

Lena Berg

Mitochondrialer Sauerstoffverbrauch in Alveolarepithelzellen nach beta-2 adrenerger Stimulation und Silencing von HIF in Normoxie und Hypoxie

Universitätsklinik Heidelberg, Innere Medizin VII: Sportmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. phil. Heimo Mairbäurl

Erhöhte Belastung und konsekutiv Hypoxie durch einen vermehrten Verbrauch von Sauerstoff oder auch Hypoxie im Sinne eines reduzierten PO_2 erfordert die Anpassung des Organismus auf verschiedenen Ebenen. Über eine Verminderung des ATP Bedarfs und die Regulation der Mitochondrienfunktion wird der Stoffwechsel auf zellulärer Ebene angepasst. Hypoxie senkt den gesamten und den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch von AT II Zellen. Bei länger andauernder Hypoxie werden Anpassungsmechanismen durch die Hypoxie induzierte Faktoren HIFs in Gang gesetzt, welche letztendlich zu einer verbesserten beziehungsweise effektiveren Nutzung des Sauerstoffangebotes auf Organebene und auch auf zellulärer Ebene führen. In der vorliegenden Arbeit wurde untersucht, wie sich die Mitochondrienfunktion in Hypoxie und nach beta-2 adrenerger Stimulation verändert und welche Rolle die Transkriptionsfaktoren HIF bei der Anpassung der Zelle an Hypoxie spielen. Dazu wurde die Expression der Transkriptionsfaktoren HIF-1 α und HIF-2 α in ATII Zellen über entsprechende shRNAs und adenovirale Transfektion unterdrückt. Die Zellen wurden dann in Normoxie (Raumluft mit 5% CO_2) und Hypoxie (1,5% Sauerstoff, 5% CO_2) kultiviert und mit Terbutalin zur beta-2 adrenergen Stimulation behandelt. Die Messung des Sauerstoffverbrauchs (JO_2) erfolgte mittels Mikrorespirometrie. Der mitochondriale Anteil am JO_2 wurde mittels Hemmung der mitochondrialen Atmungskette durch die Zugabe der Hemmstoffe Rotenon und Antimycin bestimmt. Um die mitochondriale Kapazität zu messen wurde FCCP (Carbonylcyanid-p-trifluoromethoxyphenylhydrazon) hinzugegeben. Das mitochondriale Membranpotential wurde mittels TMRE-Fluoreszenz bestimmt. Die Ergebnisse zeigen, dass Hypoxie den Gesamtsauerstoffverbrauch der AT II Zellen wie auch den mitochondrialen Sauerstoffverbrauch und die mitochondriale Kapazität senkt. Nach Silencing von HIF-1 α war dieser Effekt geringer, sodass von einer Regulation durch HIF-1 α ausgegangen werden kann. Beta adrenerge Stimulation erhöhte den Sauerstoffverbrauch der AT II Zellen in Normoxie nicht, was eigentlich wegen des erhöhten Natriumtransportes erwartet wurde. Auch in Hypoxie zeigten sich keine signifikanten Veränderungen des Gesamtsauerstoffverbrauchs der AT II Zellen nach Stimulation mit Terbutalin. Der mitochondriale Sauerstoffverbrauch war in Normoxie und Hypoxie nach Terbutalin-Stimulation nicht signifikant verändert. Nach HIF-2 α Silencing war ein signifikant geringerer Sauerstoffverbrauch zu messen. Dies zeigte sich auch in der mitochondrialen Kapazität. Das mitochondriale Membranpotential war in Hypoxie und nach Terbutalinstimulation in Normoxie und Hypoxie reduziert. Signifikante Reduktion zeigte sich jedoch nur in Normoxie in den Kontrollzellen und nach HIF-2 α Silencing. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass Hypoxie den Sauerstoffverbrauch der Zelle durch Vermindern des basalen und maximalen mitochondrialen JO_2 senkt. Die Ergebnisse weisen auch darauf hin, dass diese Hemmung HIF abhängig reguliert wird. In wie weit sich HIF-1 α und HIF-2 α in ihrer Funktion ergänzen und unterscheiden muss jedoch genauer untersucht werden. Zudem wurde gezeigt, dass Hypoxie die Mitochondrienfunktion in Gegenwart von Terbutalin hemmt, da es zu keiner Veränderung des Sauerstoffverbrauchs durch die Terbutalin-Stimulation in Hypoxie kam. Somit kann davon ausgegangen werden, dass der Stimulus Hypoxie dem der beta adrenergen Stimulation überwiegt. So wird die Hypothese aufgestellt, dass es nach beta-adrenerger Stimulation nicht zu einem erhöhten Sauerstoffverbrauch kommt, da die Mitochondrien effizienter arbeiten und den zur Verfügung stehenden Sauerstoff besser zur ATP Gewinnung nutzen. Dass die Mitochondrienfunktion nach der Stimulation verändert war, zeigte sich in einer Veränderung des mitochondrialen Membranpotentials.

