

# **Modulation of the activity of the mitochondrial BK-channel and of the permeability transition pore by hypoxia and apoptotic factors**

**M. Eng. Yu Cheng**

## **Zusammenfassung**

Hypoxie ist eine Ursache für die Auslösung der Signalkaskade, die zum Zelltod durch Apoptose oder Nekrose führen kann. Die apoptotischen Faktoren Bax und Bcl<sub>XL</sub> können das Schicksal der Zelle durch ihre Wirkung im intrinsischen apoptotischen „Pathway“ bestimmen, an dem die Mitochondrien beteiligt sind. In letzter Zeit gab es Beweise dafür, dass mitochondriale Ionenkanäle empfindlich gegen die Sauerstoffmangel und apoptotische Faktoren sind. Da unser Labor sich für die Interaktion des mtBK-Kanal und der PTP interessiert und ihre Bedeutung für die Apoptose, erwarten wir, dass die Untersuchung von Hypoxie und apoptotischen Faktoren uns zu einem besseren Verständnis dieser Mechanismen führen kann.

Mit Hilfe der Patch-Clamp Technik wurden die Effekte der durch N<sub>2</sub>- und DTN-induzierten Hypoxie auf den mtBK-Kanal von Mitoplasten aus Rattenastrocyten und auf die PTP von Mitoplasten aus Rattenleber untersucht. Der mtBK-Kanal wurde durch Hypoxie reversibel aktiviert und die PTP irreversibel inhibiert. Die Messung des mitochondrialen Membranpotentials intakter Mitochondrien aus Rattenhirn mit fluoreszierendem Safranin O unter Hypoxie zeigte ein erhöhtes Ca<sup>2+</sup>-Rückhaltvermögen der Mitochondrien, was eine beeinträchtigte Öffnung der PTP bedeutet. Es wurde ebenfalls ein reduziertes Ca<sup>2+</sup>-Rückhaltvermögen der Mitochondrien mit 100 nM Ibtx, einem selektiven BK-Kanal Inhibitor, gefunden. Es ist deshalb davon auszugehen, dass ein offener mtBK-Kanal die PTP geschlossen hält. Außerdem inhibierte GST-Bax den mtBK-Kanal sehr wirksam von beiden Seiten der Membran. Diese Inhibition verstärkte sich nach dem Auswaschen weiter. GST-Bcl<sub>XL</sub>, ein

antiapoptotischer Faktor, konnte bei Hyperpolarisation den mtBK-Kanal aktivieren, die PTP inhibieren, und die Auswirkung von GST-Bax auf den mtBK-Kanal beseitigen.

Die Reaktion des mtBK-Kanals und der PTP auf Hypoxie könnte als antiapoptotisch und cytoprotektiv gesehen werden, weil Aktivierung des mtBK-Kanals zum Überleben der Zellen beiträgt und Inhibition der PTP den intrinsischen apoptotischen Pathway unterbricht. Die Reaktion der mitochondrialen Ionenkanäle könnte durch Zunahme der mitochondrialen  $\text{Ca}^{2+}$  Aufnahme und Empfindlichkeit der Atmungskette für Sauerstoff vermittelt werden. Bax kann die Aktivität des mtBK-Kanals inhibieren, was die Öffnung der PTP durch  $\text{Ca}^{2+}$  erleichtert. Die Öffnung der PTP führt zur Aktivierung der downstream Kaskaden in dem intrinsischen apoptotischen Pathway. Bcl-<sub>XL</sub> bewirkt seine antiapoptotische Tätigkeit nicht nur durch die Inhibition der PTP, sondern auch durch die Aktivierung des cytoprotektiven mtBK-Kanals.