

Development and usefulness of transgenic rabbit models of inborn arrhythmogenic diseases

Citation for published version (APA):

Brunner, M. (2024). *Development and usefulness of transgenic rabbit models of inborn arrhythmogenic diseases*. [Doctoral Thesis, Maastricht University]. Maastricht University. <https://doi.org/10.26481/dis.20241209mb>

Document status and date:

Published: 01/01/2024

DOI:

[10.26481/dis.20241209mb](https://doi.org/10.26481/dis.20241209mb)

Document Version:

Publisher's PDF, also known as Version of record

Please check the document version of this publication:

- A submitted manuscript is the version of the article upon submission and before peer-review. There can be important differences between the submitted version and the official published version of record. People interested in the research are advised to contact the author for the final version of the publication, or visit the DOI to the publisher's website.
- The final author version and the galley proof are versions of the publication after peer review.
- The final published version features the final layout of the paper including the volume, issue and page numbers.

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal.

If the publication is distributed under the terms of Article 25fa of the Dutch Copyright Act, indicated by the "Taverne" license above, please follow below link for the End User Agreement:

www.umlib.nl/taverne-license

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us at:

repository@maastrichtuniversity.nl

providing details and we will investigate your claim.

Summary of the Thesis

Development and usefulness of transgenic rabbit models of inborn arrhythmogenic diseases.

by Michael Brunner, MD

Animal models are valuable tools for the analysis of arrhythmia mechanisms in heritable arrhythmogenic diseases. As the commonly used mice have markedly different electrophysiological and biochemical properties of the heart, their usefulness for translational research beyond proof-of-concept studies is very limited. This is opposed to rabbits, which show marked similarity of their hearts regarding depolarizing and repolarizing currents and their respective ion channels.

Long- (LQTS) and Short- (SQTS) QT-Syndromes are rare, life-threatening human diseases leading to polymorphic ventricular tachycardia (pVT), syncope and sudden cardiac death (SCD) in affected young patients. Especially in LQTS striking differences exist in arrhythmia occurrence between males and females and in pre- and postpubertal patients, as well as in females before, during and after pregnancy. Furthermore, marked variability in clinical phenotype exists within families despite identical genotype.

To investigate this, my group created the first transgenic LQTS rabbit models using an overexpression of the dominant-negative human pore mutants of KvLQT1 (KvLQT1-Y315S, LQT1, causing loss of I_{Ks}) or HERG channels (HERG-G628S, LQT2, loss of I_{Kr}) under the control of a heart specific β -MyHC Promoter for targeted expression. These transgenic rabbits mimic the human LQTS phenotype with QT prolongation, spontaneous sustained pVT and SCD. As in humans, phenotypes vary markedly in individual rabbits despite identical genotype and during maturation. Disruption of the I_{Kr} current lead to a more marked phenotype in LQTS-rabbits than disruption of the I_{Ks} current due to the more prominent role of I_{Kr} in this species. Increased spatial dispersion of cardiac repolarization duration was identified as a major arrhythmogenic mechanism in these rabbits, and hormonal influences (oestradiol and progesterone) on ion channel expression, repolarizing currents, action potentials and arrhythmia incidence were shown in vitro and in vivo. In LQTS1 (I_{Ks} -deficient) rabbits the pharmacological shortening of the action potential duration using the $I_{K_{ACh}}$ -opener Nicorandil or the HERG-opener NS1643 demonstrated shortening of the APD and QT-Interval in vitro and in vivo, but NS1643 caused marked side effects..

As the SQTS is an extremely rare disease with only a few hundred affected patients reported so far, very little is known about triggering factors, underlying dispersion of repolarization and hormonal influences. To this end, we first analyzed the effects of betablockers carvedilol and metoprolol on WT HERG, and KvLQT1 and the SQT mutants N588K-KCNH2 and V307L-KCNQ1 and found differences in the effects. Using these SQT constructs, the overexpression of the most common human mutation KCN2-N588K (SQTS1) allowed us to create transgenic SQT-rabbits, displaying the human phenotype with shortened QT, altered RR/QT relationship, inducible atrial and ventricular arrhythmias and increased dispersion of repolarization, and the amelioration of the phenotype by quinidine. This is the first published transgenic animal model for SQTS.

Samenvatting

Ontwikkeling en nut van transgene konijnmodellen van aangeboren aritmogene ziekten.

Michael Brunner, MD

Diermodellen zijn waardevolle hulpmiddelen voor de analyse van aritmiemechanismen bij erfelijke aritmogene ziekten. Aangezien de vaak gebruikte muizen duidelijk verschillende elektrofysiologische en biochemische eigenschappen van het hart hebben, is hun bruikbaarheid voor translationeel onderzoek buiten proof-of-concept studies zeer beperkt. Dit in tegenstelling tot konijnen, die duidelijke overeenkomsten vertonen in hun hart wat betreft depolariserende en repolariserende stromen en hun respectievelijke ionenkanalen.

Lange- (LQTS) en korte- (SQTS) QT-syndromen zijn zeldzame, levensbedreigende menselijke ziekten die leiden tot polymorfe ventriculaire tachycardie (pVT), syncope en plotselinge hartdood (SCD) bij getroffen jonge patiënten. Vooral bij LQTS zijn er opvallende verschillen in het optreden van ritmestoornissen tussen mannen en vrouwen en bij pre- en postpuberale patiënten, evenals bij vrouwen voor, tijdens en na de zwangerschap. Bovendien bestaat er een duidelijke variatie in klinisch fenotype binnen families ondanks een identiek genotype.

Om dit te onderzoeken creëerde mijn groep de eerste transgene LQTS konijnmodellen met overexpressie van de dominant-negatieve menselijke porie-mutanten van KvLQT1 (KvLQT1-Y315S, LQT1, wat verlies van IKs veroorzaakt) of HERG kanalen (HERG-G628S, LQT2, verlies van IKr) onder controle van een hart-specifieke β -MyHC promotor voor gerichte expressie. Deze transgene konijnen bootsen het menselijke LQTS fenotype na met QT verlenging, spontane aanhoudende pVT en SCD. Net als bij mensen varieert het fenotype duidelijk bij individuele konijnen, ondanks identiek genotype en tijdens de rijping. Verstoring van de IKr stroom leidde tot een meer uitgesproken fenotype bij LQTS-konijnen dan verstoring van de IKs stroom door de meer prominente rol van IKr in deze diersoort. Verhoogde ruimtelijke spreiding van cardiale repolarisatie duur werd geïdentificeerd als een belangrijk aritmogeen mechanisme in deze konijnen, en hormonale invloeden (oestradiol en progesteron) op ionkanaal expressie, repolariserende stromen, actiepotentialen en aritmie incidentie werden aangetoond in vitro en in vivo. In LQTS1 (IKs-deficiënte) konijnen liet de farmacologische verkorting van de actiepotentiaal met de IK_{ACh}-opener Nicorandil of de HERG-opener NS1643 een verkorting van de APD en QT-interval zien in vitro en in vivo, maar NS1643 veroorzaakte duidelijke bijwerkingen.

Omdat SQTS een extreem zeldzame ziekte is met tot nu toe slechts enkele honderden patiënten, is er weinig bekend over uitlokkende factoren, de onderliggende spreiding van repolarisatie en hormonale invloeden. Daarom analyseerden we eerst de effecten van de bètablokkers carvedilol en metoprolol op WT HERG, KvLQT1 en de SQT-mutanten N588K-KCNH2 en V307L-KCNQ1 en vonden we verschillen in de effecten. Met behulp van deze SQT-constructen, de overexpressie van de meest voorkomende menselijke mutatie KCNH2-N588K (SQTS1), konden we transgene SQT-konijnen creëren, die het menselijke fenotype vertonen met verkorte QT, veranderde RR/QT-relatie, induceerbare atriale en ventriculaire aritmieën en verhoogde dispersie van repolarisatie, en de verbetering van het fenotype door kinidine. Dit is het eerste gepubliceerde transgene diermodel voor SQTS.