

Carolin Schmieg  
Dr.med.

## **Die Expression mitochondrialer Proteine in Hypoxie im Alveolarepithel**

Promotionsfach: Sport- und Leistungsmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. phil. Heimo Mairbäurl

Die in den Mitochondrien lokalisierte Atmungskette ist der Hauptproduktionsort von Adenosintriphosphat in der Zelle. Hypoxie hemmt die Aktivität der Komplexe I-III der Atmungskette. Bislang war unklar, wodurch Hypoxie die Zellatmung hemmt.

Ziel dieser Arbeit war es zu klären, ob die Hemmung der Zellatmung mit einer geänderten Genexpression mitochondrialer Proteine erklärbar ist, und ob nukleär und mitochondrial kodierte Proteine der Atmungskette gleichermaßen betroffen sind. Außerdem untersuchten wir, ob die mRNA-Expression von Reglern der Expression mitochondrialer Proteine und Transkriptionsfaktoren ebenfalls durch Hypoxie beeinflusst wird.

Um dies zu klären, wurden humane Alveolarepithelzellen (A549-Zellen) Hypoxie ( $O_2$ -Gehalt 1,5%, 5%) für die Dauer 4h, 24h, 48h ausgesetzt. Anschließend wurde die mRNA-Expression der Regulatoren  $\alpha$ 1-Untereinheit der AMP-aktivierten Proteinkinase (AMPK; PRKAA1), Transkriptions-Koaktivator PGC-1 $\alpha$  (engl. peroxisome proliferator-activated receptor gamma, coactivator 1 $\alpha$ ), Calcineurin A (PPP3CA), nukleäre Respirationsfaktor 1 (NRF1), Nukleärer Respirationsfaktor 2 (NRF2), mitochondriale Transkriptionsfaktor A (TFAM), mitochondriale Transkriptionsfaktor B (TFB), Uncoupling protein 1 (UCP1), sowie die mRNA Expression der Atmungskettenkomplex-Proteine Untereinheit 6 der NADH-Dehydrogenase (NADH SU6), Eisen-Sulfat Protein 8 der NADH-Dehydrogenase (NDUFS8), Untereinheit B der Succinat-Dehydrogenase (SDHB), Untereinheit B der Cytochrom-c-Reduktase (MT-CYB), Untereinheit I der Cytochrom-c-Oxidase (COX1), Untereinheit 6 der ATP-Synthase (ATPase 6) durch Realtime-PCR untersucht. Die TFAM-Proteinmenge wurde zusätzlich im Western Blot untersucht.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Hypoxie-Exposition von A549 Zellen (1,5 %  $O_2$  für 24 und 48h) die mRNA Expression der Atmungskettenproteine NDUFS8, SDHB, MT-CYP und ATPase 6 signifikant verminderte. Ein geringerer Hypoxiegrad (5 %  $O_2$ ) zeigte keinen Effekt. Dieser Verminderung schloß sich eine deutliche Verminderung der Genexpression der Kontrollfaktoren und Atmungskettenkomplexe an. Die Expression der Kontrollfaktoren zeigte vor allem unter akuter Hypoxie (4h) eine signifikante Verminderung unabhängig vom Hypoxiegrad (AMPK, PGC-1 $\alpha$ , Calcineurin, NRF2, TFB). Die Expression von TFAM nahm ebenfalls ab, ebenso wie die TFAM-Proteinbildung signifikant zu allen Zeitpunkten bei 1,5%  $O_2$  vermindert war. NRF1 zeigte eine signifikant vermehrte Expression (1,5%  $O_2$ , 24h). Auch NADH SU6 und COX1 reagierten mit signifikant vermehrter Expression unter 5%  $O_2$ , 48h.

Aus diesen Ergebnissen schließen wir, dass die Verminderung der Aktivität der Zellatmung durch eine Abnahme der Genexpression einzelner Proteine der Atmungskette einher geht, wobei nukleär und mitochondrial kodierte Proteine gleichermaßen betroffen scheinen. Die Abnahme der Expression der Atmungskettenproteine wird wahrscheinlich durch eine Verminderung der Expression wichtiger Regulatoren ausgelöst.