

Anna Elisabeth Brislow
Dr. med.

Effekte von Hypoxie auf die cAMP-abhängige Signaltransduktion am Modell des Na/K/2Cl-Cotransporters in A549-Zellen.

Geboren am 26.02.1975 in Dortmund
Reifeprüfung am 21.06.1995
Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1996 bis SS 2003
Physikum am 20.03.1998 an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen
Klinisches Studium in Heidelberg
Praktisches Jahr in Stuttgart, Nantes/Frankreich, Göteborg/Schweden
Staatsexamen am 13.11.2003 an der Eberhard-Karls-Universität Tübingen

Promotionsfach: Sport- und Leistungsmedizin
Doktorvater: Prof. Dr. phil. H. Mairbäurl

Eine Vielzahl von Anpassungsmechanismen an Hypoxie werden über cAMP bzw. andere intrazelluläre Signalwege gesteuert. So wird z. B. auch der alveoläre Na⁺-Transport, ein wichtiger Mechanismus zur Verhinderung alveolärer Ödeme, durch cAMP stimuliert. Unklar ist jedoch, wie bzw. ob Hypoxie die zelluläre Signaltransduktion an sich beeinflusst.

Daher war es das Ziel dieser Arbeit mögliche Effekte von Hypoxie auf zellphysiologische Regulationsmechanismen in alveolären A549-Zellen, am Modell des Na/K/2Cl-Cotransporters, aufzuzeigen. Es wurden dabei mögliche Auswirkungen von Hypoxie auf zellvolumenregulatorische Maßnahmen und die intrazelluläre cAMP-abhängige Signaltransduktion untersucht.

Zur Messung der Aktivität des Na/K/2Cl-Cotransporters in Normoxie und Hypoxie wurden ⁸⁶Rb-Tracerfluxmessungen durchgeführt. Mögliche Auswirkungen von Hypoxie auf die Gesamtmenge an Cotransporterprotein und auf den Phosphorylierungsgrad des Na/K/2Cl-Cotransporters wurden in Westernblotanalysen mit Hilfe des T84- bzw. Anti-pho-Antikörpers gemessen; letzterer erkennt nur den phosphorylierten Na/K/2Cl-Cotransporter. Zellvolumenänderungen wurden durch Inkubation der A549-Zellen in hypo-, iso- bzw. hyperosmolaren Medien hervorgerufen. Der cAMP-abhängige Regulationsmechanismus wurde durch Zugabe von Isoproterenol bzw. cAMP, sowie durch cAMP-Messungen in normoxischen bzw. hypoxischen A549-Zellen nach β -adrenerger Stimulation mit Terbutalin, untersucht.

Die Ergebnisse zeigen, dass in Normoxie eine Zunahme der Osmolarität zu einer Zunahme der Aktivität des Cotransporters und des Phosphorylierungsgrades führt, während eine erhöhte Cl⁻-Konzentration diese Vorgänge hemmt. Einflüsse von Hypoxie auf die Zellvolumenabhängigkeit des Na/K/2Cl-Cotransporters scheinen nicht zu bestehen. Die in

anderen Studien festgestellte hypoxiebedingte Abnahme der Aktivität und Expression des Na/K/2Cl-Cotransporters war in dieser Studie nicht zu sehen.

Sowohl in Normoxie, als auch in Hypoxie konnte in den A549-Zellen durch Zugabe von Isoproterenol bzw. cAMP eine Hemmung der Aktivität des Na/K/2Cl-Cotransporters beobachtet werden. Diese Hemmung konnte nicht durch Veränderungen des Phosphorylierungsgrades oder der Gesamtmenge des Na/K/2Cl-Cotransporters erklärt werden. Hypoxie-exponierte A549-Zellen weisen eine signifikant verminderte cAMP-Konzentration auf. Außerdem ist der Anstieg des cAMP nach β -adrenerger Stimulation im Vergleich zu normoxischen Kontrollzellen vermindert.

Diese Ergebnisse weisen darauf hin, dass die Na/K/2Cl-abhängige Zellvolumenregulation in Hypoxie nicht beeinträchtigt zu sein scheint. Allerdings bewirkt Hypoxie eine Abschwächung des cAMP-Signals in der β -adrenergen Signaltransduktion. Dies könnte den Ionen- und Flüssigkeitstransport im Alveolarepithel beeinflussen und damit möglicherweise einen weiteren Pathomechanismus bei der Entstehung hypoxischer Lungenödeme darstellen.