

Dr. med. Sven G. Meuth

Thema der Arbeit: „EXPRESSION UND FUNKTIONELLE RELEVANZ VON ZWEI-POREN K^+ -KANÄLEN DER TASK-FAMILIE IN THALAMISCHEN SCHALT-NEURONEN“

Zusammenfassung

Der Prozess des Aufwachens ist im thalamokortikalen System mit einem Wechsel aus der oszillatorischen Aktivität hin zur tonischen Aktionspotenzialgenerierung vergesellschaftet. Dabei sind Transmitter des aufsteigenden, aktivierenden Hirnstammsystems in der Lage diesen Wechsel durch die Erniedrigung einer K^+ -Leckleitfähigkeit zu vermitteln, was in einer Depolarisation des Membranruhepotenzials resultiert. Bis heute wurde die molekulare Grundlage dieser Kanäle im Thalamus nicht untersucht. Aus diesem Grund wurde in der vorgelegten Arbeit zunächst die Expression von TASK-Kanälen (*TWIK-related acid-sensitive K^+ channels*), welche an der Entstehung und Aufrechterhaltung des Membranpotentials in verschiedenen Zellen des zentralen Nervensystems beteiligt sind, im dCGL näher charakterisiert. Dazu wurden verschiedene elektrophysiologische Techniken im Hirnschnittpräparat und auf Einzelzellen, PCR-Methoden, die *in situ* Hybridisierung, Immunzytochemie und ein Computermodell verwendet. Setzt man nun das Membranpotenzial der thalamischen Zellen auf einen Wert von -20 mV, so löst dieses Vorgehen einen persistierenden Auswärtsstrom von 200 - 400 pA aus, der wiederum durch die Erniedrigung des extrazellulären pH-Werts von 7,2 auf 6,4, die Applikation von ACh, Muskarin, dem Lokalanästhetikum Bupivacain, dem polyvalenten Amin Spermin oder Ba^{2+} blockiert werden kann. Umgekehrt kann der Auswärtsstrom durch das systemische Inhalationsnarkotikum Halothan oder das Entfernen der divalenten Kationen aus der extrazellulären Lösung signifikant vergrößert werden. Dieses pharmakologische Profil kann als typisch und einzigartig für TASK Kanäle gewertet werden. Die graphische Subtraktion von Rampenströmen vor und nach Applikation der Kanalmodulatoren erlaubt die Beurteilung der Pharmakon-sensitiven Ströme und zeigt die für TASK Kanäle typische Auswärtsgleichrichtung und ein Umkehrpotenzial nahe dem errechneten K^+ -Gleichgewichtspotenzial (-104 mV). RT-PCR Techniken, Antikörperfärbungen und die Ergebnisse der *in situ* Hybridisierung zeigen die Expression der Kanäle TASK1 und TASK3 im dCGL und unterstützen damit die elektrophysiologischen Ergebnisse. Die funktionelle Bedeutung dieser Ergebnisse wurde mittels *current clamp* Ableitungen adressiert: die Applikation von Halothan führte zur Hyperpolarisation des Membranpotenzials von -60 auf -70 mV und war mit einem Wechsel von der tonischen Aktionspotenzialgenerierung zur Salvenaktivität vergesellschaftet. Die Inhibition der TASK Kanäle durch die oben genannten Pharmaka (z.B. Bupivacain, Muskarin, pH Erniedrigung) resultierte in der Verschiebung der Aktivität von dem oszillatorischen Feuerverhalten hin zur tonischen Aktionspotenzialgenerierung und war von einer Membrandepolarisation begleitet. Zusammengefasst bewertet zeigen diese Daten, dass

verschiedene TASK Kanäle, die an der Entstehung und Aufrechterhaltung des Membranpotenzials in Neuronen des dCGL beteiligt sind, zur Vermittlung der Anästhesie *in vivo* beitragen könnten.

Der zweite Teil der vorgelegten Arbeit beschäftigt sich mit der Interaktion von TASK und HCN Kanälen, die den Hyperpolarisations-aktivierten, durch zyklische Nukleotide regulierten Strom I_h vermitteln. Alle bekannten Schrittmacherkanäle dieser Familie (HCN1-4) werden im dCGL exprimiert. Die Koexpression der wichtigsten Isoformen TASK3 und HCN2 konnte in Parvalbumin-positiven Schaltneuronen in Kulturen des dorsalen Thalamus gezeigt werden. Die Stromkomponenten der HCN und TASK Kanäle tragen zum stehenden Auswärtsstrom der thalamokortikalen Schaltneurone sowie zur pH-sensitiven Stromkomponente (durch ein hyperpolarisierendes Rampenprotokoll ausgelöst) bei. Elektrophysiologische Messungen in der Stromklemme (*current clamp*) in Ratten, HCN2 defizienten Mäusen sowie Modellierungstechniken in einem *single compartment* Modell zeigen den gegenregulierenden Effekt von HCN2- und TASK3/TASK1-Kanälen. Diese Interaktion trägt maßgeblich zur Aufrechterhaltung des Membranruhepotenzials der untersuchten Zellen bei und beeinflusst daher ebenfalls die Aktionspotenzialentstehung in thalamischen Zellen.