

Julian Jehle  
Dr. med.

## **Medikamentenassoziierte arrhythmogene und pro-apoptische Mechanismen im Herzen**

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater. Prof. Dr. med. Dierk Thomas

Der human ether-à-gogo related gene Kaliumkanal (hERG, KCNH2, Kv11.1) leitet die schnelle Komponente des Delayed-rectifier-Stroms I<sub>Kr</sub> am Ende eines myokardialen Aktionspotentials und trägt so zur Repolarisation der Kardiomyozyte bei. Die erworbene oder angeborene Minderung der Leitfähigkeit des hERG Kaliumkanals führt zum Long QT-Syndrom (LQTS) und zu potentiell lebensbedrohlichen Torsade de Pointes Tachykardien. Das Hypnotikum Zolpidem steht im Verdacht, ursächlich an der Entstehung des erworbenen LQTS beteiligt zu sein. Bislang wurde jedoch nicht gezeigt, dass Zolpidem den hERG Kaliumkanal blockiert.

In dieser Studie wurde unter Anwendung der Voltage-clamp-Technik im Xenopus Oozyten-Expressionssystem erstmals belegt, dass Zolpidem die Leitfähigkeit des hERG Kaliumkanals vermindert. Dabei blockiert Zolpidem den hERG Kaliumkanal im offenen und im inaktiven Zustand und beschleunigt dessen Inaktivierung, wobei die Blockade weder frequenz- noch spannungsabhängig ist. Die erhobenen Daten zeigen, dass Zolpidem durch Überdosierung oder Arzneimittelinteraktionen zu einer klinisch relevanten Blockade des hERG Kaliumkanals und damit einer Verlängerung der QT<sub>c</sub>-Zeit sowie zu lebensbedrohlichen Torsade de Pointes Tachykardien führen kann.

Neben der Verlängerung der QT<sub>c</sub>-Zeit induziert eine Vielzahl von Blockern des hERG Kaliumkanals Apoptose. Um das apoptotische Potential von Zolpidem zu untersuchen, wurden HL-1 Zellen mit Zolpidem behandelt. Durchlichtmikroskopisch und mit Hilfe des Terminale Desoxyribonukleotid Transferase-vermittelten dUTP nick end Labeling (TUNEL)-Tests konnte gezeigt werden, dass Zolpidem nicht zur Apoptose der HL-1 Zellen führt. Dies legt nahe, dass die alleinige Blockade des hERG Kaliumkanals nicht generell zu Apoptose führt.

Im Gegensatz zu Zolpidem löst der hERG-Blocker Doxazosin in HL-1 Zellen Apoptose aus. Die Apoptoseinduktion konnte mit Hilfe des TUNEL-Tests nachgewiesen und mit Hilfe des XTT-Tests quantifiziert werden. Die molekularen Mechanismen der Doxazosin-induzierten Apoptose von HL-1 Zellen wurden mit Hilfe von Western Blot-Analysen untersucht. Erstmals konnte gezeigt werden, dass Doxazosin zu einer vermehrten Phosphorylierung der Rezeptortyrosinkinase Erythropoietin producing human hepatocellular carcinoma A2 (EphA2) führt, einem bekannten Regulator von Apoptose und Proliferation in Tumorzellen. Ferner führt Doxazosin zur Aktivierung des EphA2-Substrats SHP-2 und zur Aktivierung der pro-apoptischen Proteine p38 MAPK, GADD153, Caspase 8 und Caspase 3. Die anti-apoptischen Proteine FAK und Akt werden durch Doxazosin inaktiviert. Die Kenntnis dieser molekularen Mechanismen der Doxazosin-induzierten kardiomyozytären Apoptose führte schließlich zur Entwicklung eines therapeutischen Ansatzes zur Verhinderung der kardiomyozytären Apoptose. Durch die Gabe von Lithocholsäure (LCA) wird die Phosphorylierung von EphA2 durch Doxazosin gehemmt und die Apoptose der HL-1 Zellen dosisabhängig reduziert. Die molekularen Mechanismen der Doxazosin-induzierten Apoptose, sowie die Verhinderung der Apoptose durch LCA werden in nachfolgenden Studien in einem

in vivo Modell überprüft werden müssen, bevor LCA zur Therapie Apoptose-assoziiierter Herzerkrankungen eingesetzt werden kann.

In der vorliegenden Studie konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Gabe von Doxazosin und LCA auch zur vermehrten Expression unphosphorylierter EphA2 führt. Die vermehrte Expression unphosphorylierter EphA2 wirkt in Tumorzellen anti-apoptotisch, weshalb die Herunterregulierung von EphA2 derzeit als therapeutische Strategie zur Behandlung maligner Neoplasien diskutiert wird. Jedoch konnte in der vorliegenden Arbeit gezeigt werden, dass die Herunterregulierung der EphA2 Expression mittels siRNA in HL-1 Zellen ebenfalls den Zelltod auslöst. Folglich birgt die Verminderung der EphA2-Expression als therapeutische Strategie zur Behandlung maligner Neoplasien möglicherweise gravierende kardiale Nebenwirkungen.

Zusammenfassend zeigen die vorliegenden Ergebnisse, dass bei der klinischen Anwendung von Zolpidem potentiell lebensbedrohliche arrhythmogene Nebenwirkungen auftreten können, sofern die Repolarisationsreserve eines Patienten verringert ist oder gleichzeitig andere Blocker des hERG Kaliumkanals eingenommen werden. Hingegen sind Apoptose-assoziierte Herzerkrankungen in Folge der Einnahme von Zolpidem nicht zu erwarten. Im Gegensatz dazu löst Doxazosin in HL-1 Zellen Apoptose aus. Die Phosphorylierung von EphA2 wurde als entscheidender Schritt in der Doxazosin-induzierten Apoptose von Kardiomyozyten identifiziert. Die Verhinderung der Phosphorylierung von EphA2 durch LCA könnte somit in der Therapie Apoptose-assoziiierter Herzerkrankungen wie Vorhofflimmern oder Herzinsuffizienz klinische Anwendung finden.