Untersuchungen zur Toxizität von Blei am Beispiel der Effekte von Pb^{2+} auf den neuronalen spannungsabhängigen Kaliumkanal Kv1.1

Dissertation vorgelegt von Andreas Nolting 2003

Abstract

In dieser Arbeit wurde die Modulation der Aktivierung von Kv-Kanälen der Shaker-Familie durch divalente Kationen des Schwermetalls Blei (Pb2+) am Beispiel des Kanals Kv1.1 im heterologen Expressionssystem untersucht.
Die Inhibition des Kv1.1-Kanals durch extrazelluläres Pb2+ wird hauptsächlich durch die Verschiebung der Spannungsabhängigkeit der Aktivierung zu positiveren Potentialen hin verursacht. Es konnte eine Verlangsamung der Aktivierung und eine Beschleunigung der Deaktiverungskinetik in Anwesenheit von Pb2+ beobachtet werden. Eine genauere Analyse der Deaktivierungskinetik zeigte, dass dieser Effekt stark vom Membranpotential abhängig ist.
Die Konzentrationsabhängigkeit der Pb2+-Inhibition von Kv1.1 wie auch die Dissoziationskinetik von Pb2+ in Auswaschexperimenten bei Membranpotentialen nahe der Aktivierungsschwelle des Kanals lassen sich gut mit Modellen beschreiben, die vier gleichwertige und unabhängige Bindungsstellen pro Kv1.1-Kanal annehmen.
Diese Ergebnisse weisen auf einen „gating-modifizierenden“ Mechanismus der Pb2+- Inhibition von Kv1.1 hin. Es kann vermutet werden, das Pb2+ mit Bindungsstellen innerhalb der vier Spannungssensordomänen des Kanals interagiert.
Durch die Untersuchung von Kanal-Chimärenkonnte ein Bereich von 20 Aminosäuren im S3-S4-Linker identifiziert werden, der Pb2+-Sensitivität auf Kv2.1 überträgt. Innerhalb dieses Bereiches, konnten in Kv1.1 drei Positionen identifiziert werden, die nach zielgerichteter Mutagenese zu einer moderaten Verminderung der Pb2+-Sensitivität von Kv1.1 führten.
Die Einschränkung der Aktivität von Kaliumkanälen durch Pb2+ könnte mit ein Grund für die beobachtete Erhöhung der neuronalen Aktivität nach Bleiintoxikation sein.