spark mass. *J Mol Cell Cardiol* 48:293–301
54. Lehnart SE, Lederer WJ (n d) An antidote for calcium leak: targeting molecular arrhythmia mechanisms. *J Mol Cell Cardiol* 48:279–282

Tab. 1 „Klassische“ RyR-Pharmakologie

Substanz	Klasse	RyR1	RyR2	RyR3	Konzentration	Klinischer Einsatz	Bemerkung
Ryanodin	Alkaloid	±	±	±	nM–mM	Keine	Toxisch
Kaffein	Xanthin	+	+	+	mM	Stimulans MH In-vitro- Diagnostik	Nebenwirkung
4-CmC	Cl-Phenol	+	+	0	µM–mM	MH In-vitro- Diagnostik Fungizid	Toxisch
Dantrolen	Hydantoin	–	0	–	µM	MH-Krise Behandlung	Nebenwirkung
FK506 Rapamycin	Makrolid	+	+	+	µM	Immunsuppressiv	Nebenwirkung

MH maligne Hyperthermie. Ryanodin hat abhängig von der Konzentration aktivierende oder inhibitorische Effekte (±). Weitere Wirkqualitäten: + aktivierend, – inhibierend, 0 keine.

Tab. 2 „Neue“ RyR-Pharmakologie

	Klasse	Konzentration	Einsatz	Calstabin-Bindung	RyR Po	Na _v I _{Na}	Ca _v I _{Ca}
JTV519	1,4-BTZ	μM	Experimentell	+	↔	–	–
S107	1,4-BTZ ^a	μM	Phase I/II bei HI und CPVT	+++	↔	0	0
Tetracain Procainamid	Amino-Ester	–	Experimentell	?	–	Anästhesie	Nebenwirkung
Flecainid	Benzamid	μM	Experimentell bei CPVT	?	–	–	0

BTZ Benzothiazepin-Derivat.

^aC₁₁H₁₆CINOS: RyR stabilisierende Substanzen sind keine direkten RyR-Kanalblocker, sondern stabilisieren den physiologischen Geschlossenenzustand durch vermehrte Bindung von Calstabin ■■■(,)■■■■■.

Weitere Wirkqualitäten: + aktivierend, – inhibierend, 0 keine.