

Anna Seleninova  
Dr. med.

## **Effekt der Hypoxie induzierten Faktoren auf alveoläre Flüssigkeitsresorption in Hypoxie in vivo**

Fach: Sportmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. phil. Heimo Mairbörl

Hypoxie hemmt die alveoläre Flüssigkeitsresorption durch eine Hemmung der Aktivität von EnaC und Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPase. Dieser pathophysiologische Prozess könnte eine wichtige Rolle bei Entstehung des alveolären Ödems bei Hypoxie und bei ARDS spielen. Auch andere Formen von Lungenödem können durch die sekundäre Hypoxie persistieren. Die Anpassung von Zellen an Hypoxie erfolgt u.a. durch die Aktivierung der Hypoxie induzierten Faktoren HIF1 $\alpha$ , und HIF2 $\alpha$ . HIF sind Transkriptionsfaktoren, welche den anaeroben Stoffwechsel aktivieren und Energie-verbrauchende Prozesse, wie zum Beispiel Ionentransport und Translation inaktivieren, um so das Überleben der Zelle in Hypoxie sicherzustellen. Das Ziel dieser Arbeit war die Rolle der Hypoxie induzierten Faktoren an der hypoxischen Hemmung der alveolären Flüssigkeitsresorption zu untersuchen.

Dafür wurde die Expression von HIF1 $\alpha$  und -2 $\alpha$  bei jungen männlichen Sprague Dawley Ratten durch intratracheale Applikation von 0,25 · 10<sup>9</sup> Adenoviren mit siRNA vermindert, nachdem die Anzahl alveolärer Makrophagen zur Prophylaxe einer Entzündungsreaktion mit Clodronat depletiert worden sind. Die Transfektion wurde fluoreszenzmikroskopisch durch die Expression von GFP überprüft. Nach HIF Silencing wurden Ratten für 24h in Hypoxie (8% O<sub>2</sub>) gehalten, Kontrolltiere in Normoxie. Anschließend wurde die alveoläre Flüssigkeitsresorption (AFC) nach Instillation von Flüssigkeit mittels eines Volumenmarkers gemessen. Mit RT-qPCR wurde die mRNA-Expression verschiedener Ionentransporter, Entzündungsfaktoren und HIF-Zielgene in Proben aus gesamtem Lungengewebe bestimmt. Alveoläre Applikation von Clodronatliposomen führten zu einer signifikanten Depletion alveolärer Makrophagen (-70%), ohne dass die alveoläre Flüssigkeitsreabsorption signifikant beeinflusst worden wäre. Die AFC wurde durch 24h Hypoxie signifikant gehemmt. Nach Silencing von HIF1 $\alpha$  und 2 $\alpha$  war die hypoxische Resorptionshemmung reduziert, es zeigte sich eine Erhöhung der alveolären Flüssigkeitsresorption in Vergleich zur hypoxischen Kontrollgruppen um etwa 60%. In Normoxie hatte das Silencing von HIF dahingegen eine Verminderung der Flüssigkeitsreabsorption um circa 20% bewirkt. In RT-qPCR konnte jedoch keine signifikante Änderung der Mengen an mRNA von HIF1 $\alpha$  und HIF2 $\alpha$ , Entzündungsmediatoren wie Interleukin 6 und Tumornekrosenfaktor  $\alpha$  und induzierendes Nitritoxidsynthase, Ionentransporter wie Na-K-ATPase und epitheliale Natrium Kanäle ( $\alpha$ ,  $\beta$  und  $\gamma$  Untereinheiten) gezeigt werden.

Diese Ergebnisse zeigen, dass die Methodik ein funktionierendes Modell von HIF Silencing zu bieten scheint. Die möglichen Inflammationseffekte, welche die AFC hemmen könnten, wurden durch die Depletion der Makrophagen unterbunden. Bei deutlicher hypoxischen Hemmung der Resorption konnte Silencing von HIF die Hemmung erfolgreich reduzieren.

Insgesamt sprechen die Ergebnisse dafür, dass Hypoxie induzierten Faktoren eine Rolle bei hypoxischen alveolären Flüssigkeitsresorptionshemmung spielen.