

Christoph A. Karle
Dr. med.

Vergleichende elektrophysiologische Untersuchungen mit der Patch-Clamp-Technik zur Frage der Umwandlung von Delayed-Rectifier-Kaliumkanälen in Adenosintriphosphat-abhängige Kaliumkanäle in isolierten glatten Muskelzellen der Meerschweinchenportalvene und in Ratteninsulinom-Kulturzellen

Geboren am 08.07.1967 in Schwäbisch Hall

Reifeprüfung am 26.05.1987 in Künzelsau

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1989 bis SS 1995

Physikum am 15.03.1991 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg

Praktisches Jahr in Houston, Texas, USA (Texas Heart Institute und Baylor College of Medicine) sowie in Bad Mergentheim

Staatsexamen am 06.11.1995 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Physiologie

Doktorvater: Prof. Dr. med. V.A.W. Kreye

Der Wirkungsmechanismus von Kaliumkanalöffnern wie z.B. Levromakalim in glatter Gefäßmuskulatur wurde in der Literatur durch eine Umwandlung von Delayed-Rectifier-Kaliumkanälen (K_v) in Adenosintriphosphat-abhängige Kaliumkanäle (K_{ATP}) erklärt. Dieses Postulat erregte Aufsehen, weil die Gruppe der K_{ATP} eher zur Familie der Inward-Rectifier-Kaliumkanäle (K_{IR}) gezählt werden und sich K_v und K_{IR} strukturmäßig in hohem Maß unterscheiden.

Ziel der vorliegenden Arbeit war es vor allem, die $K_v > K_{ATP}$ -Konversions-Hypothese anhand von Einzelkanalstudien mit der Patch-Clamp-Elektrodenteknik zu überprüfen, weil hierdurch am ehesten die eventuelle Umwandlung eines K_v in einen K_{ATP} sichtbar zu machen wäre. Zuvor waren zur Unterscheidung beider Kanäle Einzelkanaleigenschaften von vaskulären K_v und K_{ATP} zu untersuchen, da bisher solche Daten in einheitlicher Weise in der Weltliteratur nicht belegt sind. Zu Kontrollzwecken wurden außerdem Experimente an RINm5F-Kulturzellen, einer an K_v armen, aber an K_{ATP} reichen Ratteninsulinom-Zelllinie durchgeführt.

Folgende Ergebnisse wurden erzielt:

- 1.) Die Einzelkanalleitfähigkeiten von K_{ATP} und K_v in Gefäßmuskelzellen unterscheiden sich mit 23,18 pS und 6,52 pS (bei +20 mV; $E_K = -46$ mV) sehr. Dadurch waren sie gut voneinander zu unterscheiden.
- 2.) Durchschnittlich ließen sich K_v in einem von ca. 6, K_{ATP} aber nur in einem von ca. 47 Gefäßmembranflecken nachweisen. Die Dichte beider Kanäle war also sehr unterschiedlich.
- 3.) Die Offenwahrscheinlichkeit von K_v -Einzelkanälen in Gefäßmuskelzellen wurde zwar durch 10 μ M Levromakalim reduziert, eine Umwandlung in K_{ATP} -Einzelkanäle war jedoch nicht automatisch zu beobachten.
- 4.) Obwohl in RINm5F-Zellen in calciumfreiem Medium keine K_v -Einzelkanäle zu beobachten waren, wurden durch Levromakalim K_{ATP} -Einzelkanäle geöffnet.
- 5.) K_v und K_{ATP} in Gefäßmuskelzellen unterscheiden sich bzgl. Betrag und Spannungsabhängigkeit von Offenwahrscheinlichkeit und mittlerer Dauer einer Einzelkanalöffnung. Levromakalim änderte weitere Parameter der Einzelkanalkinetik des K_v nur geringfügig.
- 6.) Der Levromakalim-induzierte Rampenstrom in Gefäßen zeigte insgesamt keine Gleichrichtung.

Wir folgerten aus den Ergebnissen, daß die Konversionshypothese nicht hinreichend ist zur Erklärung einer Hemmung von K_v durch Levromakalim, da diese Hemmung in glatter Gefäßmuskulatur nicht automatisch zur Generierung von K_{ATP} führte. In Insulinom-Zellen wurden hingegen K_{ATP} beobachtet, obwohl keine einzelnen K_v nachgewiesen worden waren. Eine Kanalinterkonversion zwischen K_v und K_{ATP} ganz allgemein ist wegen der vollkommen unterschiedlichen Eigenschaften der beiden Kanäle sehr unwahrscheinlich, jedoch nicht völlig ausgeschlossen.