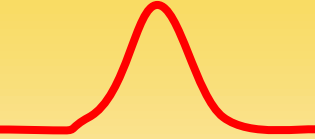


# Etablierung einer neuen spektrophotometrischen Technik zur in vivo Beobachtung sauerstoffsensitiver Cytochrome in der isoliert perfundierten Lunge

Natascha Sommer, Hossein A. Ghofrani, Ralph T.  
Schermuly, Werner Seeger, Friedrich Grimminger,  
Norbert Weissmann

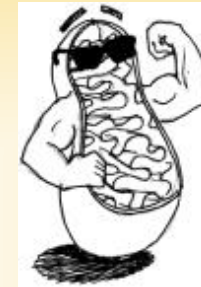


# Outline



- Sauerstoffsensing

- Hypoxische Vasokonstriktion (HPV)
- Mitochondrien und Cytochrome



- Remissionsspektrophotometrie

- Absorption, Streuung, Versuchsaufbau
- Differenzspektren

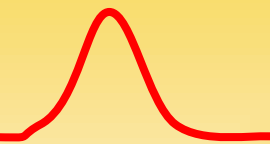


- Blockade der Atmungskette mit Cyanid

- Redox-Veränderung der Cytochrome korreliert mit Blockade der HPV

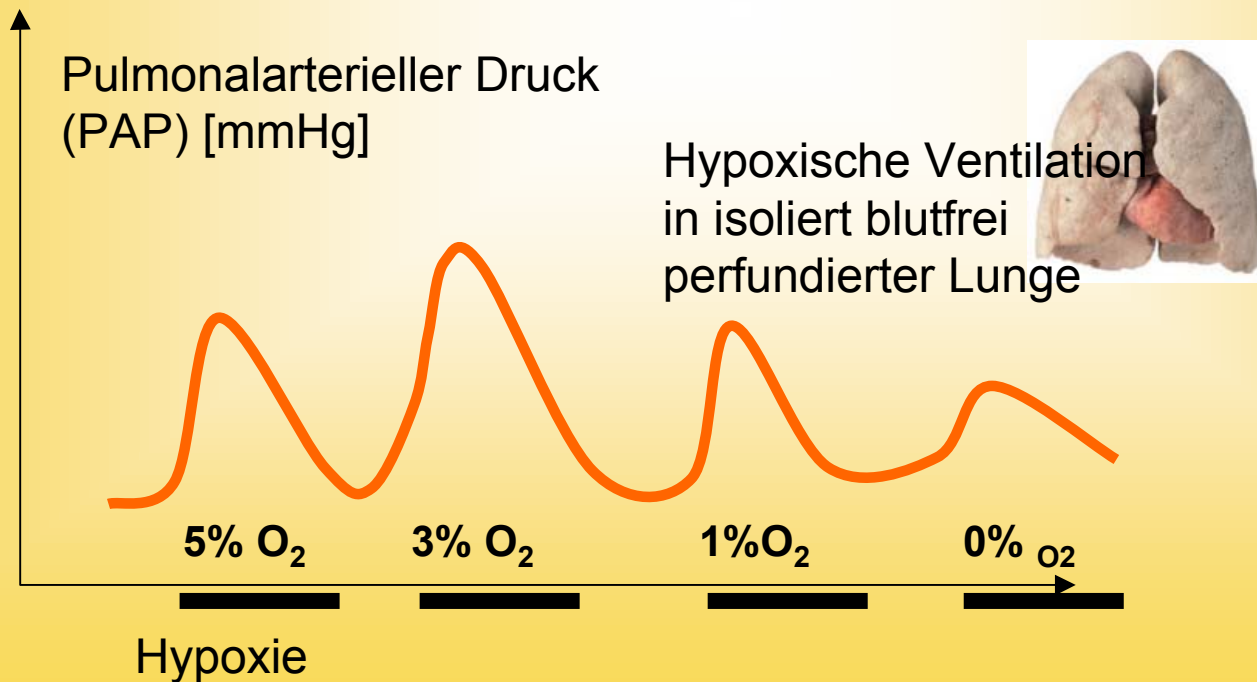


# Sauerstoffsensing



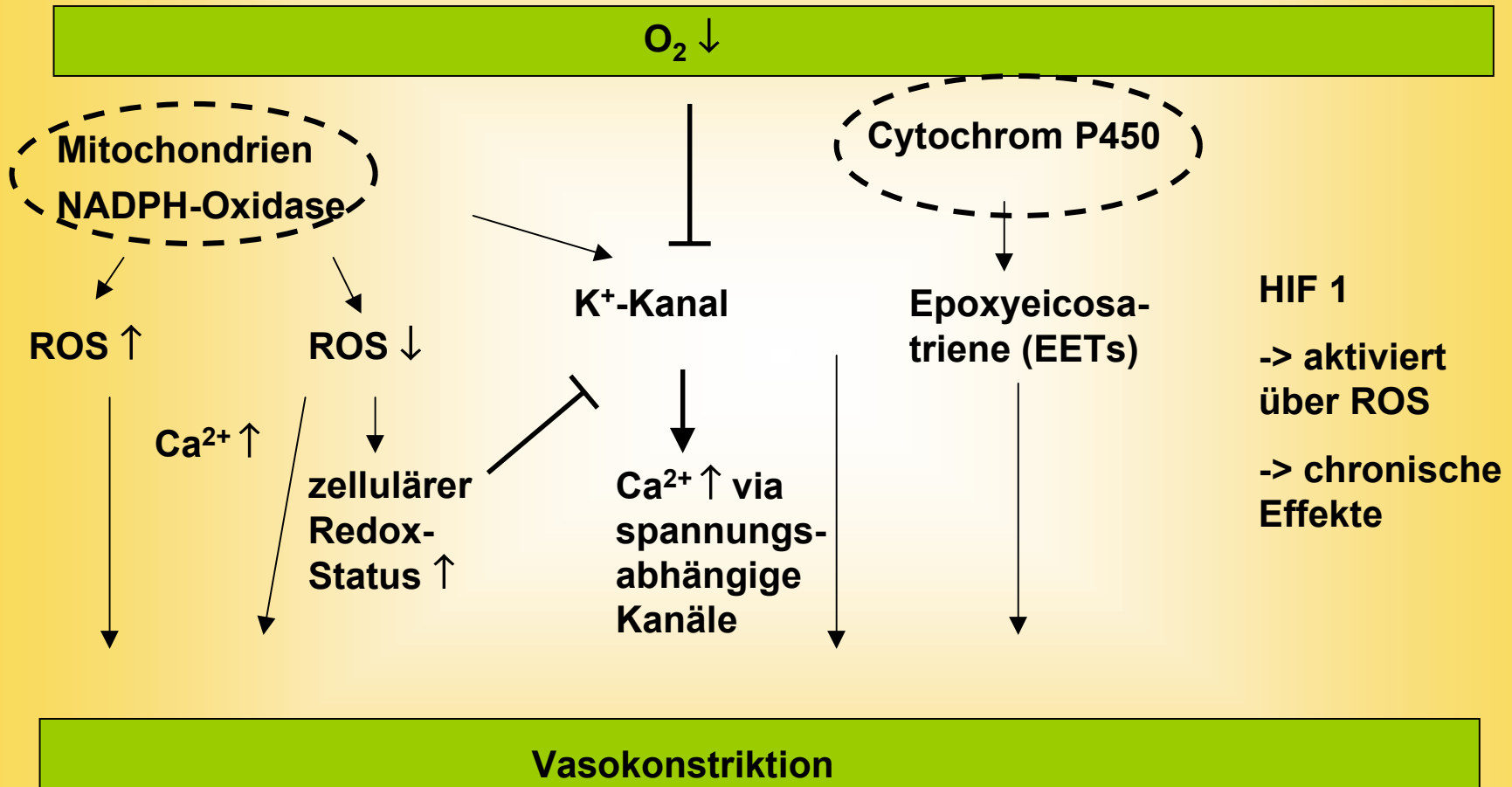
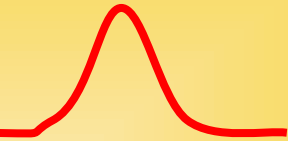
- Carotidglomus, Plazenta, Niere (EPO-Freisetzung)

- Lunge: **Hypoxische pulmonale Vasokonstriktion (HPV) (akut)**  
Arteriellles Remodeling (chronisch)



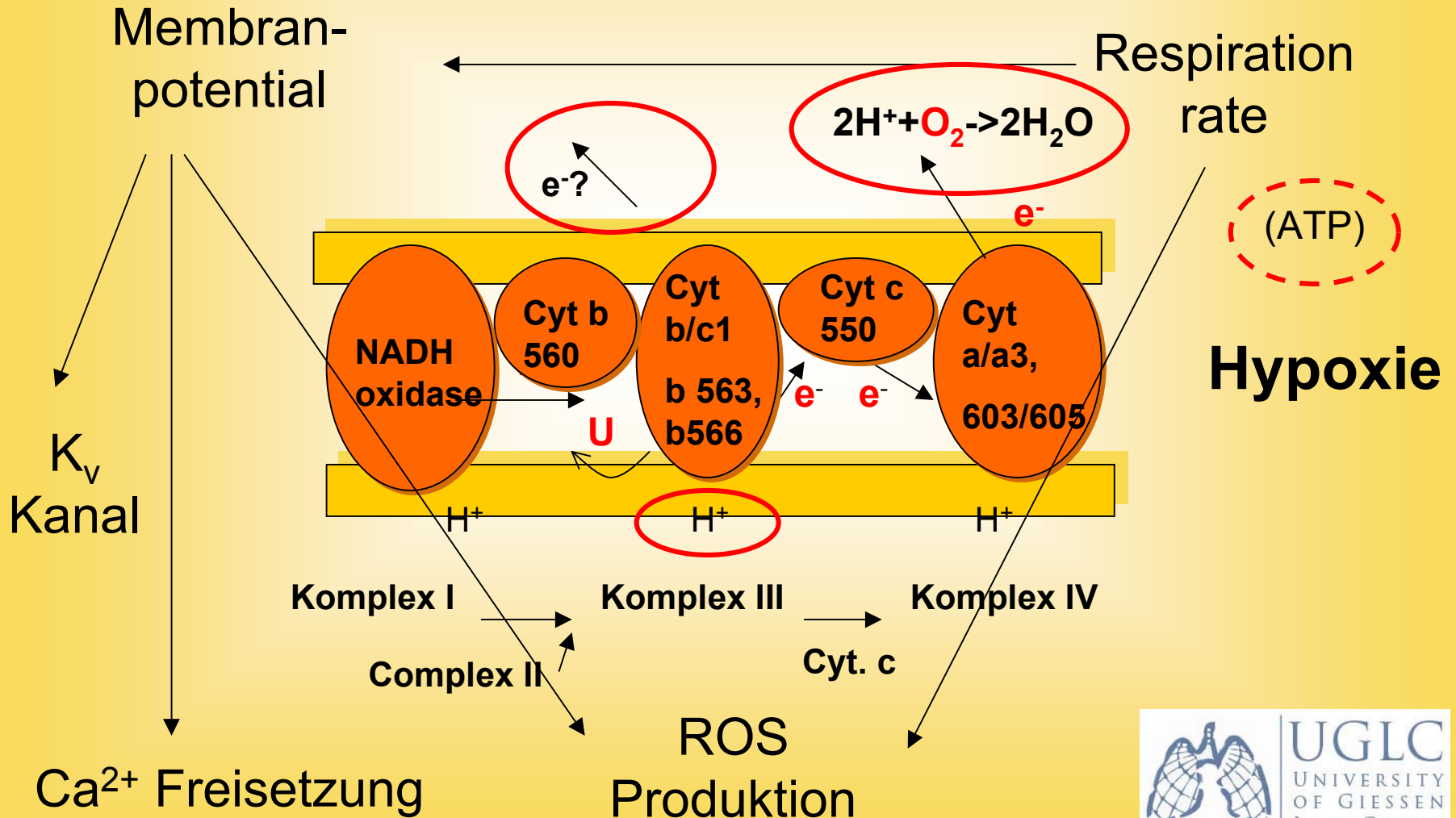
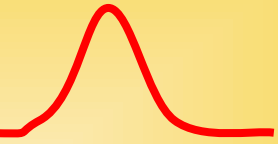


# Mögliche Mechanismen





# Atmungskette



# Effekte von Inhibitoren der Atmungskette auf die HPV

Blocker	HPV	Normoxie PAP	ROS (tissue spec!)	Respir.	mem. pot
Rotenone (KI)	↓	—	↓/↑		
MPP (KI)	↓	↑ (lost during preblocked NO)			
3-NPA (KII)	↓ (partly specific)	—			
Antimycin (KIII)	↓	—	↑		
Cyanide (KIV)	↓	↑	↑		
FCCP (uncoup.)	↑/↓ (dose dependend)	↑	↑ (CIII) ↓ (CI)	↑/↓	↓
Oligomycin (ATPase)					↑
Hypoxia	↑		?	↓/↓ ↓	↓



?




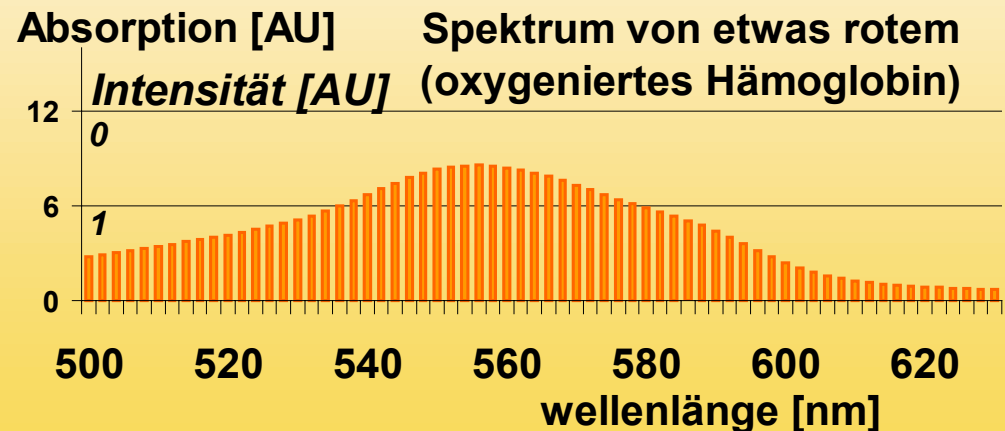
# Beobachtung der Cytochrome in vivo?

- in **lebenden** Mitochondrien
- im **intakten Organ**
- während **hypoxischer Vasokonstriktion**

-> Messung der Farbänderung (Absorption)

# Methode: Farbmessung im Gewebe

- **Sonde:** Licht in/aus Gewebe 
- **Weisslichtquelle:** Emission von Weisslicht
- **Spektrometer:** quantifiziert gemessene Lichtintensität bei spezifischen Wellenlängen





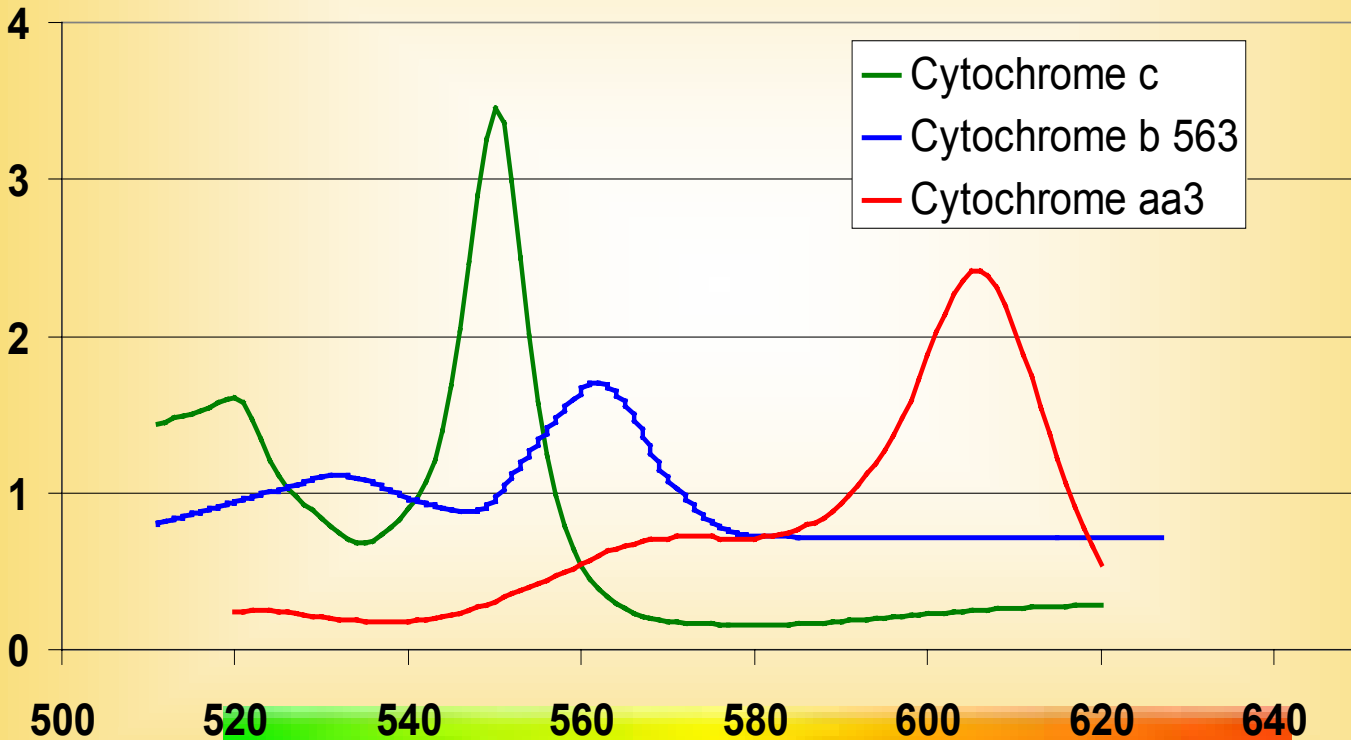
# Cytochromabsorption

I / II

III

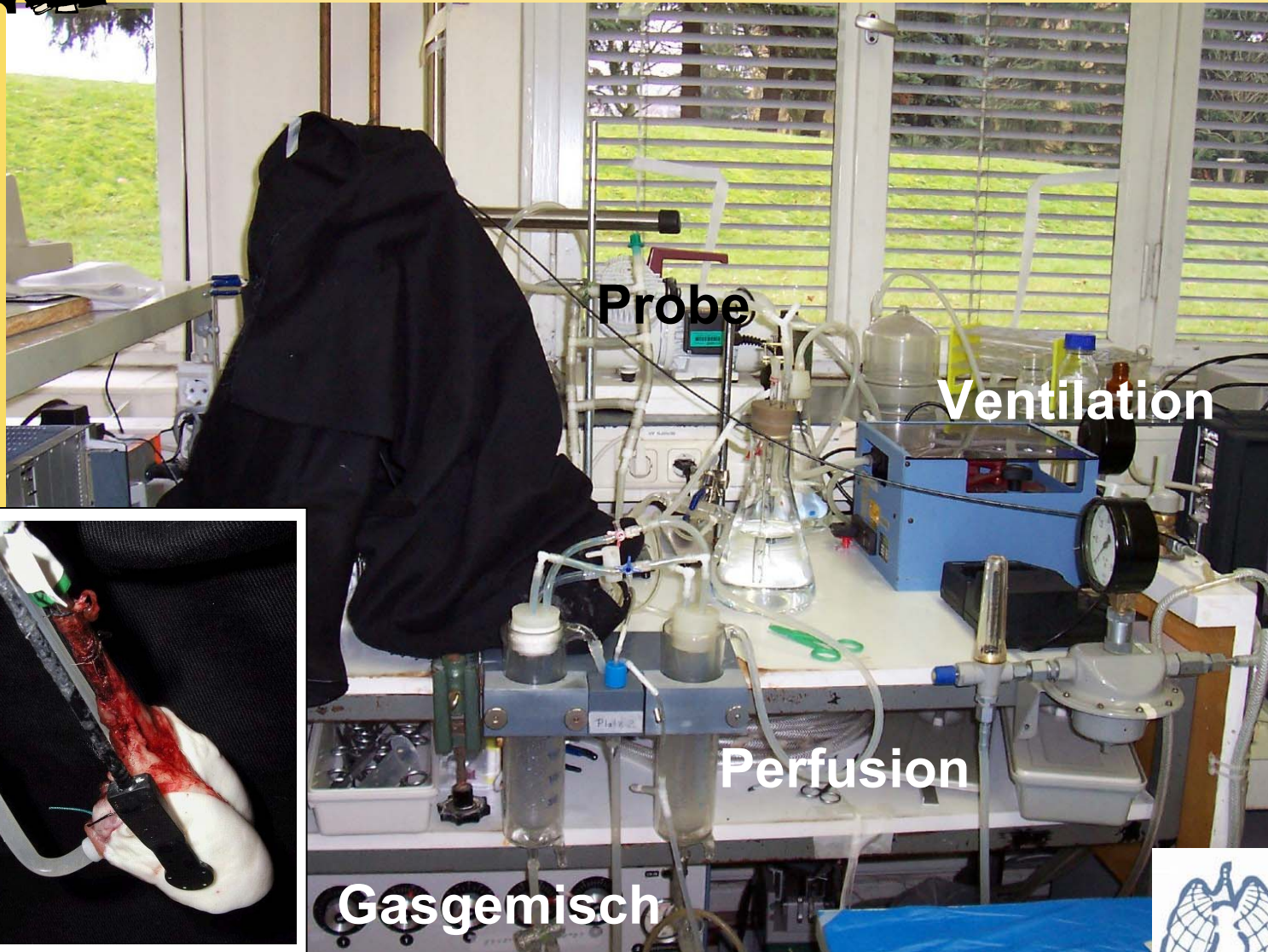
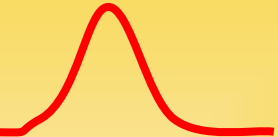
cyt c

IV



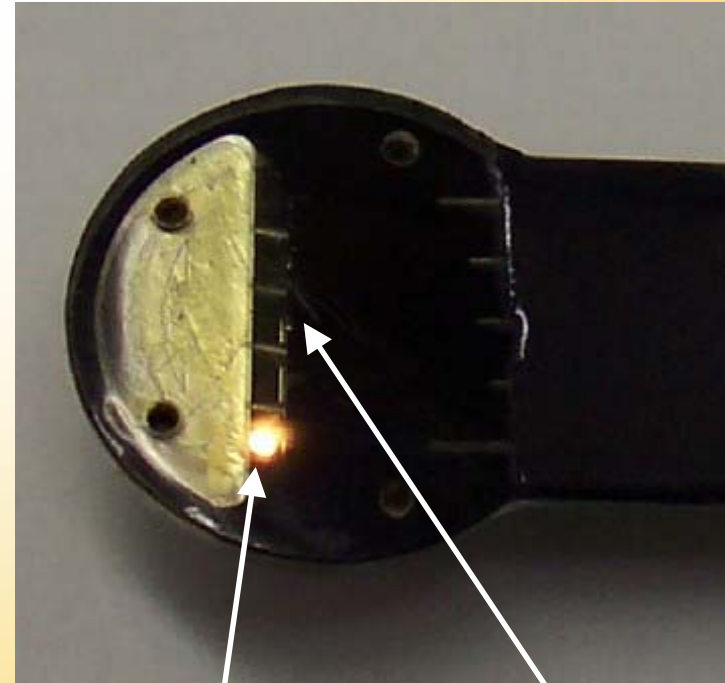


# Setup



# Sonde

Messtiefe abhängig von  
Sondengeometrie (ca.4-8  
mm)

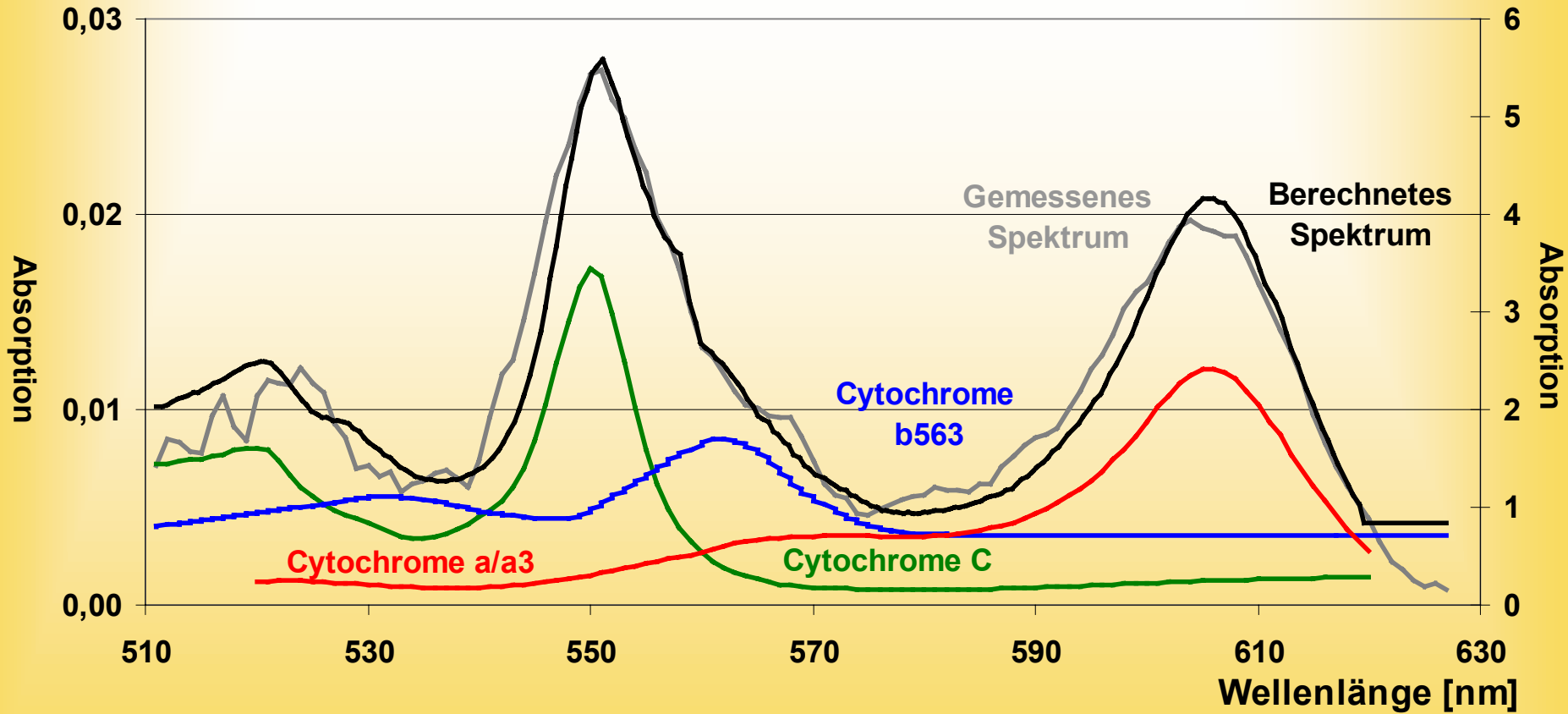


Licht-  
emission in  
Gewebe

Gemessenes  
Licht



# Differenzspektrum

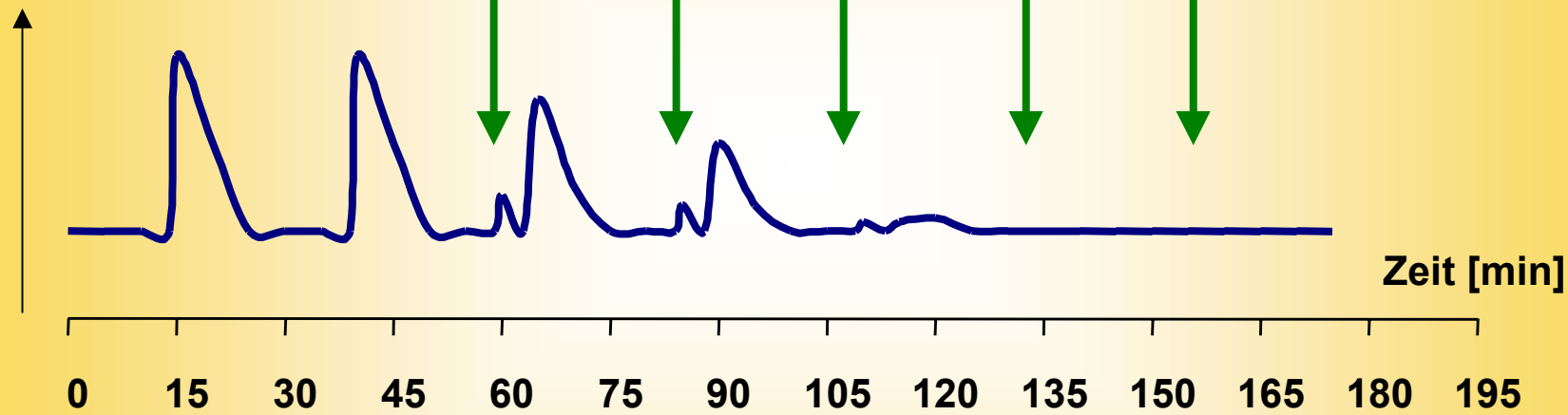


# Versuchsablauf

spezifische Blockade der HPV durch Cyanid

PAP (pulmonary arterial pressure [mmHg])

Cyanid 1, 5, 10, 25, 80  $\mu\text{M}$



Hox

Hox

Hox

Hox

Hox

Hox

Hox: Hypoxie 10min

Nox

Nox

Nox

Nox

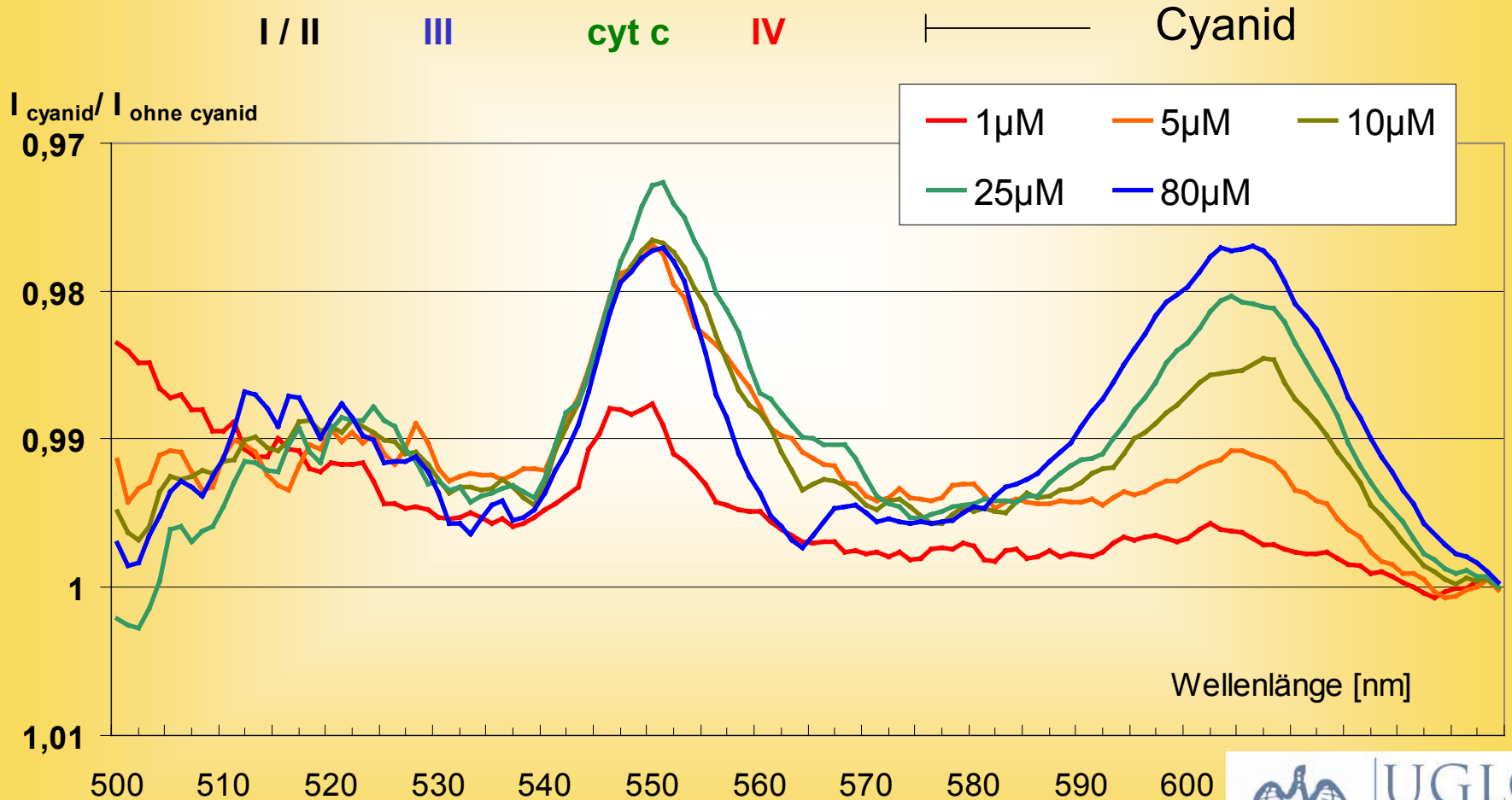
Nox

Nox

Nox: Normoxie 15 min



# Periphere Inhibition



# Korrelation mit HPV

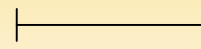


I / II

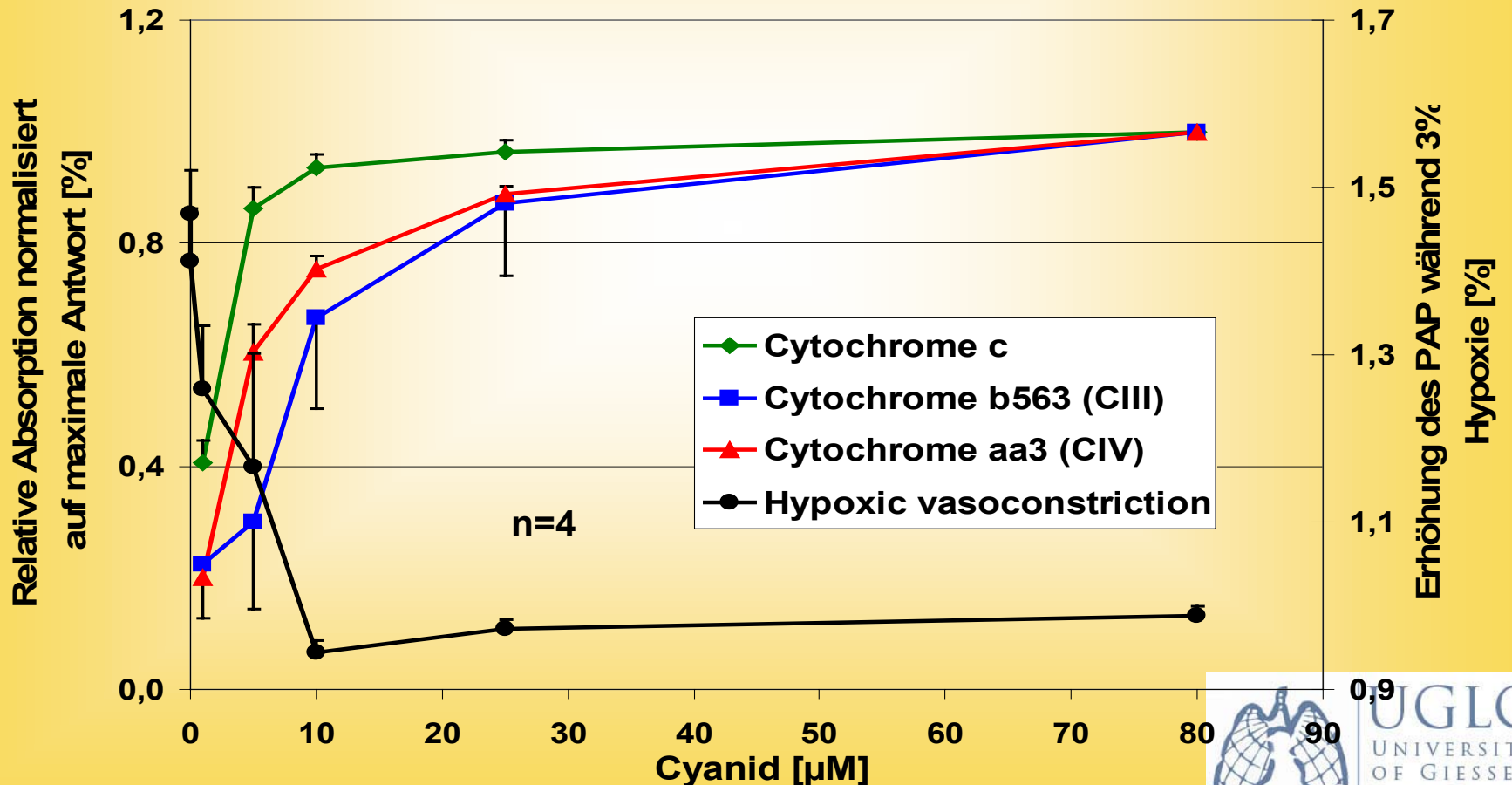
III

cyt c

IV



Cyanid



# Outlook, Summary...

## Mittels Remissionsspektrophotometrie können Cytochrome am intakten Organ beobachtet werden

Probleme:

- Differenzierung der Cytochrome
  - Nur Cytochrome können beobachtet werden
  - Keine Unterscheidung unterschiedlicher Kompartemente
- > Gabe von spezifischen Inhibitoren
- > Messung isolierter Mitochondrien (z.B von PASMC) und Vergleich mit anderen Organen

& Danke!

