

Vores hjerteslag er en konstant i vores liv, som vi alle er afhængige af. Variationer i hjerterytmen spænder bredt: fra den gode type, vi alle kender, når vi fx dyrker motion og pulsen stiger, til den anden yderlighed, hvor uønskede hjerterytmeforstyrrelser i værste fald kan lede til pludseligt hjertesvigt og død.

HJERTETS MOLEKYLÆRE ARBEJDSHESTE OG KONTROLLØRER

ALICIA LUNDBY

NOVO NORDISK FOUNDATION CENTER FOR PROTEIN RESEARCH, KØBENHAVNS UNIVERSITET

Jeg arbejder på at forstå mekanismerne, der på molekylært plan kontrollerer hjerterytmen. Både på den gode og den dårlige måde. Det menneskelige hjerte slår cirka 100.000 gange om dagen. Hvert hjerteslag udgøres af en sammentrækning af hjertermusklen, som bliver kontrolleret af elektriske impulser. Hvis der forekommer uregelmæssigheder i udbredelsen af de elektriske impulser, medfører det hjerterytmeforstyrrelser, som kan variere fra harmløse ekstra slag til dødbringende arytmier. De elektriske impulser kan dog også genereres oftere, hvis der simpelthen er behov for, at vores hjerte skal slå hurtigt.

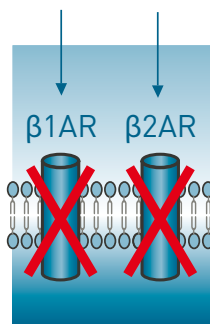
PROTEINERNE BAG ET ADRENALINKICK

Vi kender nok alle fornemmelsen af, at vores hjerte begynder at slå hurtigt og hårdt, når vi bliver forskrækkede eller får et adrenalinkick. Men hvad sker der egentlig på molekylært niveau i hjertet, når dette sker? Det har vi for nyligt undersøgt.

Det sympatiske nervesystem er en af de vigtigste fysiologiske stimuli af det kardiovaskulære system. Det er derfor vigtigt at belyse hvilke proteiner, der bliver reguleret af det sympatiske nervesystem, for at opnå en grundig forståelse af de mekanismer, hjertet benytter for at regu-

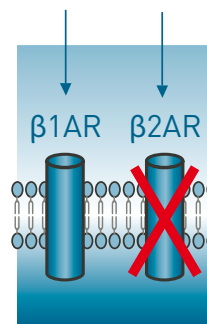
KONTROL MUS

β1-blokker β2-blokker

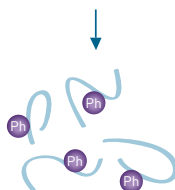


β1AR STIMULEREDE MUS

β1-aktivator β2-blokker

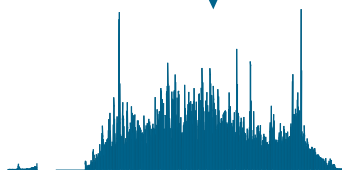


Ekstraktion af proteiner fra hjerterne



Berigelse af fosforylerede peptider

Massespektrometri
LC-MS/MS



Identifikation af:
4.246 proteiner
8.518 fosforylerings sites

**IDENTIFIKATION AF 670 PROTEIN FOSFORYLERINGER,
DER ER REGULERET VED β1AR STIMULERING**

lere hjerterytmen. For at kortlægge præcist de ændringer, der sker i hjertet, når pulsen øges, har vi udført en omfattende analyse af proteiner og deres fosforyleringssteder induceret ved stimulering af β -adrenerge receptorer i hjertet. Når de β -adrenerge receptorer aktiveres, medfører det, at en række kinaser i hjertets muskelceller får besked om, at de skal på arbejde. Kinaserne arbejder på at koble fosfatgrupper på proteiner, hvilket påvirker proteinernes funktion. I mange tilfælde fungerer protein fosforylering som en form for 'tænd/sluk' knap for proteinet, der altså simpelthen dikterer, hvor aktivt proteinet er. Fosforylering af et protein kan også påvirke, hvor i cellen proteinet befinder sig, eller påvirke om proteinet 'taler sammen med' andre proteiner. I det studie, vi lavede, påvirkede vi farmakologisk mus med enten β -blokkere, som er stoffer, der hæmmer de β -adrenerge receptorer, eller med stoffer der binder og aktiverer de β -adrenerge receptorer. Efterfølgende isolerede vi hjerterne fra de to grupper af mus og benyttede kvantitativ phosphoproteomics til at undersøge hvilke proteiner, der var fosforyleret på præcis hvilke aminosyrer i hjertet af de to grupper af mus. Med vores forsøg kunne vi vise, at akut stimulering af det β -adrenerge system medfører en øget fosforylering af 353 proteiner fordelt på 670 aminosyrerester. Vores studie ændrede kendskabet til de specifikke protein fosforyleringer induceret ved β -adrenerg stimulering fra et antal, der kunne tælles på et par hænder, til mange hundrede. Blandt de 353 proteiner, vi fandt, er der flere kinaser, man ikke hidtil har forbundet med det β -adrenerge respons. Desuden er der specifikke fosforyleringsites på fx ionkanaler og transportproteiner, som er afgørende for koblingen mellem eksitation og kontraktion af hjertets muskelceller. En af grundene til, at vores studie er interessant, er, at det giver det mest detaljerede billede, vi pt. har af, hvad der sker på molekylært plan i hjertet, når vi me-

dicinsk påvirker hjerterytmen. På baggrund af denne type studier vil man forhåbentlig på sigt kunne udvikle lægemidler, der i stedet for at binde de β -adrenerge receptorer binder nogle af de down-stream targets, da det formodes af have en mindre (negativ) effekt på de langsigtede konsekvenser, en sådan behandling har for hjertets elektriske kredsløb.

GENETISKE FAKTORER FORBUNDET MED HJERTERYTMEN

Udover den positive regulering af hjertet, når vi fysiologisk har brug for det, er der desværre også en lang række mennesker, der døjer med uønskede hjerterytmeforstyrrelser. For en del mennesker har rytmeforstyrrelserne en genetisk forklaring. Men på nuværende tidspunkt er det fortsat kun en meget lille del af arveligheden, der er forklaret. For at forstå de uønskede ændringer i hjerterytmen har vi taget en helt ny tilgang, hvor vi kombinerer proteomics og genetiske studier, med det mål at kunne afdække en større del af arveligheden. Hvis man ønsker at forstå hjerterytmeforstyrrelser, er man nødt til at have et detaljeret indblik i de molekulære mekanismer, der regulerer udbredelsen af hjertets elektriske impulser. Med andre ord, for at forstå hvad der styrer hjertets banken, er man nødt til at forstå de elektriske impulser, der forårsager dem. De elektriske impulser bliver udbredt via en klasse af proteiner, der hedder ionkanaler. Vores tilgang beror på, at vi tager udgangspunkt i de ionkanaler, som man ved fra traditionelle genetiske studier, er vigtige for hjerterytmien. Vi benytter proteomics til at undersøge, hvilke andre proteiner ionkanalerne danner komplekser med i hjertet. Eller sagt med andre ord undersøger vi, hvilke andre proteiner ionkanalerne 'sidder sammen med' i hjertet, da disse andre proteiner ofte er vigtige for ionkanalernes funktion. Den basale idé er, at vi blandt interaktionspartnerne for de vigtige ionkanaler, vil finde proteiner, der ligeledes er

For at forstå, hvad der styrer hjertets banken, er man nødt til at forstå de elektriske impulser, der forårsager dem.



vigtige for hjerterytmen. Ionkanalerne fungerer nemlig ikke som isolerede proteiner, men er dele af større protein-komplekser, hvor deres funktion er reguleret af de andre proteiner. Genome-wide-association-studies har fundet en række loci, eller regioner i genomet, som er forbundet med hjerterytmeforstyrrelser. Men for de fleste af disse loci mangler vi fortsat at belyse præcist hvilket gen, der er det kausale. Ved at kombinere de genetiske data med vores proteomics data har vi kunnet specificere en række gener i de fundne loci, og på den måde bidraget til at afdække genetiske faktorer, der dikterer hjerterytmen.

PERSPEKTIV OG MULIGHEDER

De proteomics metoder, jeg benytter, har udviklet sig enormt inden for de sidste par år, og vi er nu nået til et punkt, hvor det er muligt at anvende metoderne til at analysere vævsprøver. Vi har således mulighed for at se på globale ændringer - på protein eller modifications niveau - der finder sted i et givet organ i kroppen. Denne udvikling af metoden åbner for helt nye muligheder for at undersøge fysiologiske responsmekanismer.

DE SENESTE PUBLIKATIONER FRA STUDIERNE

Lundby et al, Science Signaling, 2013
Lundby et al, Cell Cycle, 2013
Den Hoed et al, Nature Genetics, 2013

Alicia justerer kolonnen på HPLCen, hvor peptider isoleret fra vævsprøver separeres, inden de sprøjtes ind i massespektrometret.