

Antonius Büscher

Dr. med.

## **Charakterisierung des Zwei-Porendomänen Kaliumkanals TASK-1 als neue Zielstruktur in der Therapie von Vorhofflimmern**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktormutter: Priv.-Doz. Dr. med. Constanze Schmidt

Vorhofflimmern ist die häufigste anhaltende Herzrhythmusstörung des Menschen und mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität der betroffenen Patienten assoziiert. Der repolarisierende Kaliumkanal TASK-1 spielt in der Pathophysiologie des Vorhofflimmerns eine wesentliche Rolle, indem er zu einer Verkürzung der atrialen Aktionspotentialdauer sowie effektiven Refraktärzeit, und damit zu einer Begünstigung und Aufrechterhaltung des Vorhofflimmerns führt. Aufgrund der vorhofspezifischen Expression innerhalb des Herzens und der erhöhten Expression bei Vorhofflimmern stellt TASK-1 einen vielversprechenden Angriffspunkt einer neuen pharmakologischen Vorhofflimmertherapie dar, aufgrund des reduzierten Risikos proarrhythmogener Nebenwirkungen in den Ventrikeln. Eine Verkürzung des atrialen Aktionspotentials bei Vorhofflimmern scheint jedoch nicht alle Patienten gleichermaßen zu betreffen. So ist für Patienten mit systolischer Herzinsuffizienz eine Verlängerung der Aktionspotentialdauer beschrieben. Aus diesem Grund wurde in dieser Arbeit die TASK-1 Expression in atrialen Gewebeproben von Patienten mit Sinusrhythmus, paroxysmalem sowie chronischem/permanentem Vorhofflimmern und unterschiedlichen Stadien der linksventrikulären Dysfunktion untersucht. Die TASK-1 RNA- und Proteinexpression wurde mittels RT-qPCR und Western-Blot ermittelt und zeigte eine signifikante Abnahme der TASK-1 Expression mit zunehmendem Grad der linksventrikulären Dysfunktion, während bei Vorhofflimmern eine Zunahme der Expression reproduziert werden konnte. Die TASK-1 Stromdichte sowie Aktionspotentialdauer der atrialen Kardiomyozyten wurden mithilfe der Patch-Clamp Technik untersucht. Es zeigten sich konsistent mit der Beobachtung der geringeren TASK-1 Expression auch erniedrigte TASK-1 Ströme bei Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion und eine Zunahme des Stroms bei Vorhofflimmern. Damit einhergehend wiesen Patienten mit zunehmendem Grad der linksventrikulären Dysfunktion auch verlängerte Aktionspotentiale auf, Vorhofflimmern führte hingegen zu einer Verkürzung. Diese gegenläufige Regulation von TASK-1 hat unmittelbaren Einfluss auf eine patientenspezifische antiarrhythmische Therapie aufgrund der klinisch häufigen Koexistenz von Vorhofflimmern und Herzinsuffizienz. So lassen die vorliegenden Daten den Schluss zu, dass ein Patient mit permanentem Vorhofflimmern und einer guten linksventrikulären Pumpfunktion aufgrund der höheren TASK-1 Expression wesentlich stärker von einer spezifischen TASK-1 Inhibition profitieren wird, als ein Patient mit paroxysmalem Vorhofflimmern und einer eingeschränkten linksventrikulären Pumpfunktion.

Für die Entwicklung spezifischer und hochaffiner TASK-1 Inhibitoren ist das genaue Verständnis der pharmakologischen Eigenschaften sowie der strukturellen Determinanten der TASK-1 Inhibition von wesentlicher Bedeutung. Zu diesem Zweck wurde in dieser Arbeit mithilfe eines Alanin-Mutagenese-Screenings in Verbindung mit molekularen Docking-Simulationen die zentrale Kavität der inneren TASK-1 Kanalpore als Bindungsstelle des hochaffinen TASK-1 Inhibitors A293 identifiziert. Als wesentlich beteiligte Aminosäuren wurden Q126, L239 und N240 ermittelt. Die Bindungsstelle im Bereich der inneren Kanalpore überschneidet sich mit der von anderen niedrig- und hochaffinen TASK-1 Inhibitoren, was darauf hindeutet, dass die innere Kanalpore die wesentliche Zielstruktur von TASK-1 Inhibitoren darstellt. Ein optimaler TASK-1 Inhibitor mit maximaler Affinität und Spezifität müsste demnach eine optimale Passform in der inneren TASK-1 Pore mit Ausbildung möglichst stabiler Wechselwirkungen aufweisen.

Auch die antianginöse Substanz Ranolazin bindet in der inneren Pore von TASK-1. Für Ranolazin sind neben der antianginösen Wirkung in der Literatur verschiedene elektrophysiologische Eigenschaften beschrieben. Insbesondere bei Vorhofflimmern entfaltet Ranolazin eine antiarrhythmische Wirkung über eine vorhofdominante Verlängerung des Aktionspotentials und der effektiven Refraktärzeit mit nur geringem Effekt auf die ventrikuläre Repolarisation. In dieser Arbeit wurde die Hypothese untersucht, dass eine Inhibition des vorhofspezifischen repolarisierenden TASK-1 Kanals neben der bereits bekannten Inhibition des späten Natriumeinstroms (late INa) und IKr zum Wirkprinzip von Ranolazin beiträgt. Die Inhibition von TASK-1 durch Ranolazin wurde in *Xenopus laevis* Oozyten und CHO-Zellen mittels Two-Electrode-Voltage-Clamp und Patch-Clamp Technik untersucht. Ranolazin konnte dadurch als Inhibitor von TASK-1 mit einer IC<sub>50</sub> von  $198,4 \pm 1,1 \mu\text{M}$  in *X. laevis* Oozyten und  $30,6 \pm 3,7 \mu\text{M}$  in Säugetierzellen identifiziert werden. Dies trägt mutmaßlich zu den beobachteten elektrophysiologischen Eigenschaften von Ranolazin bei. Die Bindungsstelle von Ranolazin wurde mithilfe eines Alanin-Mutagenese-Screenings in Verbindung mit molekularen Docking-Simulationen ebenso wie für A293 in der inneren Kanalpore identifiziert. Hier sind insbesondere die Aminosäuren L122 und L239 an der Ranolazinbindung beteiligt. Damit nimmt Ranolazin aufgrund seiner kombinierten Wirkung auf die atriale Elektrophysiologie mit gleichzeitig verringertem Risiko ventrikulärer Nebenwirkungen die Rolle eines Prototypen-Medikaments in der künftigen Vorhofflimmertherapie ein.