

Sabine Höschele
Dr. sc. hum.

In vitro und in vivo Einflüsse von Hypoxie auf den Ionentransport der Lunge

Geboren am 04.11.1964

Reifeprüfung am 08.06.1984

Studiengang der Fachrichtung Biologie vom WS 1989/90 bis WS 1996/97

Vordiplom am 09.10.1991

Diplomarbeit im WS 1996

Diplom am 29.04.1997 Universität Heidelberg (Biologische Fakultät)

Promotionsfach: Sport- und Leistungsmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. phil. H. Mairböurl

Vorraussetzung zur Durchführung der Studien zur Expression von Transportproteinen in Hypoxie war das Etablieren der Methode zum Nachweis der mRNA Expression mittels PCR, die einen wesentlichen Teil dieser Arbeit darstellte.

In der adulten Lunge findet der Gasaustausch zwischen Atemluft und Blut statt. Der Flüssigkeitsfilm, der die alveoläre Oberfläche bedeckt, wird möglichst dünn gehalten durch die Resorption von Wasser aus dem Alveolarraum, welche durch aktiven, transepithelialen Na-Transport über apikale epitheliale Na-Kanäle und basolaterale Na/K-ATPase getrieben wird.

Das Höhenlungenödem (HAPE) wird durch einen erhöhten pulmonal-arteriellen Druck, verstärkte Filtration von Flüssigkeit in den Alveolarraum und möglicherweise erhöhte Permeabilität von Kapillarendothel und Alveolarepithel ausgelöst. Außerdem könnte eine verminderte Flüssigkeitsresorption durch hypoxische Hemmung der Na-Transporter zur Bildung alveolärer Ödeme beitragen.

In dieser Arbeit sollte untersucht werden, ob die hypoxische Transporthemmung in kultivierten Alveolarepithelzellen auf einer verminderten Gen- und Protein-Expression der Na-Transporter beruht und ob die in Kultur gefundenen Änderungen auch bei in vivo Hypoxie-Exposition auftreten. Dazu wurde die Expression von ENaC und Na/K-ATPase in A549 Zellen in Hypoxie und in chemischer Hypoxie (Kobalt) bestimmt. Zusätzlich wurde untersucht, ob Vorbehandlung der Zellen mit Dexamethason zur Stimulation des Na-Transports, die Effekte von Hypoxie beeinflusst.

In A549 Zellen wurde die Aktivität der Na/K-ATPase sowohl durch Hypoxie als auch durch Kobalt gehemmt. Beide Effekte waren additiv, was auf unterschiedliche, O₂-abhängige und unabhängige Mechanismen hinweist.

Hypoxie und Kobalt führten zu einer Erhöhung der β_1 Na/K-ATPase mRNA, der β -ENaC mRNA, sowie des Gesamtzellproteins der α_1 Na/K-ATPase. Auf die Genexpression der anderen Untereinheiten dieser Na-Transporter hatten Hypoxie und Kobalt keinen Einfluss.

Dexamethason stimulierte die Aktivität der Na/K-ATPase in Normoxie und Hypoxie. Die Aktivität der Na/K-ATPase in Dexamethason vorbehandelten, hypoxischen Zellen war gegenüber hypoxischen Kontrollzellen erhöht. Die hypoxische Transporthemmung war jedoch auch unter Dexamethason vorhanden.

Außer der β_1 Na/K-ATPase mRNA nahm die mRNA Menge aller Na-Transportproteine nach Dexamethason Vorbehandlung der Zellen zu. Auch das α_1 Na/K-ATPase Protein nahm zu. Hypoxie-Effekte auf die Genexpression der Na-Transporter waren unter Dexamethason Behandlung nicht zu sehen.

Aus der Diskrepanz zwischen Transportaktivität, mRNA und Proteinexpression kann man schliessen, dass die verminderte Aktivität des Na-Transports in Hypoxie auf eine Inaktivierung der Proteine in der Membran, Endozytose und /oder Degradation zurückzuführen ist. Auch die Zunahme des α_1 Na/K-ATPase Proteins war nicht mit einer Steigerung der Genexpression erklärbar.

Ziel der Studie an Höhen-exponierten Bergsteigern war es, die Expression der Na-Transporter in Bronchialepithelzellen zwischen HAPE-anfälligen Personen und Kontrollen in Normoxie und Hypoxie (Capanna Margherita, 4559m) zu vergleichen. Dies könnte es ermöglichen Aufschluss über die Beteiligung des Na-Transports an der Entstehung von HAPE zu erhalten die HAPE-Anfälligkeit vorherzusagen.

In Normoxie fanden sich aber keine Unterschiede in der Expression der Transportproteine zwischen den beiden Gruppen. Eine Beurteilung der HAPE-Anfälligkeit durch Untersuchung der Expression von Na-Transportproteinen im Bronchialepithel in Normoxie ist daher nicht möglich. Im Gegensatz zu den Kontrollen fand sich in HAPE eine verminderte Expression von Na/K-ATPase, CFTR und β -Aktin. Da als zelluläre Anpassung an Hypoxie die Genexpression gehemmt wird, könnte die verstärkte Hypoxämie in HAPE diese Änderungen auslösen. Die ENaC Expression veränderte sich in keiner Gruppe, was darauf hinweist, dass die ENaC Expression über andere Mechanismen reguliert wird.

Aus den Ergebnissen beider Studien kann man schließen, dass eine Vorbehandlung mit Dexamethason die Na-Resorption durch Steigerung der Expression stimuliert. Dexamethason könnte in der Prävention, durch eine längere Ansprechzeit aber nicht zur akuten Behandlung von HAPE eingesetzt werden, weil es die Resorption alveolärer Ödeme stimulieren könnte.