

Su Ir Lyu
Dr. med.

Die Interaktion Dephosphorylierungs-imitierender Substitutionen im Kalium Chlorid Cotransporter 2 (KCC2) mit Furosemid und VU0463271

Fach/Einrichtung: Physiologie
Doktorvater: Prof. Dr. med. Andreas Draguhn

Der Kalium-Chlorid-Cotransporter Typ 2 (KCC2) ist ein sekundär aktiver Kation-Chlorid-Transporter aus der Genfamilie SLC12. Pathologische Veränderungen der KCC2 Aktivität können klinische Symptome wie z.B. neuropathische Schmerzen oder epileptische Anfälle verursachen.

Die Ergebnisse der neusten Studien deuten darauf hin, dass der Phosphorylierungszustand der Aminosäuren am C-Terminus des KCC2 Proteins eine wichtige Rolle in der Regulation der KCC2 Funktion hat. Je nach Phosphorylierungsstatus verändert sich die KCC2 Expressionsrate, Aktivität und Affinität. Dies ist nicht nur auf Substrat-Ionen begrenzt, sondern inkludiert auch KCC2 Antagonisten.

Um herauszufinden, ob der KCC2-Phosphorylierungsstatus die pharmakologische Hemmung und Antagonisten-Affinität beeinflusst, wurden in dieser Arbeit die Dosis-Wirkungs-Kurven unterschiedlicher KCC2 Varianten für Furosemid und VU0463271 erstellt. Dabei wurde beobachtet, dass die für die Messung ausgewählten Mutanten unterschiedlich auf die KCC2 Antagonisten reagieren. Die Ursache dafür liegt vermutlich in der Chlorid-Ionen Affinität, die sich je nach KCC2 Variante unterscheidet und dadurch auch die KCC2-Antagonisten-Sensibilität ändert.

Des Weiteren lassen die Ergebnisse dieser Arbeit vermuten, dass die VU0463271 Hemmung nicht nur von der Stärke der KCC2 Aktivität, sondern auch von anderen eventuell noch unbekanntem modulierenden Einflüssen abhängig ist.

Die Ergebnisse dieser Arbeit haben bestätigt, dass die genaue Konstellation der KCC De-/ Phosphorylierungen einen Einfluss auf die Cotransporter-Aktivität hat, und wiesen darauf hin, dass eine Einzelmutation die physiologischen KCC2 Eigenschaften über andere Regulationsmechanismen als eine Doppelmutation beeinflussen kann.

In dieser Arbeit wurde auch die genaue Interaktion zwischen Ammonium- und Caesium-Ionen unter Furosemid Applikation untersucht. Dabei stellte sich heraus, dass sowohl Ammonium- als auch Caesium-Ionen als KCC2 Substrate agieren können. Bei den Einzelmutanten zeigte sich des Weiteren ein signifikanter Unterschied in der Furosemid-Hemmung mit und ohne Caesium-Ionen Applikation. Im Gegensatz dazu war bei der Doppelmutante kein signifikanter Unterschied erkennbar, was erneut darauf hindeutet, dass die Einzelmutanten anders als die Doppelmutanten die KCC2 Aktivität regulieren. Für ein vollständigeres Verständnis dieser molekularen Mechanismen sind weitere Untersuchungen des Aufbaues des KCC2-Proteins und der Modifikationen der Cotransporter-Struktur, vor allem der Ionen-Bindungsstelle, benötigt. Auch andere KCC Isoformen, wie beispielsweise KCC3 sollten in diesem Zusammenhang untersucht werden.