

Florian Ansgar Ruppe

Dr.med.

ATP-Freisetzung aus Erythrozyten

Geboren am 10.02.1979 in Essen

Staatsexamen am ... an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Sport- und Leistungsmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. phil. Heimo Mairbörl

Im arbeitenden Muskel herrschen im Vergleich zum ruhenden ein erhöhter Bedarf an Zufuhr von Sauerstoff und Energieträgern sowie Abtransport von Kohlendioxid und Metaboliten. Neben den bekannten Regelgrößen im ganzen Kreislauf kommt vor allem der Steuerung der Mikrozirkulation eine wichtige Rolle zu.

Neben den vasodilatatorisch wirkenden Substanzen wie H^+ und CO_2 , sowie der Hypoxie, kann der Erythrozyt auch selbst durch Freisetzung von ATP zur Regulation beitragen, welches dann über Signalkaskaden in den Endothelzellen der Gefäße eine NO-abhängige Vasodilation vermittelt.

In der vorliegenden Arbeit untersuchten wir in vitro, ob belastungsbedingt auftretende Effekte wie Scherstress, Laktatazidose und Hypoxie die ATP-Freisetzung aus Erythrozyten beeinflussen. Außerdem wurde zwischen hämolysebedingter und spezifischer ATP-Freisetzung unterschieden.

Dazu wurden humane Erythrozyten in einem Couette-Viskosimeter einem definierten Scherstress ausgesetzt. Die Hämolyse wurde photometrisch mit einem modifizierten Drabkin-Assay bestimmt. Das freigesetzte ATP wurde luminometrisch mit Hilfe der Luziferin/Luziferase-Methode gemessen.

Die mechanische Deformation der Erythrozyten bei 585 dyn/cm^2 für 20min im Couette-Viskosimeter allein führte zur 2,5-fachen spezifischen ATP-Freisetzung im Vergleich zu ruhenden Kontrollzellen. Zusatz von Natriumlaktat

bei neutralem pH-Wert erhöhte sie auf das Vierfache. Eine Azidose (Salzsäure-Zugabe, pH=7,0) stimulierte die spezifische ATP-Freisetzung sogar um das Fünffache.

Die Hämolyse war, verglichen mit ruhenden Zellen, unter 20minütigem Scherstress je nach Bedingung bei den Kontrollzellen verfünffacht, bei Laktatazidose und Salzsäure vervierfacht und bei Natriumlaktat mit neutralgepufferten pH verdreifacht.

Hypoxie steigerte die spezifische ATP-Freisetzung fünffach im Vergleich zu normoxischen Zellen ohne Scherstress. Im Gegensatz zur Normoxie konnte eine Laktatazidose unter Hypoxie diesen Effekt allerdings nicht weiter verstärken.

Unter Scherstress zeigte sich nach 20min ein fünffacher Anstieg der spezifischen ATP-Freisetzung sowohl bei den Kontrollzellen, als auch unter Laktatazidose und Natriumlaktat. Die Ansäuerung mit Salzsäure erbrachte sogar eine 8-fache Steigerung der spezifischen ATP-Freisetzung. Daher ist der steigernde Effekt durch Laktatazidose eher auf das Vorliegen von niedrigem pH-Wert als auf Milchsäure zurückzuführen.

Insgesamt konnten wir zeigen, dass neben der spezifischen ATP-Freisetzung ein beträchtlicher Teil an ATP auch durch Hämolyse in die extrazelluläre Flüssigkeit gelangt.

Wir konnten mit unseren Ergebnissen zeigen, dass es unter Scherstress in vitro zu einer vermehrten Freisetzung von ATP durch spezifische Freisetzung aus Erythrozyten und durch Hämolyse kommt und dass dieser Effekt durch Laktat, Azidose und Hypoxie verstärkt wird.

Der Erythrozyt hat damit die Möglichkeit die Mikrozirkulation direkt zu beeinflussen. Damit übernimmt er neben dem Sauerstofftransport im Blut eine weitere lebenswichtige Aufgabe im menschlichen Körper.