

Marike Papen

Dr.med.

Effekte von Hypoxie auf Ca_i und den Ca-abhängigen Ionenstrom in Alveolarepithelzellen Typ 2.

Geboren am 06.08.1975 in Gießen

Reifeprüfung am 18.06.94 in Marienstatt

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom SS 1995 bis SS 2001

Physikum am 20.03.1997 an der Universität Heidelberg

Klinisches Studium in Heidelberg und Freiburg

Praktisches Jahr in Durban (Süd-Afrika), Visp (Schweiz) und Offenburg

Staatsexamen am 06.11.01 an der Universität Freiburg

Promotionsfach: Innere Medizin, Abteilung Sportmedizin

Doktorvater: Herr Priv.-Doz. Dr. phil. Heimo Mairbäurl

Die alveolären Typ 2-Zellen besitzen O_2 -sensitive Funktionen, die unter anderem den Ionenstrom regulieren. Bereits während der Geburt wandelt sich das Epithel von einem Cl^- -sezernierenden in ein Na^+ -resorbierendes um. In der postnatalen Lunge sorgt der aktive Ionenstrom für einen möglichst flüssigkeitsfreien Alveolarraum, um einen optimalen Gasaustausch zu gewährleisten.

Ein Höhenlungenödem kann beim gesunden Menschen als Folge von 6-48 stündiger Hypoxie plötzlich mit akuter Atemnot auftreten. Zur Entstehung des Höhenlungenödems tragen vermutlich ein exzessiv erhöhter PAP, eine erhöhte Kapillarpermeabilität und eine verminderte Resorptionsleistung des Alveolarepithels bei. In vitro Experimente aus unserer und anderen Arbeitsgruppen zeigen, daß der Ionenstrom von Alveolarepithelzellen in Hypoxie gehemmt wird.

In vielen O_2 -sensitiven Geweben werden Veränderungen des Po_2 über ein intrazelluläres Calciumsignal vermittelt. Auf den Anstieg des Ca_i reagiert die Zelle dann mit einer spezifischen Antwort. In den O_2 -Chemorezeptoren des Glomus Caroticum bewirkt Hypoxie z.B. eine Zunahme der Aktionspotentialfrequenz mit darauffolgendem Ca -Einstrom über

spannungsgesteuerte Ca-Kanäle der Plasmamembran. Auch vaskuläre glatte Muskelzellen zeigen einen O₂-abhängigen Tonus und reagieren über ein Ca-Signal mit Vasokonstriktion bzw. Vasodilatation. Um festzustellen, ob ähnliche Prozesse auch zur hypoxischen Hemmung des Ionttransportes in Alveolarepithelzellen beitragen, haben wir in dieser Arbeit untersucht,

1. ob der Ionttransport in A2-Zellen durch Calcium geregelt wird,
2. ob sich die intrazelluläre Calciumkonzentration selbst in Hypoxie verändert und damit an der Transduktion des Hypoxiesignals auf den Ionttransport beteiligt ist, und
3. ob sich die Änderung von Ca_i auf externe Stimuli in Hypoxie verändert und damit Ca-abhängige Prozesse in Hypoxie verändert werden.

Die Transportaktivität von A549-Zellen (menschl. Karzinomzelllinie von Lungenzellen mit A2-typischen Funktionen) wurde als unidirektionale Rb-Aufnahme in Normoxie und Hypoxie bestimmt. Mit Hilfe von Fluoreszenzmessungen mit Fura 2 AM an A549 und primär kultivierten A2-Zellen wurden Veränderungen von Ca_i gemessen, als externe Stimuli dienten Hypoxie, ATP, Isoproterenol und cAMP bzw. Kombinationen davon.

Die Ergebnisse zeigen, daß in A459-Zellen nach Modifizieren des Ca_i in Gegenwart von Ionomycin eine Verminderung von Ca_i den Ionttransport hemmt, während eine Erhöhung von Ca_i eine stimulierende Wirkung hat. Durch Variieren des extrazellulären Ca und Verwenden von Thapsigargin und BAPTA wurde gezeigt, daß in nicht ionophorbehandelten Zellen wohl Ca aus intrazellulären Speichern die Regelung des Ionttransportes bewirkt, da eine Depletion der Speicher den Ionttransport fast vollständig hemmt. Die Effekte sind in Normoxie und Hypoxie etwa gleich ausgeprägt. Nifedipin konnte die hypoxische Transporthemmung nicht verhindern.

Die Fluoreszenzmessungen zeigten keine Veränderungen von Ca_i auf akute Hypoxie. Folglich wird das Hypoxiesignal nicht über ein zytosolisches Calciumsignal übertragen. Das O₂-Sensing scheint in den A2- und A549-Zellen auf einem anderen Signalweg abzulaufen, der primär keine Änderung induziert.

Nach Stimulation mit ATP fiel das Ca-Signal in Hypoxie etwas niedriger aus, als das in Normoxie.

Diese Ergebnisse zeigen, daß zwar der Ionttransport von Alveolarepithelzellen durch Ca_i geregelt wird, daß aber Änderungen des Ca_i in Hypoxie nicht auftreten und daher die Ca_i Regelung des Transportes nicht für die hypoxische Transporthemmung relevant ist.

Aus diesen Befunden läßt sich zweitens schließen, daß Nifedipin, welches ganz deutlich das Risiko des Auftretens eines Höhenlungenödems reduziert, seinen Effekt durch die hämodynamische Senkung der pulmonalarteriellen Hypertonie und nicht durch Beeinflussung der Flüssigkeitsresorption im Alveolarepithel ausübt

