

Eberhard Paul Helmut Scholz  
Dr. med.

## **Die Inhibition des kardialen „Human *Ether- A- Go- Go- Related- Gene*“- Kaliumkanals durch Flavonoide**

Geboren am 05.01.1978 in Neuilly- sur- Seine/ Frankreich  
Staatsexamen am 03.05.2005 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Priv.- Doz. Dr. med. Christoph A. Karle

Das „Human- *Ether- A- Go- Go- Related Gene*“ (HERG) kodiert die  $\alpha$ - Untereinheit eines kardialen Kaliumkanals, der die molekulare Grundlage des schnellen Anteils des „Delayed- Rectifier“- Stroms darstellt ( $I_{Kr}$ ). Auf Grund seiner charakteristischen Kinetik trägt  $I_{Kr}$  wesentlich zur Repolarisation des Herzens bei und spielt eine wichtige Rolle bei der Regulation der Herzaktion. Funktionsstörungen des Kanals können die Erregungsausbreitung im Myokard behindern und das Auftreten von Arrhythmien begünstigen. Solche Veränderungen treten beispielsweise beim Langen QT- Syndrom (LQTS) auf, das sowohl in einer angeborenen als auch in einer erworbenen Form vorkommt und typischerweise mit Arrhythmien vom Typ „Torsade- de- Pointes“ (TdP) einhergeht. Die pharmakologische Inhibition von HERG- Kanälen führt zu einem erworbenen LQTS und wird als gefährliche Nebenwirkung mehrerer Medikamente beobachtet. Interessanterweise entwickeln jedoch andererseits Antiarrhythmika der Klasse III ebenfalls über eine Inhibition des HERG- Kaliumkanals eine antiarrhythmische Wirkung.

Das Medikament Budipin (1- tert- butyl- 4, 4- Diphenylpiperidin) wird zur Therapie des Morbus Parkinson eingesetzt. Während der Therapie mit Budipin wurden gehäuft Fälle eines erworbenen LQTS, sowie Einzelfälle von TdP- Arrhythmien beobachtet. Mit Hilfe des „Voltage- Clamp“- Verfahrens konnte an *Xenopus laevis* Oozyten eine Inhibition von klonierten HERG- Kaliumkanälen durch Budipin nachgewiesen werden. Der  $IC_{50}$  lag bei 10,2  $\mu$ M. Die elektrophysiologischen Charakteristika der Inhibition wurden mit Hilfe elektrophysiologischer Messmethoden detailliert charakterisiert. Zur genaueren Untersuchung des molekularen Bindungsverhaltens von Budipin in der Porenregion des Kanals wurden gezielt Mutationen in die S6- Domäne des Kanals eingeführt (Y652A und F656A). Aus mehreren Studien ist bekannt, dass diese beiden Aminosäuren eine bedeutende Rolle im Bindungsverhalten von Medikamenten spielen. Um inhibitorische Effekte von Budipin an kardialen Kalziumströmen ( $I_{Ca}$ ) zu untersuchen, wurden Messungen im „Patch- Clamp“- Verfahren an isolierten Kardiomyozyten des Meerschweinchens durchgeführt. Interessanterweise konnte eine Inhibition von  $I_{Kr}$ , nicht jedoch von  $I_{Ca}$  gezeigt werden. Die Ergebnisse bieten ein mögliches molekulares Korrelat für die klinisch beobachtete QT- Verlängerung durch Budipin und liefern damit eine mögliche Erklärung für die proarrhythmische Wirkung des Medikaments.

Flavonoide stellen eine Gruppe von über 4000 strukturell verschiedenen, niedermolekularen Phenylchromonen dar, die in pflanzlichen Nahrungsmitteln wie beispielsweise in Früchten, Nüssen, Gewürzen, Tee und Wein vorkommen. In Zusammenhang mit dem „French Paradox“ bzw. der „Mediterranean Diet“ wird Flavonoiden eine bedeutende, epidemiologische Rolle in der Reduktion der kardiovaskulären Mortalität zugeschrieben. Mehrere Arbeitsgruppen

konnten in großen Studien einen signifikanten Zusammenhang zwischen der Flavonoidaufnahme und einer Reduktion der KHK und der KHK- assoziierten Mortalität nachweisen. Als Ursache dafür werden bisher hauptsächlich entzündungshemmende und antioxidative Effekte von Flavonoiden diskutiert. Elektrophysiologische Effekte von Flavonoiden wurden bislang wenig beschrieben.

Es wurden 21 strukturell unterschiedliche Flavonoide aus Grapefruitsaft auf inhibitorische Effekte am HERG- Kaliumkanal untersucht. Im oozytären Expressionssystem konnten zehn Flavonoide mit einer blockierenden Wirkung identifiziert werden. In Hinblick auf eine mögliche Weiterentwicklung zu antiarrhythmisch wirksamen Substanzen, wurden die drei Flavonoide Naringenin, Morin und Hesperetin pharmakologisch genauer untersucht. Die halbmaximalen Wirkstoffkonzentrationen ( $IC_{50}$ ) für die Inhibition betrugen  $102,6 \mu\text{M}$  für Naringenin,  $111,5 \mu\text{M}$  für Morin und  $263,3 \mu\text{M}$  für Hesperetin. Die elektropysiologischen Charakteristika der Inhibition wurden mit mehreren Messprotokollen detailliert analysiert. Auch das molekulare Bindungsverhalten der Substanzen in der Porenregion wurde mit Hilfe der HERG- Mutanten Y652A und F656A untersucht.

Sowohl für das Medikament Budipin, als auch für die Flavonoide konnten inhibitorische Effekte an HERG- Kaliumkanälen gezeigt werden. Mit Hilfe molekularbiologischer Methoden wurde das Bindungsverhalten in der Pore näher charakterisiert. Diese Ergebnisse bieten einerseits eine Erklärung für die beobachteten proarrhythmischen Effekte von Budipin. Als Auslöser eines erworbenen LQTS infolge einer Inhibition von HERG- Kaliumkanälen reiht es sich damit in eine immer größer werdende Gruppe von Medikamenten ein. Andererseits könnte die Inhibition von HERG- Kaliumkanälen durch Flavonoide auf eine Klasse III- antiarrhythmische Wirkung hinweisen. Dieser Effekt bietet einen neuen Erklärungsansatz für den Zusammenhang zwischen einer hohen Flavonoidaufnahme und einer Reduktion der kardiovaskulären Mortalität und sollte experimentell *in vitro* und *in vivo* weiter untersucht werden.