

Franziska Häfner
Dr. med.

Die Inhibition des kardialen „Human *Ether-A-Go-Go*- Related Gene“-Kaliumkanals durch das Antiparkinsonmedikament Orphenadrin

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Christoph A. Karle

Orphenadrin (N,N-Dimethyl-N-[2-(o-methyl-benzhydroxy)-ethyl]-amin) ist ein Anticholinergikum und wird zur medikamentösen Therapie des extrapyramidalen Rigors bei Morbus Parkinson eingesetzt. Während der Therapie mit Orphenadrin wurden vermehrt unerwünschte kardiale Nebeneffekte in Form eines erworbenen LQTS bis hin zu tödlich endenden, ventrikulären Arrhythmien des Typs „Torsade de Pointes“ beobachtet. Bis heute gab es jedoch noch keine elektrophysiologischen in vitro- Untersuchungen bezüglich einer möglichen Wirkung des Medikaments auf den repolarisierenden Ionenstrom. Die vorliegende Arbeit untersuchte somit als erste die repolarisationsverlängernde Wirkung von Orphenadrin an kardialen Ionenkanälen, die den unter Orphenadrin-Therapie beschriebenen Arrhythmien zugrunde liegen könnte.

Hierfür wurde die Wirkung von Orphenadrin auf den kardialen HERG-Kaliumkanal untersucht. Dieser spielt als molekulare Grundlage des „Delayed-Rectifier“-Stroms (IKr) mit seiner charakteristischen Kinetik eine wichtige Rolle bei der Repolarisation des Herzens sowie bei der Regulation der Herzaktion. Veränderungen des Kanals oder seiner Aktivität können die myokardiale Erregungsrückbildung stören und wirken sich somit prädisponierend bezüglich der Auslösung von Arrhythmien (Torsade de Pointes) aus. Eine pharmakologische HERG-Blockade führt beispielsweise zu einem erworbenen Langen QT-Syndrom und ist als äußerst gefährliche Nebenwirkung verschiedener Medikamente bekannt.

Zur Erfassung der biophysikalischen und molekularen Eigenschaften der Substanzwirkung wurden Oozyten des südafrikanischen Krallenfrosches *Xenopus laevis* verwendet. Mit Hilfe der „Voltage-Clamp“-Technik konnte nach Expression der HERG-Kanäle in *Xenopus laevis*-Eizellen eine Inhibition der über die Zellmembran fließenden Ionenströme (IKr) durch das Antiparkinsonmedikament nachgewiesen werden. Die halbmaximale Hemmkonzentration (IC₅₀) von Orphenadrin lag in diesem Expressionssystem bei 6,7 µM.

Zur Bestimmung des physiologischen IC₅₀-Wertes wurden HERG-Kanäle stabil in HEK 293-Zellkulturzellen exprimiert. Hierbei zeigte sich eine Inhibition des durch HERG geleiteten Ionenstroms mit einem IC₅₀ von 0,85 µM. Die Wirkung von Orphenadrin trat rasch innerhalb von Sekunden ein und war nach Auswaschen ebenso rasch reversibel. Die Inhibition von HERG findet hauptsächlich im offenen Kanalzustand, nicht jedoch im geschlossenen oder inaktivierten Zustand statt. Eine Frequenzabhängigkeit der Antagonisierung unter Orphenadrin lag nicht vor. Eine Spannungsabhängigkeit sowie Verschiebung der Aktivierungskurve konnte nicht beobachtet werden. Zur genaueren Analyse des molekularen Bindungsverhaltens von Orphenadrin in der Porenregion des HERG-Kanals wurden gezielt die zwei Aminosäuren Y652 (Tyrosin) und F656 (Phenylalanin) in der S6-Domäne des Kanals mutiert. Aus mehreren Studien ist bekannt, dass diese beiden aromatischen Aminosäuren einen wesentlichen Beitrag zum Bindungsverhalten von Medikamenten an den Kanal leisten. Messungen an mutierten HERG-Kanälen ergaben eine deutlich reduzierte Blockade von IKr. Dies bestätigt die Annahme, dass die Bindung von Orphenadrin an HERG

hauptsächlich durch Interaktion mit den beiden erwähnten Aminosäuren erfolgt und diese von großer Bedeutung hinsichtlich der blockierenden Wirkung des Medikaments sind.

Die Untersuchungsergebnisse bieten eine plausible, molekulare Erklärung für die klinisch beobachtete QT-Verlängerung unter der Therapie mit Orphenadrin und der möglichen proarrhythmische Wirkung des Medikaments. Unter Berücksichtigung der in dieser Arbeit gewonnenen Ergebnisse sollte die Therapie mit Orphenadrin bei Patienten mit Risikofaktoren für ein Langes QT-Syndrom (LQTS) engmaschig überwacht werden bzw. die Indikation überdacht werden.