

Gabriel Nonnenmacher
Dr. med.

Einfluss von HIF-1/2 und Terbutalin auf den Ionentransport im hypoxischen Alveolarepithel

Promotionsfach: Sportmedizin
Doktorvater: Prof. Dr. phil. Heimo Mairbäurl

Einschränkungen des alveolaren Sauerstoffangebotes führen zu Veränderungen der alveolokapillären Membran. Ungleichmäßige hypoxische Vasokonstriktion steigert den transmuralen Perfusionsdruck der Lungenkapillaren. Gleichzeitig wird die Flüssigkeitsreabsorption im hypoxischen Alveolarepithel vermindert. Kombiniert erhöhen diese Mechanismen die Dicke der 'alveolar lining fluid' bis zur Entstehung eines Lungenödemes. Um die Schritte der Typ II-Alveolarzellen vom O₂-Sensor bis zu den Anpassungen der Flüssigkeitsreabsorption genauer zu untersuchen, führten wir in-vitro-Studien mit Monolayern aus Ratten-ATII-Zellen durch. Ein Großteil der adaptiven Mechanismen der Alveolarzellen an Hypoxie beruht auf den in Hypoxie induzierten Transkriptionsfaktoren (HIF). Durch Depletion der mRNA der α -Untereinheiten von HIF-1 oder HIF-2 mittels siRNA konnten wir deren Einfluss auf den Ionentransport als treibende Kraft der Flüssigkeitsreabsorption in hypoxischen Alveolarzellen genauer untersuchen.

Hierzu kultivierten und isolierten wir Typ II-Alveolarzellen der Ratte in Normoxie und Hypoxie (1,5% O₂) \pm 100 μ M Terbutalin, nachdem sie durch ein adenovirales Transfektionssystem mit shRNA zur Depletion von HIF-1 α - oder HIF-2 α -mRNA behandelt worden waren. Anschließend wurde mittels quantitativer RT-PCR die mRNA-Expression der Na⁺/K⁺-ATPase und des ENaC gemessen, sowie die Aktivität der beiden Ionentransporter über den Kurzschlussstrom I_{sc} in Ussingkammern bestimmt.

Hypoxie minderte die Expression der α -, β und γ -Untereinheiten der ENaC. Die Minderung der ENaC-Expression in hypoxischen ATII-Zellen wurde nicht über HIF-1/2-Mechanismen gesteuert. Die am ΔI_{sc} nach Amiloridgabe in der Ussingkammer gemessene Aktivität des ENaC nahm unter Hypoxie ab. Auch diese Hypoxiewirkung wurde nicht durch HIF-1/2 vermittelt. Die β_2 -adrenerge Stimulation der ENaC-Aktivität konnte durch Silencing von HIF-1 α oder HIF-2 α verhindert werden. Die α_1 - und β_1 -Untereinheiten der Na⁺/K⁺-ATPase wurden unter Hypoxie weniger exprimiert, während sich die Bildung der α_2 -Untereinheit steigerte. Diese Umstellung des Expressionsmusters zeigte eine HIF-1/2-Abhängigkeit. Die am I_{sc} nach Amphothericin B-Gabe gemessene Aktivität der Na⁺/K⁺-ATPase sank ohne Beeinflussung durch HIF-1/2 α -Silencing unter Hypoxie. Die Steigerung der Aktivität der Na⁺/K⁺-ATPase durch β_2 -adrenerge Stimulation wurde durch Silencing von HIF-1 α oder HIF-2 α verhindert. Die Minderung der Flüssigkeitsreabsorption von Typ-II-Alveolarzellen unter Hypoxie wird durch die Modulation der Expression und Aktivität von Ionentransportproteinen und Aquaporinen verursacht. Die in Hypoxie induzierten Faktoren HIF-1 und HIF-2 sind daran nur teilweise beteiligt. HIF-1 und HIF-2 sind Teil der β_2 -adrenergen Stimulationskaskade zur Aufrechterhaltung oder Steigerung des alveolären Ionentransportes in Hypoxie.