

Ralf Wodopia
Dr. sc. hum.

Alveolärer Ionentransport

Geboren am 30.03.1968
Reifeprüfung am 15.05.1987
Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1989 bis WS 1995
Vordiplom am 10.04.1992
Diplomarbeit SS 1996
Diplom am 05.09.1996 Universität Heidelberg (Biologische Fakultät)

Promotionsfach: Innere Medizin
Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. phil. H. Mairbäurl

Zur Gewährleistung eines effizienten Gasaustauschs in der Lunge muß die Diffusionsbarriere für Atemgase und damit auch der alveoläre Oberflächenfilm möglichst dünn, die alveoläre Oberfläche also möglichst trocken gehalten werden. Einer ständigen Filtration aus dem Blut steht eine Flüssigkeitsresorption gegenüber, die durch aktiven Ionentransport getrieben wird. Diese Resorption wird durch einen transepithelialen Na-Transport von Alveolarepithelzellen vermittelt. Über apikale, epitheliale Na-Kanäle wird Natrium in die Zelle aufgenommen, die Na/K-ATPase transportiert Natrium über die basolaterale Membran aus der Zelle heraus. Chlorid und Wasser folgen dem elektrochemischen Gradienten. Unter dem Einfluß von Hypoxie, z.B. in Höhen über 3000 m ü.M., und beim ARDS werden Alveolen überflutet, was mit einer Einschränkung des Gasaustauschs einhergeht und durch die resultierende Hypoxämie möglicherweise lethal endet. Als Hauptursachen eines hypoxischen Lungenödems werden ein erhöhter pulmonal-arterieller Druck und eine erhöhte Permeabilität von Endothel und Epithel diskutiert. Allerdings wurde an verschiedenen Typen von Alveolarepithelzellen gezeigt, daß in Hypoxie die Aktivität der am transepithelialen Na-Transport beteiligten Kanäle und Transporter eingeschränkt ist, was dahingehend interpretiert wurde, daß die Bildung eines alveolären Ödems durch die Hemmung des Abtransports filtrierter Flüssigkeit begründet werden könnte.

Im ersten Teil dieser Arbeit, sollte untersucht werden, ob die in kultivierten Alveolarepithelzellen beobachteten Einschränkungen der Transportaktivität durch eine verminderte Kopienzahl der am Transport beteiligten Proteine in der Plasmamembran bedingt sein könnte und ob es zu einer Hemmung der Expression dieser Proteine kommt. Außerdem sollte untersucht werden, ob die in kultivierten Zellen beobachteten Veränderungen auch im intakten hypoxieexponierten Individuum auftreten. Dazu wurden mittels Western- und Northern-Blots verschiedene Transportsysteme in A549-Zellen, sowie in gesamten Lungen und in AII-Zellen hypoxieexponierter Ratten untersucht.

In Plasmamembranen von A549-Zellen kommt es in Hypoxie zu einer verminderten Kopienzahl von ENaC, Na/K/2Cl-Cotransporter und Na/K-ATPase. Auch in Plasmamembranen aus Zellen der gesamten Lunge, sowie in AII-Zellen hypoxieexponierter Ratten, sinkt die Kopienzahl dieser Transporter, wenn die Ratten länger als 4 Stunden Hypoxie (14%-10% O₂) ausgesetzt wurden. In Rattenlungenzellen sinkt in Hypoxie darüber hinaus auch die Expression des ENaC (mRNA).

Im zweiten Teil der Arbeit sollte untersucht werden, ob in Hypoxie Veränderungen der K-Leitfähigkeit und des Membranpotentials zu der eingeschränkten Aktivität der am transepithelialen Na-Transport beteiligten Proteine in Alveolarepithelzellen führen, ein Mechanismus, der auch in erregbaren, O₂-sensitiven Zellen die Hypoxieantwort auslöst. Dazu wurden Whole-cell- und Perforated-Patch-clamp-Experimente an A549-Zellen und primärkultivierten AII-Zellen der Ratte durchgeführt. Bei einem Haltepotential von 0 mV hemmt Hypoxie in A549-Zellen den Membranstrom in ähnlicher Weise wie 0.1 mM BaCl₂. Dieser Effekt ist auch in Chlorid-, Natrium- oder Calcium-freien Lösungen sichtbar, ist aber nach Hemmung aller K-Leitfähigkeiten nicht mehr zu beobachten, was auf eine hypoxiebedingte Hemmung von K-Kanälen hinweist. Darüber hinaus kommt es in A549-Zellen in Hypoxie zu einer Depolarisation um ca. 5 mV und zu einer Abflachung der Stromspannungskurve. Eine Depolarisation der A549-Zellen hemmt in Fluxmessungen die Gesamt-⁸⁶Rb-Aufnahme, Na/K/2Cl-Cotransport und Na/K-ATPase.

Diese Ergebnisse zeigen, daß bei anhaltender Hypoxie die verminderte Aktivität von Na/K-ATPase, Na/K/2Cl-Cotransporter und ENaC in Alveolarepithelzellen durch eine reduzierte Dichte dieser Proteine in der Plasmamembran erklärt werden kann. Dies wird vermutlich durch eine in Hypoxie verminderte Expression dieser Proteine vermittelt. Da diese Effekte auch in Lungen und AII-Zellen hypoxieexponierter Ratten zu beobachten sind, ist eine Beeinflussung des Ionentransports auch in vivo denkbar, was allerdings in diesen Experimenten nicht gezeigt werden konnte. Außerdem kommt es in Hypoxie in Alveolarepithelzellen zu einer Membrandepolarisation durch Abnahme der K-Leitfähigkeit. Ob die hypoxiebedingte Hemmung der K-Leitfähigkeit und die Depolarisation mit der akuten Transporthemmung in Hypoxie, der geänderten Expression von Transportern und der Abnahme an Transportprotein zusammenhängen, konnte nicht geklärt werden.