

Inga Harting

Dr. med.

### **Mitochondriale Genexpression unter Hypoxie**

Geboren am 30.12.1971 in Frankfurt am Main.

Reifeprüfung am 11.6.1991 in Darmstadt.

Studiengang der Fachrichtung Medizin vom WS 1991 bis zum WS 1998.

Physikum am 6.9.1993 an der Universität Heidelberg.

Klinisches Studium: Universität Heidelberg und St Mary's Hospital Medical School, London.

Praktisches Jahr: Universität Heidelberg und New York University School of Medicine.

Staatsexamen am 17.11.1998 an der Universität Heidelberg.

Promotionsfach: Physiologie.

Doktorvater: Priv.-Doz. Dr. rer. nat. R. J. Wiesner.

Hypoxie stellt für den Organismus eine große Herausforderung seines Energiestoffwechsels dar. Die Anpassungsreaktion der mitochondrialen Genexpression an diesen Zustand zu untersuchen, war Ziel der vorliegenden Arbeit. Ihr lag die Arbeitshypothese zugrunde, daß die Abnahme der Sauerstoffverfügbarkeit eine Zunahme mitochondrialer Transkripte und konsekutiv von Enzymen der Atmungskette auslöst. Diese Hypothese wurde in drei Ansätzen untersucht: in Muskelbiopsien von Patienten mit chronisch obstruktiven Lungenerkrankungen (COPD), bei Ratten unter Hypoxie (14% O<sub>2</sub>) und bei hypoxischen humanen Hepatomzellen (3% O<sub>2</sub>). Als repräsentative Parameter für die mitochondrialen Transkripte wurden die mRNAs für die Untereinheiten I und III der Cytochrom-c-Oxidase (COX I, COX III) sowie die 12S rRNA (12S) bestimmt.

Für die Quantifizierung mitochondrialer Transkripte in den sehr kleinen Muskelbiopsien wurde zunächst ein spezielles RT-PCR-Protokoll etabliert, das die Zielsequenzen als Produktverhältnis zu einer endogenen, ko-amplifizierten Referenzsequenz quantifiziert. Neu entwickelt wurde damit die Möglichkeit, mittels einer DNA-Referenz Genexpression als Verhältnis von Transkripten pro Matrize in einer einzigen RT-PCR zu bestimmen. Zur Etablierung wurden die mitochondrialen Transkripte 12S und COX I in humanem linken Ventrikel quantifiziert; die Werte von 15.5 und 2.3 Molekülen 12S bzw. COX I pro Molekül mitochondrialer DNA sowie ein Verhältnis von 12S zu COX I von 6-7 stehen in guter Übereinstimmung mit den publizierten Werten für Rattengewebe und bestätigen sowohl die relativ geringe Expressivität der mitochondrialen DNA als auch einen Überschuß von 2-3 mRNAs pro Ribosom in Mitochondrien differenzierter Gewebe.

In den Skelettmuskelbiopsien von Patienten mit COPD zeigte sich mit zunehmendem Schweregrad der Hypoxie ein Anstieg der mitochondrialen Transkripte, der für 12S um den Faktor 1.3 stärker ausgeprägt war als für COX I. Eine Veränderung des Muskelfasertyps als Grundlage der Zunahme mitochondrialer Transkripte wurde nicht beobachtet. Auch bei Ratten unter Hypoxie sowie bei hypoxischen humanen Hepatomzellen zeigte sich ein Anstieg mitochondrialer Transkripte.

Insgesamt bestätigten die vorliegenden Ergebnisse die Hypothese einer gesteigerten oxidativen Kapazität bei abnehmender Sauerstoffverfügbarkeit. Der Vergleich mit der entsprechenden Literatur verdeutlichte, daß Hypoxie in Abhängigkeit von Dauer und Schweregrad einen Anstieg der oxidativen Kapazität bewirkt, bei der ein gesteigerter Energiebedarf, ebenfalls abhängig vom Ausprägungsgrad, synergistisch wirkt. Dieser Adaptationsprozeß scheint jedoch nur bis zu einer bestimmten Schwelle möglich zu sein, die von dem Grad der Hypoxie und dem Grad der körperlicher Aktivität sowie zusätzlichen Einflußfaktoren abhängig ist und bei deren Überschreitung es zur Umstellung auf anaerobe Stoffwechselwege und zu einer katabolen Stoffwechselsituation kommt.