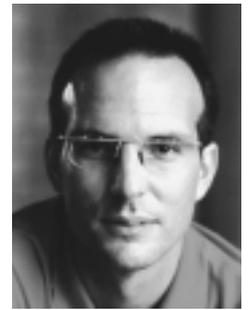


Sauerstoffmangel bewirkt Blut- und Gefässneubildung

Neue therapeutische Ansätze zur Behandlung von Bluthochdruck, Herzinfarkt, Hirnschlag, Wundverschluss und Tumorwachstum

PD Dr. med. vet. Max Gassmann, FVH *)



___ Forschungsgebiet

Sauerstoffmangel führt zur Neubildung von roten Blutkörperchen

Ohne Sauerstoff können wir nicht leben. Der in der eingeatmeten Luft vorhandene Sauerstoff (20%) ist eine Grundvoraussetzung für die Bereitstellung von Energie in allen Zellen unseres Körpers. Tritt ein Sauerstoffmangelzustand ein, beispielsweise durch das Einatmen sauerstoffarmer Luft im Hochgebirge oder durch unfallbedingten Blutverlust, so ist unser Körper gewappnet: die Nieren produzieren grosse Mengen des blutbildenden Hormons Erythropoietin – besser bekannt als EPO – das ins Blut abgegeben wird. Via Blutbahn gelangt EPO ins Knochenmark, die Produktionsstätte von roten Blutkörperchen, und kurbelt dort die Reifung der roten Blutkörperchen an (*Abbildung 1*). Diese wiederum sind mit rotem Blutfarbstoff (Hämoglobin) gefüllt. Die Funktion des Hämoglobins besteht darin, die eingeatmeten Sauerstoffmoleküle zu binden und via Blutstrom im Körper zu verteilen. Auf diese Weise werden die Zellen im Körper letztlich mit Sauerstoff versorgt.

Dank diesem EPO-gesteuertem Mechanismus wird die Anzahl roter Blutkörperchen im Gesamtblut

prozentuell erhöht. In der medizinischen Fachsprache wird dies als Erhöhung des Hämatokrits bezeichnet. Ein gesunder Mensch hat einen Hämatokritwert von ungefähr 45%, ein Ausdauerathlet einen von knapp 50%. Im Höhentraining kann ein Sportler somit kurz vor dem Wettkampf seinen Hämatokritwert (legalerweise!) erhöhen, was zu einer höheren Sauerstofftransportkapazität führt. Leider wird aber häufig zur EPO-Spritze gegriffen, mit der Folge, dass EPO in die negativen Schlagzeilen geraten ist (v.a. Doping im Radsport). In der Klinik aber hat EPO, eines der ersten gentechnologisch hergestellten Medikamente, seinen festen Standplatz eingenommen. Das Hormon wird häufig eingesetzt bei Patienten mit Blutverlust (z.B. Wöchenerinnen nach schwerer Geburt) oder bei Patienten die an schweren Nierenerkrankungen leiden (eigene EPO-Produktion stark vermindert).

Eisentransport, Blutdruck und Gefässneubildung

Weniger bekannt ist die Tatsache, dass EPO nur ein Beispiel aus einer grossen Familie von Faktoren darstellt, die der Körper als Antwort auf Sauerstoffmangelzustände einsetzen kann. Erwähnt sei beispielsweise das Transferrin, ein Eiweiss, das Eisen transportiert. Eisen ist ein wichtiger Bestandteil des roten Blutfarbstoffes und muss daher bei der Produktion von neuen roten Blutkörperchen zur Verfügung gestellt werden. Es macht also Sinn, dass bei Sauerstoffmangel die Eisentransportkapazität, sprich die Transferrinmenge, ebenfalls erhöht ist (*Abbildung 2*).

Ein weiteres Beispiel aus der Familie von Faktoren, die durch den Sauerstoffmangel erhöht werden, ist das sog. Endothelin-1. Dieser Faktor reguliert den Blutdruck indem es die Kontraktion von Blutgefässen bewirkt. So führt ein erhöhter Gehalt an Endo-

*) PD Dr. Max Gassmann
Physiologisches Institut
Universität Zürich-Irchel
Winterthurerstrasse 190
CH-8057 Zürich

Tel. 01 635 50 51
Fax 01 635 68 14
e-mail maxg@physiol.unizh.ch
URL www.unizh.ch/physiol

Nachdruck mit Quellenangabe gestattet.

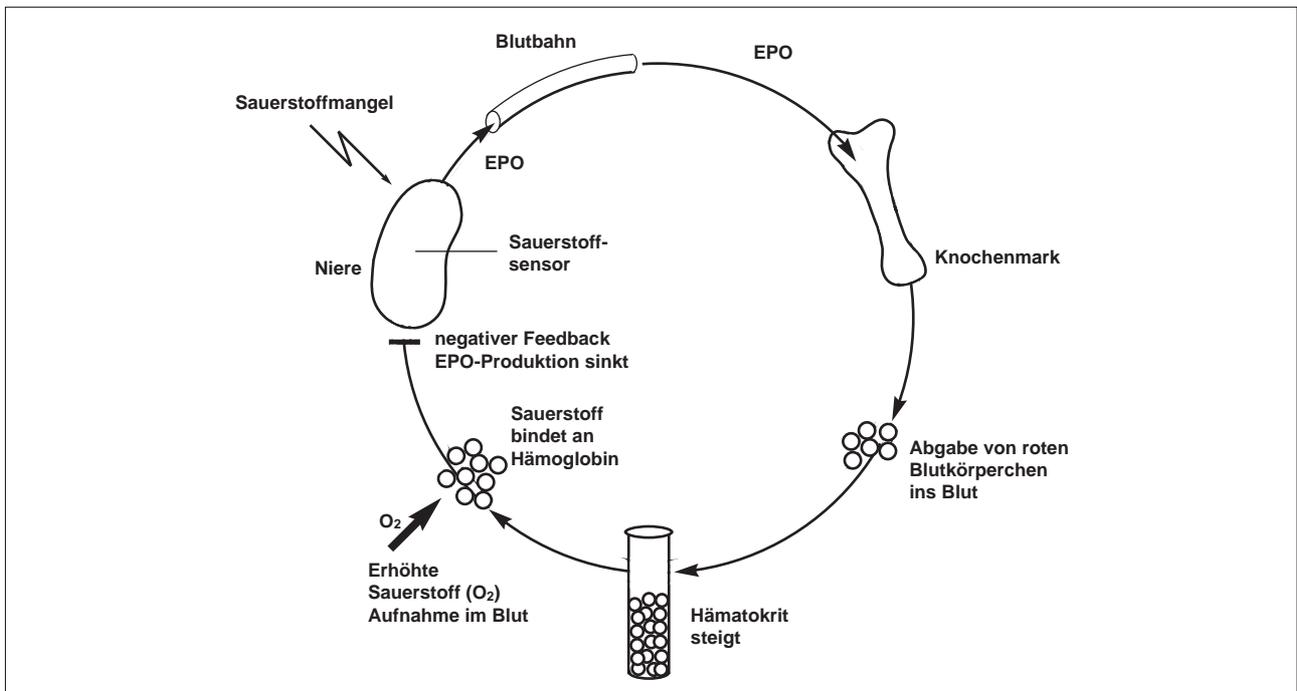


Abbildung 1 Sauerstoffmangel bewirkt eine erhöhte Produktion von EPO. Via Blut gelangt EPO ins Knochenmark, wo vermehrt rote Blutkörperchen produziert und ins Blut abgegeben werden. Somit kann das Blut mehr Sauerstoff aufnehmen. In der Folge sinkt der EPO-Blutspiegel auf Normalwerte zurück.

thelin-1 im Blut zu einem Zusammenziehen der Gefäße, was letztlich zu einer Erhöhung des Blutdruckes führen kann.

Als letztes, aber nichtdestoweniger wichtiges Beispiel, sei der vaskuläre endotheliale Wachstumsfaktor erwähnt. Dieser Faktor wird in denjenigen Zellen produziert, welche die Blutgefäße innen auskleiden (sog. Endothelzellen). Unter Sauerstoffmangelbedingungen führt dieser Wachstumsfaktor zur Entstehung von neuen Blutgefäßen. Dies ist

von grösster Bedeutung während des ganzen Lebens, z.B. während der embryonalen Entwicklung (Blutgefäßbildung in entstehenden Organen), bei der Wundheilung (Ersatz der verletzten Blutgefäße) oder, leider, auch beim Wachstum von Tumoren. In der Tat durchläuft ein Tumor während seines Wachstums einen Sauerstoffmangelzustand, der v.a. im Zentrum des Tumors offensichtlich wird (Abbildung 3). Um diesen Sauerstoffmangel auszugleichen werden grosse Mengen des vaskulären endothelialen Wachstumsfaktors von Tumorzellen her-

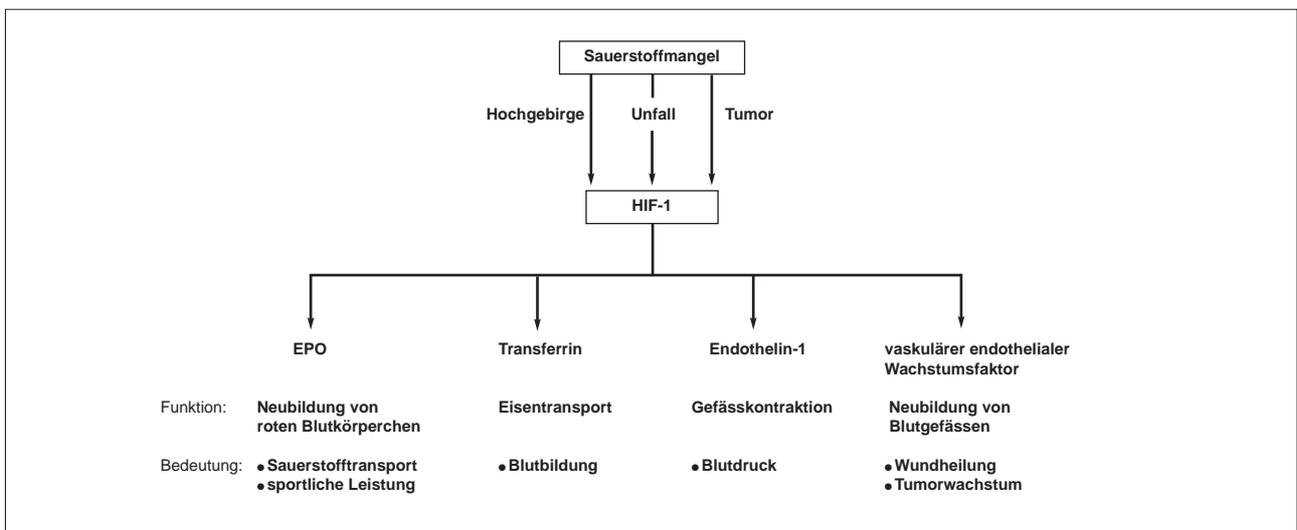


Abbildung 2 Sauerstoffmangel bewirkt einen erhöhten Gehalt an HIF-1, ein Faktor, der die Synthese von EPO, Transferrin, Endothelin-1 und vaskulärem endotheliale Wachstumsfaktor kontrolliert.

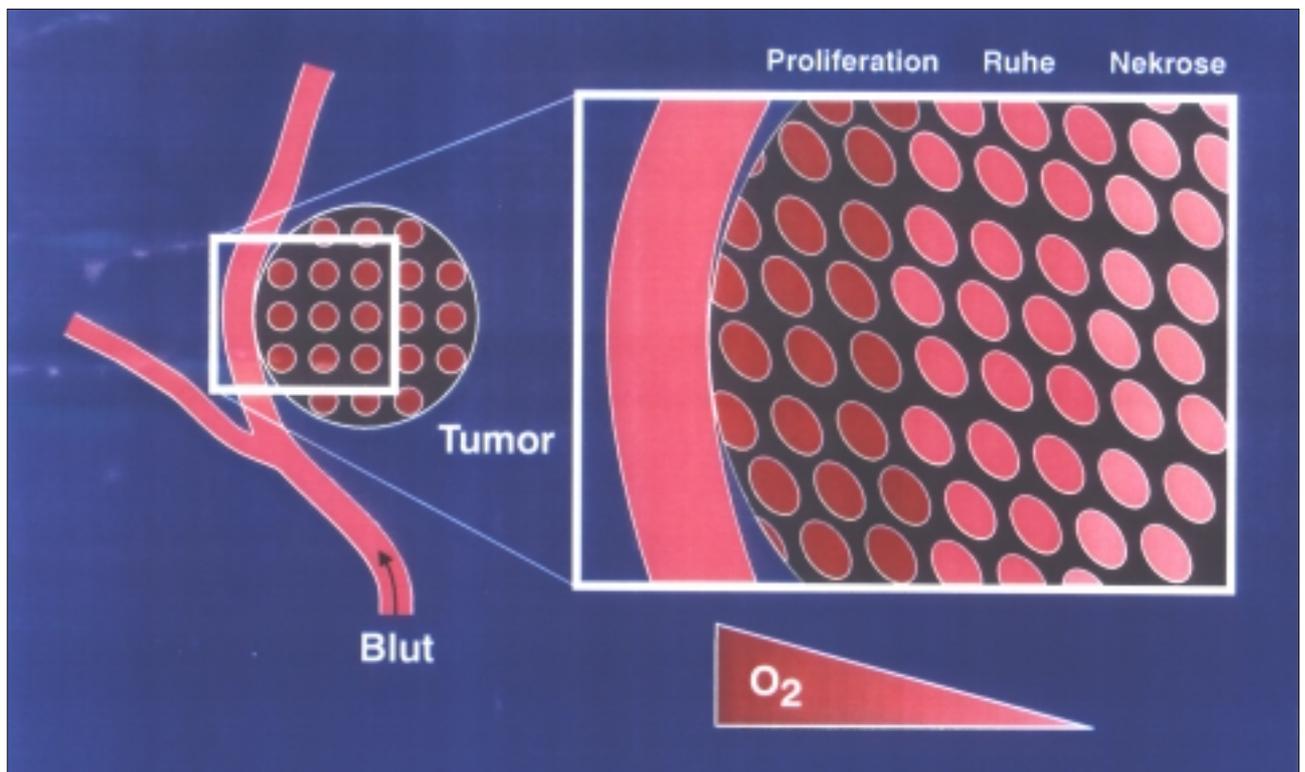


Abbildung 3 Schema der Sauerstoffversorgung in einem soliden Tumor.

gestellt, welches dazu führt, dass Blutgefäße in den Tumor einwachsen und somit die Versorgung des Tumors mit Sauerstoff und Nährstoffen gewährleistet. Mit anderen Worten, der Tumor benützt die körpereigene Strategie der Blutgefäßneubildung zwecks Aufrechterhaltung der Sauerstoff- und Nährstoffzufuhr.

HIF-1: Der Dirigent der zellulären Antwort auf Sauerstoffmangel

Wie weiss eine Zelle, dass sie einem Sauerstoffmangel ausgesetzt ist? Alle Zellen unseres Körpers besitzen einen noch unbekanntem Sensor für Sauerstoff, wahrscheinlich auf der Zelloberfläche, der das Signal «Sauerstoffmangel» (Hypoxie) in das Innere der Zelle weiterleitet. In der Zelle wird das Signal von einem Faktor wahrgenommen und an das genetische Informationszentrum, den Zellkern, weitergeleitet. Der Faktor, der das Signal «Sauerstoffmangel» aufnimmt und weiterleitet, heisst HIF-1 (Hypoxie-induzierbarer Faktor-1). Einmal im Zellkern angelangt, bindet HIF-1 an ganz spezifische Abschnitte der genetischen Information und veranlasst damit die gezielte Ueberproduktion an beispielweise EPO, Transferrin, Endothelin-1 oder vas-

kulären endothelialen Wachstumsfaktor. Oder anders ausgedrückt: HIF-1 ist der Dirigent, der das Zusammenspiel der sauerstoffabhängigen Faktoren dirigiert sobald ein Sauerstoffmangelzustand eintritt.

Zusammen mit anderen Arbeitsgruppen haben wir HIF-1 wissenschaftlich analysiert und festgestellt, dass HIF-1 eine sehr wichtige Rolle im Organismus spielt. So sind Mausföten, die kein HIF-1 besitzen, nicht entwicklungsfähig und kommen nicht zur Welt. Ueberrascht hat uns die Tatsache, dass dieser Faktor bei eintretendem Sauerstoffmangel sofort, d.h. innert Sekunden, den betreffenden Zellen zur Verfügung steht. Normalisiert sich die Sauerstoffzufuhr, verschwindet HIF-1 innerhalb von Minuten wieder. Ganz offensichtlich hat die Natur im Laufe der Evolution einen Mechanismus entwickelt, der eine sofortige Anpassung an verminderte Sauerstoffzufuhr unserer Zellen erlaubt.

___Zielsetzung

Wie reagieren unsere Zellen auf Sauerstoffmangel? Obschon einige Zusammenhänge bereits bekannt sind, sind wir noch weit davon entfernt, diese Frage

vollständig beantworten zu können. Wir suchen gegenwärtig nach dem «Sauerstoff-Sensor», analysieren im Detail die Mechanismen der HIF-1-Steuerung und untersuchen dessen Wirkung auf die Familienmitglieder der Sauerstoff-abhängigen Faktoren, insbesondere von EPO. Weiter interessiert uns die Auswirkung eines hohen Gehaltes von EPO im Blut auf den Gesamtorganismus (s. konkretes Beispiel unten). Für unsere Forschung setzen wir sowohl Zellkultur- als auch Mausmodelle ein.

Was bedeutet unsere Grundlagenforschung für den Patienten?

Je besser man die oben genannten Mechanismen kennt, desto gezielter kann ein neuer Therapieansatz formuliert werden:

- Ein Herzinfarkt oder ein Hirnschlag haben zur Folge, dass kleinere oder grössere Regionen der Herzmuskulatur, bzw. des Gehirns für eine bestimmte Zeit ungenügend mit Sauerstoff versorgt wurden. Der Arzt spricht von einer Ischämie. Es wird versucht, bei solchen Patienten die natürliche Reaktion auf Sauerstoffmangel zu intensivieren, in dem man beispielsweise HIF-1 in die geschädigte Region einbringt. Dies könnte z.B. mittels Injektion von gentechnologisch hergestelltem HIF-1 erfolgen, oder aber durch das Einschleusen der genetischen Information (DNS) von HIF-1 («Gentherapie»). Als Alternative ist es denkbar, nicht den Dirigenten (HIF-1) ins Spiel zu bringen, sondern ausgesuchte Familienmitglieder der sauerstoffabhängigen Faktoren, wie beispielsweise den vaskulären endothelialen Wachstumsfaktor, der die Gefässneubildung beschleunigt, oder EPO, das gemäss unseren Forschungsdaten eine schützende Funktion auf die Gehirnzellen haben könnte.
- Therapeutische Ansätze ergeben sich ebenfalls bei der Wundheilung. Zu beachten gilt, dass die Blutgefässe in der unmittelbaren Umgebung der Wundränder beschädigt sind. Zugabe von HIF-1 oder des vaskulären endothelialen Faktors könnte den Heilungsprozess beschleunigen. Dies ist bei schweren Verletzungen wie beispielsweise bei schweren Verbrennungen von allererster Priorität. Wie aber steht es mit kleineren Wunden, bei denen auch ein kosmetischer Gesichtspunkt

zu berücksichtigen gilt? Hier wäre allenfalls eine Verlangsamung des Wundverschlusses eher angezeigt. In einer Zusammenarbeit mit dem Kinderspital Zürich gehen wir gegenwärtig der Frage nach, warum Wunden bei einem Föten narbenfrei verheilen, d.h. regenerieren, während dem beim Erwachsenen diese Regenerationsfähigkeit nicht mehr vorhanden ist und es somit zur Narbenbildung kommt. Wir haben erste experimentelle Hinweise dafür, dass die sauerstoffarme Umgebung, in welcher sich der frühe Fötus normalerweise entwickelt, eine wichtige Rolle spielen könnte. Gelingt es uns diesen Mechanismus zu entschlüsseln, öffnen sich viele Türen zur Behandlung von Wunden.

- Bei der Tumorentstehung möchten wir die Hypothese testen, ob die gezielte Zerstörung von HIF-1 den Tumorstadium verlangsamen oder gar stoppen kann. In der Tat beobachten wir im Mausmodell, dass Tumoren, die kein HIF-1 produzieren, markant langsamer wachsen im Vergleich zu solchen, die HIF-1 besitzen. Beim Menschen könnte man sich verschiedene Ansätze zur Verminderung der HIF-1-Produktion vorstellen, z.B. durch Zugabe eines Antikörpers, der die Wirkung von HIF-1 neutralisiert. Solche Antikörper werden in unserer Arbeitsgruppe hergestellt und getestet.

Ein Beispiel aus unserer Forschungstätigkeit

Hoher Blutdruck ist eine der häufigsten Todesursachen unserer Konsumgesellschaft. Der Kontraktionszustand der Blutgefässe ist wesentlich beteiligt an der Einstellung des Blutdruckes: je enger die Gefässe, desto höher der Blutdruck, der aufgebaut werden muss, um den Bluttransport zu gewährleisten. Zur Untersuchung der Wirkung einer erhöhten Anzahl von roten Blutkörperchen auf die Blutgefässe haben wir das Erbgut einer Maus gezielt dahingehend verändert, dass die Maus übermässig viel EPO produziert. Wir waren sehr überrascht, dass trotz einer Verdoppelung der Anzahl roter Blutkörperchen und einem Hämatokritwert von 80% (!), diese sog. transgene Maus sich unauffällig verhielt und insbesondere keine Erhöhung des Blutdruckes und der Herzfrequenz zeigte. Offensicht-

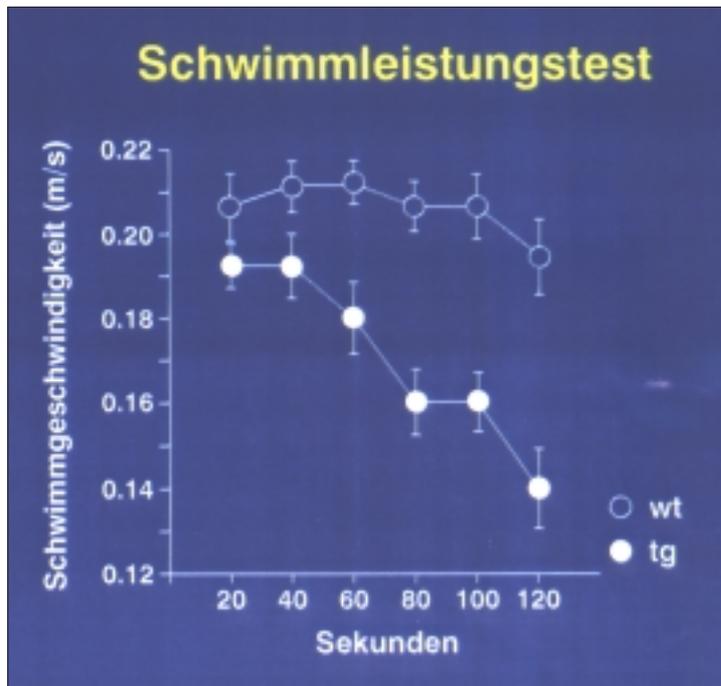


Abbildung 4 Die Schwimmleistung einer transgenen Maus mit einem Hämatokritwert von 80 % ist markant reduziert. wt = Kontrolltiere (sog. Wildtyp), tg = transgene Tiere.

lich ist die Maus in der Lage, mit dieser extremen Bluteindickung zu leben. Unser Ziel war es, den Adaptationsmechanismus zu entschlüsseln in der Hoffnung, einen Beitrag zur Behandlung von hohem Blutdruck zu leisten. Dieses eine Beispiel unserer Forschungstätigkeit am Physiologischen Institut der Universität Zürich ist in der Folge detaillierter beschrieben.

Unsere transgenen Mäuse haben einen etwa 20 Mal erhöhten EPO-Gehalt im Blut im Vergleich zu den normalen Kontrolltieren. Dieser erhöhte Gehalt führt zu einer massiv gesteigerten Produktion von roten Blutkörperchen, zu einer Verdoppelung der Blutmenge und zu einem Anstieg des Hämatokrits von rund 42% auf etwa 80%. Diesen hohem Gehalt an roten Blutkörperchen sieht man der Maus von blossem Auge an (Rotfärbung der Schnauze). Unerwarteterweise führt dieses zähflüssige Blut weder zu einem hohen Blutdruck noch zu Blutgerinnsel. Die Untersuchung dieser Mäuse, die in enger Zusammenarbeit mit der Kardiologie des Universitäts-Spitals Zürich erfolgte, ergab, dass die Blutgefäße der transgenen Mäuse stark erweitert sind. Die wohl berühmteste körpereigene Substanz, die eine Gefässerweiterung bewirken kann, ist das kurzlebige Gas Stickstoffmonoxid, besser bekannt als NO. In der Tat konnten wir feststellen, dass die Produktion

an NO in den Zellen, die die Blutgefäße auskleiden (endotheliale Zellen) stark erhöht ist (Das Enzym, das endotheliales NO synthetisiert, heisst eNOS.) Blockiert man die NO-Produktion, so können unsere Tiere nicht mehr adaptieren. Insgesamt lieferten diese Beobachtungen den ersten Beweis, dass NO eine schützende Rolle im lebenden Organismus ausübt. Weitere Experimente stehen nun an, wie z.B. das Testen verschiedener blutdruckregulierender Medikamente, die Quantifizierung der Endothelin-1-Produktion, die Untersuchung der Blutgerinnung sowie die Bestimmung der Sauerstofftransportkapazität des Blutes.

Es lag auf der Hand, ebenfalls die «sportliche Leistung» unserer Maus mit einem Hämatokrit von 80% zu bestimmen. Hierfür liessen wir unsere Tiere nicht radfahren, sondern schwimmen. So wurde in Zusammenarbeit mit dem Anatomischen Institut der Universität Zürich die Schwimmgeschwindigkeit der Tiere zwei Minuten in digitalisierter Form aufgenommen. Im Vergleich zu den wildtyp Kontrollgeschwistern konnten die transgenen Tiere während 40 Sekunden mithalten. Danach aber nahm die Schwimmleistung rapide ab (Abbildung 4). Wir vermuten, dass die hohe Zähflüssigkeit des Blutes den Transport in den Blutgefässen zu stark beeinträchtigt. Trotz der hohen Sauerstofftransportkapazität ist also die «sportliche Leistung» der Tiere massiv eingeschränkt.

___Dank

Dieses eine Beispiel soll nicht nur erläutern, was unser Team erforscht, sondern auch darauf hinweisen, dass unsere Untersuchungen mit Hilfe anderer Institute erleichtert oder gar erst möglich gemacht werden. Ferner soll dieses Beispiel die Notwendigkeit des Einsatzes von gentechnologisch veränderten Tieren festigen. Ohne tatkräftigen Einsatz der Mitglieder meiner Arbeitsgruppe (Abbildung 5) und ohne finanzielle Unterstützung des Schweizerischen Nationalfonds sowie vieler anderen Stiftungen und Spenden wäre unsere Forschungsarbeit nicht möglich gewesen. Bei allen möchte ich mich ganz herzlich bedanken!

Literatur

HIF-1 Übersichtsartikel:

Gassmann M. and Wenger R.H., «HIF-1, a mediator of the molecular response to hypoxia.» *News in Physiological Sciences* 12, 214–218, 1997

Wenger R.H. and Gassmann M., «Oxygen(es) and the hypoxia-inducible factor-1.» *Biological Chemistry* 378, 609–616, 1997

EPO-Überexpression in transgenen Mäusen:

Ruschitzka F., Wenger R.H., Stallmach T., Quaschnig T., de Wit C., Wagner K., Labugger R., Kelm M., Noll G., Rülcke T., Shaw S., Lindberg R.L.P., Rodenwaldt B., Lutz H., Bauer C., Lüscher T.F. and Gassmann M., «Nitric oxide prevents cardiovascular disease and determines survival in polyglobulic mice overexpressing erythropoietin.» *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* 97, 11609-11613, 2000.



Abbildung 5 Die Arbeitsgruppe von PD Dr. Max Gassmann.