

Johann Heinrich Benedikt Schworm

Dr. med.

Die Inhibition der kardialen Kir-Kanäle durch Gambogic Acid

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. med. Edgar Zitron

In dieser Arbeit wurde die Wirkung des Xanthonoids Gambogic Acid auf die kardialen Kir2-Kanäle untersucht.

Kir2-Kanäle liegen dem kardialen IK1-Strom zugrunde. Der IK1-Strom ist für die Stabilisation des diastolischen Membranpotentials und die terminale Phase der Repolarisation des kardialen Aktionspotentials von großer Bedeutung. Dysfunktionen des IK1-Stroms können zu Arrhythmien führen, wie es einige hereditäre Syndrome mit Beteiligung der Kir2-Kanäle beweisen. Beispielhaft genannt seien das Andersen-Tawil-Syndrom, das familiäre Vorhofflimmern, das Kurze-QT-Syndrom 3 und die catecholaminerge polymorphe ventrikuläre Tachykardie Typ 3.

Gambogic Acid ist eine toxische Substanz, die aus dem Harz der in Südostasien vorkommenden Pflanzenart *Garcinia hanburyi* gewonnen wird. Es wird aufgrund seiner Apoptose-induzierenden Eigenschaften und Effekte auf zelluläre karzinogene Signalwege in der aktuellen onkologischen Forschung als Chemotherapeutikum evaluiert und erweist sich als vielversprechende neue antineoplastische Substanz. In China wurde es bereits mit Erfolg im Rahmen von Phase II Zulassungsstudien an Patienten angewandt. In einer Studie wurde bereits eine inhibierende Wirkung von Gambogic Acid auf Kir2.1 entdeckt. Die anderen Kanaluntereinheiten wurden jedoch nicht untersucht.

In dieser Arbeit konnte an einem Expressionssystem gezeigt werden, dass Gambogic Acid konzentrationsabhängig ein potenter Blocker heterolog exprimierter Kir2-Kanäle ist. Im Expressionssystem konnten unter Verwendung mutierter Kanäle Hinweise auf den molekularen Blockmechanismus gewonnen werden. Darüber hinaus konnte an der humanen Zelllinie ONS76, die auch endogene IK1-Ströme exprimiert, eine Inhibition des IK1-Stroms durch Gambogic Acid in mikromolarer Konzentration demonstriert werden.

Im *Xenopus* Oozyten Expressionssystem konnte der blockierende Effekt von Gambogic Acid an den homomer exprimierten Kanälen, d.h. Kir2.1, Kir2.2, Kir2.3, aber auch an den heteromer exprimierten Kanälen, bei denen je zwei verschiedene Untereinheiten durch eine kurze Aminosäurekette verbunden waren, demonstriert werden. Zur Charakterisierung der Wirkung von Gambogic Acid wurde für jede Kanalvariante eine Dosis-Wirkungskurve erstellt und die Konzentration berechnet, die eine halbmaximale Inhibition (IC₅₀) bewirkt. In Experimenten zum Zeitverlauf der Inhibition zeigte sich, dass der blockierende Effekt von Gambogic Acid über 60 Minuten kontinuierlich zunahm und sich durch Auswaschen der Substanz im Anschluss nicht innerhalb von 30 Minuten wieder aufheben ließ. In den Experimenten gab es keine Hinweise auf eine Frequenzabhängigkeit oder Spannungsabhängigkeit der Wirkung von Gambogic Acid.

Um Hinweise auf den Wirkmechanismus auf molekularer Ebene zu gewinnen, wurden Experimente mit gezielt mutierten Kanälen durchgeführt. Hierbei kamen sowohl Mutanten mit einer veränderten zytoplasmatischen Pore zum Einsatz als auch Mutanten mit einer veränderten Bindungsstelle für das Membranphospholipid PIP₂, das eine stromfördernde Wirkung auf die Kir-Kanäle hat. Bei den Porenmutanten bedingten die Mutationen F254A

und D255A einen stärkeren blockierenden Effekt von Gambogic Acid im Vergleich zum Wildtyp-Kanal. Bei der Porenmutante D256A des Kir2.2-Kanals war die Inhibition durch Gambogic Acid signifikant schwächer ausgeprägt, ebenso bei den Kir2.3-Mutanten D247A und E291A, wobei bei letzterer der inhibitorische Effekt ganz aufgehoben war. Bei der PIP2-Mutante I214L von Kir2.3 war der Effekt von Gambogic Acid ebenfalls aufgehoben. Durch die Mutation ist die Affinität der Bindung von PIP2 an den Kanal deutlich verstärkt. Wenn gleichzeitig die blockierende Wirkung von Gambogic Acid aufgehoben ist, spricht dies für einen kompetitiven Effekt an der PIP2-Bindungsstelle. Da sowohl Porenmutanten als auch PIP2-Mutanten der Kir-Kanäle die Wirkung von Gambogic Acid veränderten, kann gefolgert werden, dass der inhibitorischen Wirkung von Gambogic Acid ein gemischter Mechanismus aus Porenblock und Interaktion mit PIP2 zugrunde liegt.

Der IK1-Strom gilt als ein wichtiges Ziel künftiger antiarrhythmischer Pharmakotherapien. Gambogic Acid könnte durch seinen potenten Blockeffekt auf die kardialen Kir-Kanäle eine vielversprechende Ausgangssubstanz für die Entwicklung von spezifischen IK1-Inhibitoren sein. Darüberhinaus weisen die Ergebnisse dieser Arbeit auf potentielle kardiale Nebenwirkungen der Gabe von Gambogic Acid als Tumorthapeutikum hin.