

Susanne Berlinghoff  
Dr. med.

## **Der Einfluss von Hypoxie auf die Natrium/Kalium-Adenosintri-phosphatase in der Niere**

Geboren am 22.01.1973 in Mannheim  
Reifeprüfung am 19.05.1992 in Schriesheim  
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1993 bis SS 2000  
Physikum am 04.04.1995 an der Universität Heidelberg  
Klinisches Studium in Heidelberg  
Praktisches Jahr in Schwäbisch Hall  
Staatsexamen am 17.05.2000 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach: Innere Medizin  
Doktorvater: Prof. Dr. Phil. Heimo Mairbäurl

Hypoxie, welche unter anderem durch Höhenexposition begründet sein kann, wirkt sich auf diverse Organsysteme unterschiedlich aus. Beobachtungen zufolge treten die Niere betreffend in Zusammenhang mit Hypoxie Phänomene wie hypoxische Proteinurie und Polyurie auf, für deren Entstehung und Bedeutung unterschiedliche Erklärungsmodelle vorliegen.

In dieser Arbeit wurde daher experimentell untersucht, ob Hypoxie einen direkten Einfluss auf die Aktivität, Kapazität und Anzahl der Na/K-ATPase-Moleküle nimmt und dadurch Veränderungen in Bezug auf die Flüssigkeitsresorption über das Tubulusepithel unter hypoxischen Bedingungen hervorruft.

Untersucht wurden Zellkulturen renaler Tubulusepithelzellen nach Kultivierung unter normoxischen und hypoxischen Bedingungen (3% O<sub>2</sub>) über 1,4 und 24 Stunden. Außerdem wurden Versuche an homogenisiertem Rattennierengewebe durchgeführt, wobei die Ratten z.T. in Stoffwechsellkäfigen und z.T. in normaler Tierhaltung gehalten wurden und normoxischen bzw. hypoxischen Bedingungen von 14, 13, 12 und 10% O<sub>2</sub> über eine, 4 oder 24 Stunden ausgesetzt waren.

Bestimmt wurde die Transportleistung der Na/K-ATPase mit Hilfe von Tracerfluxmessungen an normoxisch und hypoxisch inkubierten MDCK-Zellen, wobei Ouabain bzw. Bumetanid als Hemmstoffe für die Na/K-ATPase und den Na/K/Cl-Kotransporter eingesetzt wurden. Die Aktivität der Na/K-ATPase an Plasmamembranen wurde mit Hilfe eines ATPase-Assays berechnet. Zudem erfolgte der Nachweis von membranständigen Proteinen sowie Gesamtzellprotein der Na/K-ATPase in der Plasmamembran durch Slot Blots und Western Blots.

Beobachtet wurden an MDCK-Zellen eine signifikante Abnahme der Gesamttransportleistung sowohl der Na/K-ATPase als auch des Na/K/Cl-Kotransporters mit zunehmender

Hypoxiedauer (4 und 24 Stunden) unter 3% O<sub>2</sub>. Außerdem bewirkte eine 24-stündige Hypoxieexposition die Abnahme von  $\alpha$ - und  $\beta$ -Na/K-ATPase.

In Hypoxie-exponierten Ratten war die Änderung der Na/K-ATPase-Aktivität nicht konsistent. Tendenziell kommt es zu einer Abnahme der membranständigen ATPase-Moleküle in der gesamten Niere mit zunehmendem Hypoxiegrad und Hypoxiedauer, wobei die  $\alpha$ -Na/K-ATPase im Mark und der Rinde sowohl in der Membran als auch im Gesamtprotein abnahm. Die Proteinmenge der  $\beta$ -Na/K-ATPase hingegen nahm unter mäßiger Hypoxieintensität (eine bis vier Stunden unter 12-14% O<sub>2</sub>) intermittierend zu, um bei Hypoxieeinwirkung von 10% O<sub>2</sub> über 24 Stunden wieder abzufallen. In Tieren, die in Stoffwechselfähigen Hypoxie-exponiert wurden, waren Harn- und Natrium-Ausscheidung sowie Harnmenge jedoch unverändert.

Als Vermittler zwischen Hypoxie und der Veränderung an den Na/K-ATPase-Molekülen kommen sowohl ein ATP-Mangel als auch Hormone oder natriuretische Substanzen in Frage, die beispielsweise über second messenger zu einer Phosphorylierung oder Internalisierung und damit Hemmung der Na/K-ATPase führen können.

Die vorliegende Arbeit zeigt somit, dass Hypoxie zwar Aktivität und Menge der renalen Na/K-ATPase beeinflusst, dass sich diese aber nicht auf die Nierenfunktion auszuwirken scheint. Möglicherweise verhalten sich Ratten hier anders als Menschen in Hypoxie während eines Höhengaufenthalts, sodass Ratten nicht als Modell für die Untersuchung der Höhendiurese geeignet sind.