

Wolfgang Kelsch

Dr. med.

Regulation des Kalium-Chlorid-Cotransportes in der neuronalen Entwicklung

Geboren am 23.7.1975 in Schwetzingen

Staatsexamen am 27.11.2003 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. Ulrich Misgeld

Die schnelle postsynaptische Hemmung durch GABA führt zumeist zu Chlorideinstrom durch den anionenselektiven GABA_A-Kanal und dadurch zu Hyperpolarisation. Hyperpolarisation tritt jedoch nur auf, wenn die intrazelluläre [Cl⁻] durch den neuronalen K-Cl-Cotransporter KCC2 unter das Gleichgewichtspotential erniedrigt wird, so dass eine Triebkraft für Chlorideinstrom besteht. Da dieser Transporter aber erst im Laufe der Entwicklung auftritt, bewirkt GABA bei Säugern zunächst noch eine Depolarisation. In der vorliegenden Arbeit wurden die Mechanismen der Aktivierung dieses Transporters untersucht, über die bisher nichts bekannt war. Zur Untersuchung des endogenen KCC2 existierte jedoch kein akzeptabler pharmakologischer Blocker, da das Schleifendiuretikum Furosemid in hohen Konzentrationen verwendet werden musste, um eine Wirkung zu beobachten. Ich zeigte, dass KCC2 durch geringfügige Manipulation der extrazellulären Kationen sensitiv gegenüber Furosemid wurde. Dieser Befund erklärt auch, dass Furosemid aufgrund der niedrigen extrazellulären [K⁺] „in vivo“ trotz seiner Wirkung auf hyperpolarisierende Hemmung „in vitro“ keine krampfauslösende Wirkung hat. Mithilfe Furosemids untersuchte ich die Entwicklung des KCC2 in kultivierten Neuronen. In Kulturen des ventralen Mittelhirns trat K-Cl-Cotransport früher auf als in Neuronen, die aus der hippocampalen Anlage stammten. Das „in vivo“ beobachtete zeitliche Muster blieb also „in vitro“ erhalten. In hippocampalen Neuronen führte die Inkubation mit IGF-1 zu einem deutlich früheren Auftreten des K-Cl-Cotransportes. Seine Entwicklung wird also durch Wachstumsfaktoren gesteuert. Wachstumsfaktorenrezeptoren sind membranständige Proteintyrosinkinasen. Wenn Proteintyrosinkinasen in Neuronen blockiert wurden, nahm die Aktivität des KCC2 stark ab. K-Cl-Cotransport wird also durch Proteintyrosinkinasen in Neuronen aufrechterhalten. Da in sich entwickelnden Neuronen inaktiver KCC2 bereits exprimiert wurde, könnte seine Aktivierung über Proteintyrosinkinasen erfolgen. In Neuronen ohne aktiven Transporter wurde KCC2 sofort aktiviert, wenn IGF-1 und eine zytosolische Proteintyrosinkinase appliziert wurden. IGF-1 oder die zytosolische Proteintyrosinkinase allein hatten keine Wirkung. Somit hatte die zytosolische Proteintyrosinkinase einen permissiven Effekt auf die Wirkung des IGF-1.

Ich schlussfolgerte aus den Befunden, dass der Mechanismus, der KCC2 aktiviert und dadurch zu hyperpolarisierender Hemmung in Neuronen führt, ein Wachstumsfaktor ist, der im Zusammenspiel mit zytosolischen Proteintyrosinkinasen wirkt. Die Aktivität des KCC2 wird danach durch Proteintyrosinkinasen aufrechterhalten.