

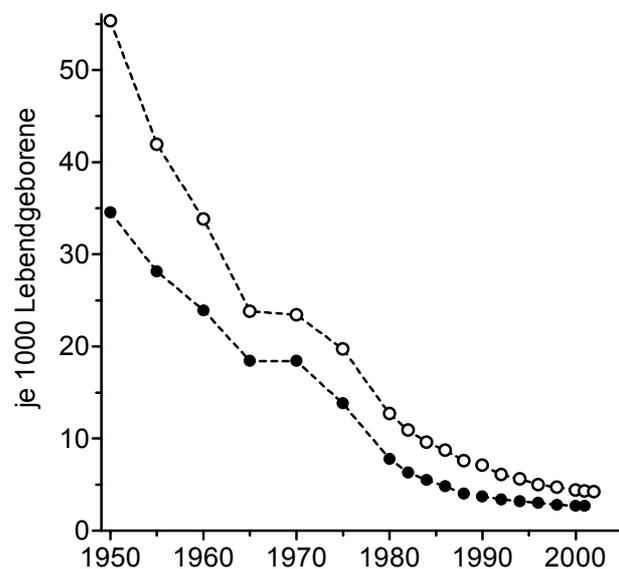
1. Einführung in die Thematik

1.1 Klinische Bedeutung des Atemnotsyndroms

Das Atemnotsyndrom ist eine durch Surfactantmangel verursachte pulmonale Erkrankung der morphologisch, biochemisch und funktionell unreifen Lunge. Es tritt fast ausschließlich bei Neugeborenen mit einem Gestationsalter <35 SSW (<2000 g Geburtsgewicht) auf [146].

Die Bemühungen um eine bessere Versorgung von Frühgeborenen haben zu einem drastischen Rückgang der neonatalen Sterblichkeit (1. bis 28. Lebenstag) geführt. Die Neonatalsterblichkeit ist in Deutschland seit 1970 um etwa 85 % zurückgegangen und hatte bis in die 1990er Jahre den größten Einfluß auf den Rückgang der Säuglingssterblichkeit in Deutschland (Abbildung 1).

Abb. 1 Säuglings- (o) und Neonatalsterblichkeit (●) in Deutschland (vor 1990: alte Bundesländer). Quelle: Statistisches Bundesamt, Wiesbaden.



Die Neonatalsterblichkeit wird zunehmend von der Sterblichkeit extrem untergewichtiger Frühgeborener (ELBW; <1000 g) bestimmt. Einerseits steigt die Zahl extrem untergewichtiger Frühgeborener (Abbildung 2 A), andererseits ist in diesem Zeitraum die Mortalität von ELBWs weniger deutlich gesunken als dies bei Kindern mit einem höheren Geburtsgewicht der Fall war (Abbildung 2 B, Zahlenwerte). Im Jahr 1999 wies jedes dritte in der Neonatalperiode gestorbene Kind ein Geburtsgewicht <1000 g auf, 1991 waren es noch 18 % (Abbildung 2 B, Balkendiagramm). Die Sterblichkeit der Kinder mit einem Geburtsgewicht von 1000 bis 1999 g sank zwischen 1991 und 1999 von 6,5/100 auf 3,1/100 Lebendgeborene. Daß diese Entwicklung hauptsächlich auf einem Rückgang der Letalität des Atemnotsyndroms und seiner Begleitmorbidität beruht, zeigen Zahlen aus den USA und eigene Zahlen (Abbildung 3 B).

Seit Jahrzehnten sind angeborene Fehlbildungen in den USA unverändert die häufigste Ursache der Säuglingssterblichkeit (National Center for Health Statistics, Hyattsville, MD, USA). Im Jahr 1979 folgte das Atemnotsyndrom mit einer Mortalität von 156/100.000 Lebendgeburten an zweiter Stelle [48]. Heute beträgt die Mortalität des

Atemnotsyndroms in Deutschland [93] und den USA etwa 25/100.000 und ist noch die sechsthäufigste Ursache der Säuglingssterblichkeit [3] in den USA.

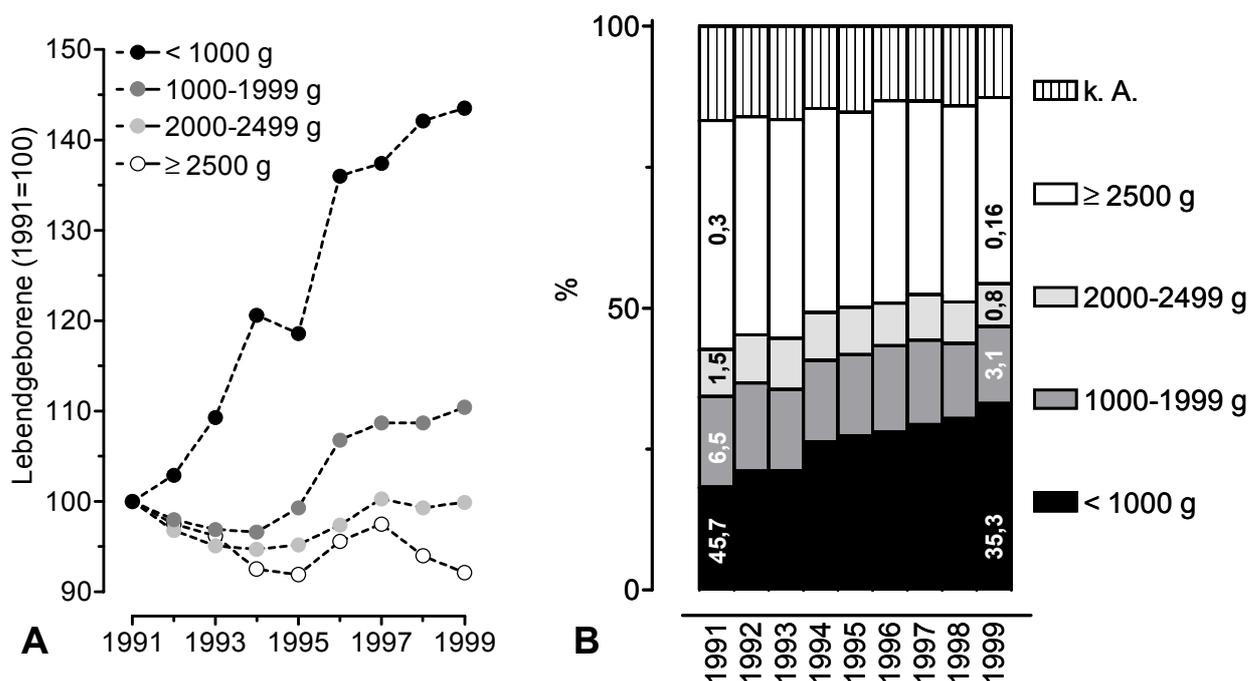


Abb. 2 A Entwicklung der Geburtsgewichte Lebendgeborener (1991=100) in Deutschland. **Abb. 2 B** Anteil der verschiedenen Gewichtsklassen an der Gesamtzahl verstorbener Kinder eines Jahres (Balken). Die Zahlen in den Balken der Jahre 1991 und 1999 geben die Mortalität innerhalb einer Gewichtsklasse (pro 100 Lebendgeborener) an. Quelle: Statistisches Bundesamt, Wiesbaden.

Diese Entwicklung hat sicherlich verschiedene Gründe:

- Betreuung von Risikoschwangeren in Perinatalzentren
- konsequente Induktion der Lungenreife mit Corticosteroiden
- Geburt von Frühgeborenen im Perinatalzentrum
- (frühzeitige) Surfactant-Therapie
- kürzere Dauer und mildere Formen der Beatmung bzw. Atemunterstützung
- postnatale Steroidtherapie (seit 1997 rückläufig; [65])

Der Anteil jeder einzelnen Maßnahme an der Senkung der Mortalität kann nur geschätzt werden. Nur für die pränatale Induktion der Lungenreife und für die Surfactant-Therapie liegen verschiedene, randomisierte und kontrollierte Studien mit starker Evidenz vor.

Die Lungenreifeinduktion senkt die Inzidenz des Atemnotsyndroms und der intra-ventrikulären Blutung, vor allem aber verringert sie die Mortalität VLBW-Frühgeborener [4;33]. Im Jahre 1996 erhielten in sechs großen Neonatologien in Deutschland 76 % der Frühgeborenen (Gestationsalter 27-32 Wochen) eine pränatale Lungenreifeinduktion [45]. Während im Jahr 1991 nur 24 % der Mütter vor Entbindung Steroide zur Lungenreifeinduktion erhielten, waren es laut einer Auswertung der Vermont Oxford Network Database im Jahr 1999 in denselben Kliniken 75 % der Mütter [65]. Die häufigere Anwendung dieser nachgewiesenen wirksamen Prophylaxe ist sicherlich eine der Ursachen der sinkenden Mortalität Frühgeborener.

Die Surfactant-Therapie von Kindern mit Atemnotsyndrom oder drohendem Atemnotsyndrom verbessert die Überlebensrate und senkt die Inzidenz des Pneumothorax [66;71;125]. Dabei ist die frühzeitige Surfactantgabe einer späteren, erst bei manifestem Atemnotsyndrom einsetzenden Surfactant-Therapie, überlegen [130].

Interessanterweise ist die Inzidenz des Atemnotsyndroms seit 1991 nahezu unverändert bei 70 % der VLBW-Frühgeborenen [65]. Eigene Daten von 1974 bis 2002 aus der Klinik für Neonatologie der Charité (seit 1998: Campus Mitte) bestätigen diese Daten (Abbildung 3 A). Offensichtlich ist der Schweregrad des Atemnotsyndroms aufgrund der besseren pränatalen Betreuung milder und die Therapie effizienter geworden. Folge der verbesserten prä- und postnatalen Betreuung ist eine drastisch verringerte Letalität des Atemnotsyndroms (Abbildung 3 B)

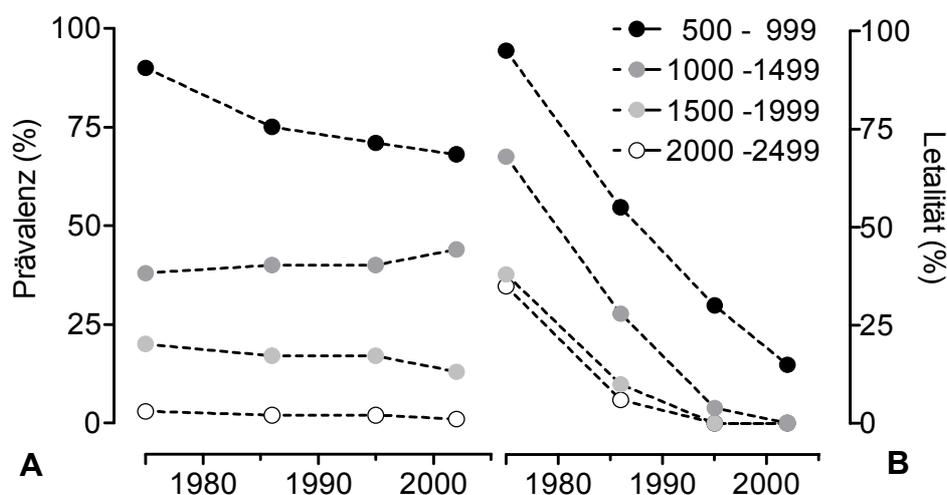


Abb. 3 Prävalenz (A) und Letalität (B) des Atemnotsyndroms Frühgeborener mit einem Geburtsgewicht zwischen 500 und 2499 g. Daten aus der Klinik für Neonatologie der Charité (seit 1998: Campus Mitte).

Obwohl das Atemnotsyndrom "nur" noch Ursache von etwa 2,3 von 100 Todesfällen im Säuglingsalter ist [93], stellen seine typischen Begleiterkrankungen und Folgezustände immer noch eine Herausforderung für die Neonatologie dar. Hierzu zählen intra- und periventrikuläre Blutung, Leukomalazien, persistierender Ductus arteriosus Botalli, Pneumothorax, pulmonales interstitielles Emphysem und die bronchopulmonale Dysplasie.

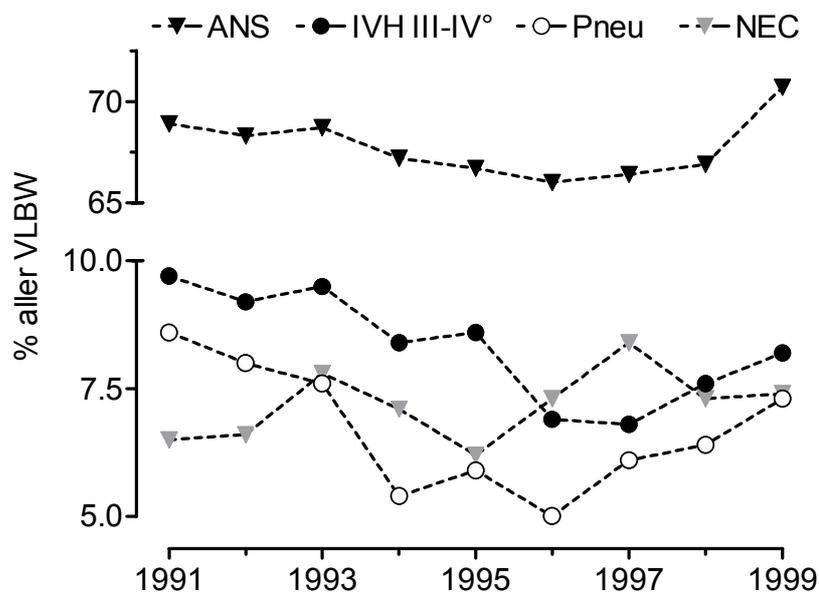
Die Bronchopulmonale Dysplasie (BPD) ist definiert als Sauerstoffabhängigkeit im Alter von 28 Tagen oder nach 36 Wochen *post conceptionem* und typische Veränderungen der Röntgen Thorax-Aufnahme. Sie entsteht als Folge einer Lungenschädigung, die multifaktorieller Genese ist. Zu den Ursachen gehören die Exposition hoher Sauerstoffkonzentration [122;123], Volutrauma, Barotrauma, Sepsis und Entzündung [6;107]. Die zunehmende Zahl von ELBW-Frühgeborenen und deren gestiegene Überlebensrate führt dazu, daß die Prävalenz der BPD immer noch hoch ist. Die Inzidenz variiert in Abhängigkeit von der untersuchten Population, den angewandten diagnostischen Kriterien und natürlich von den Behandlungsschemata [6;50;97;127]. Die BPD geht häufig mit chronischen Atemstörungen, verlängerten und wiederholten stationären Aufenthalten, Wachstumsretardierung und Tod einher [96;97]. Die pränatale Gabe von Glucocorticoiden verringert zwar die Neonatalsterblichkeit und Inzidenz des Atemnotsyndroms, aber nicht

die Inzidenz der BPD [32]. Die prophylaktische Gabe von Surfactant kann die Inzidenz der BPD möglicherweise innerhalb der Subgruppe "<30 Schwangerschaftswochen" senken [130].

Die chronischen, v.a. pulmonalen Schädigungen sind ein schwerwiegendes medizinisches Problem mit erheblichen ökonomischen Folgen [8;19]. Die Forschung konzentrierte sich seit Mitte der 1990er Jahre auf die Optimierung der Surfactant-Therapie und auf andere Therapieformen wie alternative Beatmungsformen (hochfrequente Oszillations- und Flüssigkeitsbeatmung), inhalative Applikation von NO und die postnatale (systemische oder topische) Corticosteroidmedikation [44]. Diese neuen Therapieformen haben sich allerdings wegen fehlender Evidenz oder neurotoxischer Wirkungen nicht durchsetzen können.

Trotz der Fortschritte in der geburtshilflichen und neonatalen Versorgung in den 1990er Jahren hat sich die Morbidität sehr untergewichtiger Kinder nur in der ersten Hälfte des Jahrzehntes verringert. Seit 1995 wird – zumindest im Vermont Oxford Network Database – keine weitere oder allenfalls eine minimale Verbesserung der Morbidität beobachtet (Abbildung 4; [65]).

Abb. 4 Entwicklung der Morbidität von Frühgeborenen mit einem Geburtsgewicht von 501-1500 g (VLBW). Die Daten stammen aus 39 Kliniken, welche während des gesamten Zeitraumes im Vermont-Oxford-Network erfaßt wurden (n=31219). ANS – Atemnotsyndrom, IVH – intraventrikuläre Blutung; Pneu – Pneumothorax; NEC – Nekrotisierende Enterokolitis



Die Autoren diskutieren drei mögliche Gründe dieser beunruhigenden Entwicklung:

- Möglicherweise haben wir die Grenzen des technisch Machbaren bei der Behandlung von Frühgeborenen an der Grenze der Lebensfähigkeit erreicht.
- Möglicherweise haben die zahlreichen verschiedenen Therapieansätze zu einer im Einzelfall unangemessenen Behandlung geführt, sei es als Übertherapie (mangelnde Wirksamkeit), unzureichende Therapie oder fehlerhafte Therapie schlecht ausgebildeten Personals.
- Nicht zuletzt könnte aber auch die zunehmende Einsicht, daß lebenserhaltende Maßnahmen bei extrem unreifen Neugeborenen nicht in jedem Fall sinnvoll sind, zu diesem Trend beitragen [26].

1.2 Der Arbeit zugrundeliegende klinische Probleme

Wir postulieren eine weitere Ursache der stagnierenden Entwicklung von Morbidität und Mortalität sehr untergewichtiger Neugeborener. Die in der Surfactant-Therapie eingesetzten Präparate sind organische Extrakte tierischer Lungen oder Mischungen synthetischer Phospholipide mit ausgewählten rekombinanten humanen Surfactantproteinen. Auffallend sind bei diesen Präparaten die deutlichen Unterschiede in der Konzentration der biophysikalisch wirksamen Lipide Dipalmitoyl-Phosphatidylcholin (DPPC) und Cholesterin [120]. Gemeinsames Wirkprinzip aller Präparate ist die Senkung der Oberflächenspannung, was eine ausreichende Entfaltung der Lunge und Oxygenierung der Gewebe erlaubt. Diese biophysikalischen Eigenschaften werden aber auch durch artifizielle, DPPC-arme Lipidmischungen erreicht, bei denen nicht die Ausbildung lamellarer Filmstrukturen, sondern die Fähigkeit H_{II} Strukturen zu bilden im Vordergrund stehen. Die Applikation dieser Lipidmischungen scheint ebenfalls lebenserhaltend zu sein [102]. Diese Ergebnisse relativieren die Bedeutung von DPPC, wenn es bei der Surfactant-Therapie nur darum geht, biophysikalische Eigenschaften der eingesetzten Präparate zu nutzen. Vielmehr weisen sie auch darauf hin, daß die Funktion des natürlichen Surfactant sich nicht in der Senkung der Oberflächenspannung erschöpft. Wir wissen z. B. nicht, ob, und wenn ja wie, die verschiedenen Präparate auf die Lungenentwicklung von extrem untergewichtigen Frühgeborenen wirken und ob sie an der Entwicklung einer chronischen Lungenerkrankung wie der bronchopulmonalen Dysplasie beteiligt sind. Sicher scheint nur, daß die applizierten, körperfremden Lipide und Proteine durch eine enorme Stoffwechsellistung der Typ II Zellen aus den Alveolen entfernt werden müssen und durch körpereigenes Surfactant ersetzt werden. Ob durch diese Prozesse lokaler Streß und Inflammation, verbunden mit der vermehrten Bildung reaktiver Sauerstoffspezies, induziert wird, kann aus theoretischen Überlegungen abgeleitet werden, ist aber bislang nicht untersucht.

Um zu verstehen, welche entwicklungsbedingten Stoffwechselfvorgänge die Surfactantbildung begrenzen und wie sie zu beeinflussen sind, muß man die Regulation der Surfactantbildung untersuchen. Gelänge es, diese Vorgänge zu charakterisieren und zu manipulieren, könnte die körpereigene Surfactantbildung während der foetalen und/oder neonatalen Entwicklung gezielt beeinflußt werden. Möglicherweise würde die ausreichende Versorgung unreifer Neugeborener mit körpereigenem Surfactant nicht nur das Überleben dieser Patientengruppe sichern, sondern auch die Entwicklung chronischer Lungenerkrankungen vermindern.

1.3 Surfactant-Zusammensetzung und -Funktion

Im Jahre 1959 zeigten Avery und Mead, daß die pathophysiologische Grundlage des Atemnotsyndroms der Früh- und Neugeborenen ein Mangel an Lungensurfactant ist. Surfactant ist ein lipidreiches Material, das die innere Oberfläche der Alveolen als monomolekulare Schicht ("monolayer") bedeckt. Die surfactantspezifische Hauptkomponente DPPC ist zusammen mit spezifischen Proteinen für die Senkung der Oberflächenspannung an der Luft-Wasser-Grenzschicht verantwortlich und verhindert dadurch den Kollaps der Alveolen in der Endexpirationsphase. Im letzten Drittel der foetalen Entwicklung steigt die Surfactantbildung stark an. Surfactantmenge und -qualität erreichen erst kurz vor der Geburt (beim Menschen nach ca. 34 Schwangerschaftswochen) Werte, die

eine ausreichende Anpassung der Lunge an das extrauterine Leben darstellen. Daraus erklärt sich, daß Frühgeborene häufig ein lebensbedrohliches Atemnotsyndrom entwickeln, das seine Ursache in einem durch Lungenunreife bedingten Surfactantmangel hat.

Synthese, Speicherung und Sekretion des Surfactant sind eine spezifische Leistung der Typ II Zellen, die ungefähr 15 % der schätzungsweise 40 verschiedenen Zelltypen in der Lunge ausmachen [30;51]. Da Surfactant zu ca. 90 % aus Lipiden besteht [76], ist dieser Zelltyp durch einen besonders aktiven Lipidstoffwechsel gekennzeichnet.

Mit einem Anteil von ca. 45 % (Gew./Gew.) am Gesamtlipid ist DPPC die Hauptkomponente des natürlichen Surfactant und gleichzeitig die eigentliche oberflächen-spannungssenkende Komponente.

Andere Phosphatidylcholin-Spezies machen 25-30 % des Gesamtlipids aus. Das zweithäufigste Phospholipid ist mit 8-10 % Phosphatidylglycerol, ein Phospholipid, das in den meisten Geweben eine Vorstufe der Cardiolipinsynthese darstellt und dort in wesentlich niedrigerer Konzentration gefunden wird. Die Konzentration von Phosphatidylglycerol steigt mit zunehmender Lungenreife auf Kosten der Phosphatidylinositol-Konzentration [35;54], so daß bei Mensch und Ratte ein niedriger Quotient von Phosphatidylglycerol zu Phosphatidylinositol als Zeichen der Unreife betrachtet wird [35;54]. In anderen Säugern wie Rhesusaffe, Katze und Meerschweinchen gehört Phosphatidylglycerol zu den Minor-komponenten des Surfactant [34;74;126]. Wird der Phosphatidylglycerol/Phosphatidylinositol-Quotient bei Kaninchen mittels Diät drastisch erniedrigt, bleibt die Oberflächenspannung dennoch unverändert [13;53]. Hinsichtlich der oberflächenaktiven Eigenschaften kann Phosphatidylinositol also Phosphatidylglycerol ersetzen. Gegenwärtig wird die Bedeutung von Phosphatidylglycerol für die Surfactant-Funktion nicht genügend verstanden. Weitere Minorkomponenten im reifen Organismus sind Phosphatidylethanolamin, Phosphatidylserin und die Ätherderivate des Phosphatidylcholin und Phosphatidylethanolamin (Plasmalogene). Plasmalogene werden von der Typ II Zelle synthetisiert und sezerniert [115]. Untersuchungen zeigen, daß sie für die physikochemischen Eigenschaften des Surfactant von großer Bedeutung sein könnten [111;113;139]. In neueren Modellvorstellungen geht man – stark vereinfacht - davon aus, daß bei Verringerung der inneren Oberfläche der Lunge der Surfactantmonolayer zusammengefaltet wird und in die Subphase zwischen Monolayer und Epithel abtaucht [112]. Bei Vergrößerung der inneren Oberfläche werden die zusammengefalteten Anteile des Monolayers wieder auseinandergezogen. Die in dieser Modellvorstellung erforderliche geringe Viskosität des Monolayer wird durch Lipide bewirkt, die sich in non-bilayer Strukturen (H_{II} Struktur) organisieren bzw. diese Strukturform stabilisieren. Neben den Plasmalogenen scheint auch Cholesterin dazu geeignet.

Vitamin E als ein Antioxidanz der Lunge

Plasmalogene, Cholesterin und ungesättigte Fettsäuren sind demnach funktionell wichtige Minorkomponenten, die jedoch sehr leicht oxidierbar sind. Da man annimmt, daß reaktive Sauerstoffspezies (ROS) eine wichtige Rolle bei der Pathogenese der Bronchopulmonalen Dysplasie und chronisch obstruktiver Lungenerkrankungen spielen [36;82;124], sollte lipophilen Antioxidantien eine wichtige Rolle zukommen. Vitamin E ist

das wichtigste lipophile Antioxidanz der Lunge . Oxidative Schädigungen treten dann ein, wenn das Gleichgewicht von Oxidantien und Antioxidantien in Zellen oder Geweben zu Gunsten der Oxidantien verschoben ist; man spricht dann von einem oxidativen Streß [72]. Epithel- und Endothelzellen der Lunge sowie der alveolare Surfactant sind in besonderem Maße dem Einfluß von Sauerstoff und seiner überwiegend radikalvermittelten Schädigung ausgesetzt. Nimmt man an, daß oxidative Veränderungen von Komponenten des alveolaren Surfactant an der Schädigung der Lungenfunktion beteiligt sind, scheinen die polyungesättigten Lipide des Surfactants bevorzugtes Substrat der Oxidantien zu sein.

In der Lunge wird das Redox-Potential durch Antioxidantien in verschiedenen Kompartimenten im Gleichgewicht gehalten [28;31]. Plasmalogene und ungesättigte Fettsäuren sind funktionell wichtige Minorkomponenten, die sehr leicht oxidierbar sind. Lipophilen Antioxidantien sollte deshalb eine wichtige Rolle zukommen. Vitamin E ist das wichtigste lipophile Antioxidanz der Lunge [67]; es wird überwiegend mit dem HDL des Plasmas über SRB-I-Rezeptoren von der Typ II Zelle aufgenommen [46;77] und als integraler Bestandteil des Surfactant gemeinsam mit Surfactantlipiden von der Typ II Zelle sezerniert [47;114]. Die Ergebnisse von Taylor [138] unterstreichen die Bedeutung der protektiven Wirkung von Vitamin E: sie konnten zeigen, daß Vitamin E-Supplementation Ratten vor hyperoxieinduzierter Lungenschädigung schützt.

Während der Embryonalentwicklung sinkt der Vitamin E Gehalt im Serum. Unreife und reife Neugeborene zeigen in Relation zu Erwachsenen eine deutlich verminderte Vitamin E-Konzentration im Plasma. Während bei reifen Neugeborenen in den ersten Lebensstagen eine drastische Erhöhung des Vitamin E-Gehaltes einsetzt, wird bei unreifen Neugeborenen diese Erhöhung deutlich verzögert erst nach Wochen beobachtet. Bei VLBW ist demzufolge der Surfactantmangel von einer persistierend erniedrigten Vitamin E-Konzentration im Plasma begleitet. Überlegungen zur Beeinflussung der Surfactantlipidsynthese in der Embryonalentwicklung bzw. bei unreifen Neugeborenen müssen demzufolge berücksichtigen, daß ein Mangel an Vitamin E über die Induktion eines oxidativen Streß in Typ II Zellen oder über die Wirkung des Vitamin E als Effektor verschiedener Signalsysteme in der Zelle die Surfactantlipidsynthese verringern könnte.

1.4 Regulation der *de novo* Phosphatidylcholin-Synthese

Anders als die Surfactantproteinsynthese läuft die Surfactantlipidsynthese ausschließlich in alveolaren Typ II Zellen ab. Veränderungen des Fettsäuremusters der Surfactantlipide sind deshalb Ausdruck spezieller metabolischer Leistungen dieses Zelltypes. DPPC wird *de novo* und über die Reacylierung [108] ungesättigter Lezithinspezies synthetisiert.

Biosynthese des Phosphatidylcholins *de novo*

Phosphatidsäure

Ausgangspunkt der *de novo* Synthese von Phosphatidylcholin, Phosphatidylglycerol und Phosphatidylinositol ist die Phosphatidsäure. Das Kohlenstoffgerüst der Phosphatidsäure kommt bei adulten Typ II Zellen überwiegend aus Glucose, zum geringeren Teil aus Glycerin [11]. Mims und Zee zeigten, daß Glycerin in der frühen Neonatalperiode ein wichtiges Substrat der Phosphatidylcholin-Synthese ist [91]. Gegen Ende der

Foetalzeit scheint auch Glycogen ein Substrat für die Phosphatidsäure-Synthese zu sein. Dann sinkt die Glycogen-Konzentration in den Epithelzellen der Lunge und steigt in den Lamellenkörperchen an. Der zeitliche Zusammenhang dieser Veränderungen sowie Experimente mit markiertem Glycogen, dessen Markierung in Lezithin und Phosphatidylglycerol wiedergefunden wurde, unterstreichen die Rolle des Glycogen als Substrat der Phosphatidsäure-Synthese vor der Geburt [18;39;75;147].

Prinzipiell kann das Kohlenstoffgerüst an der sn-1 Position auf zweierlei Weise acyliert werden, wobei die Bedeutung der unterschiedlichen Stoffwechselwege noch nicht

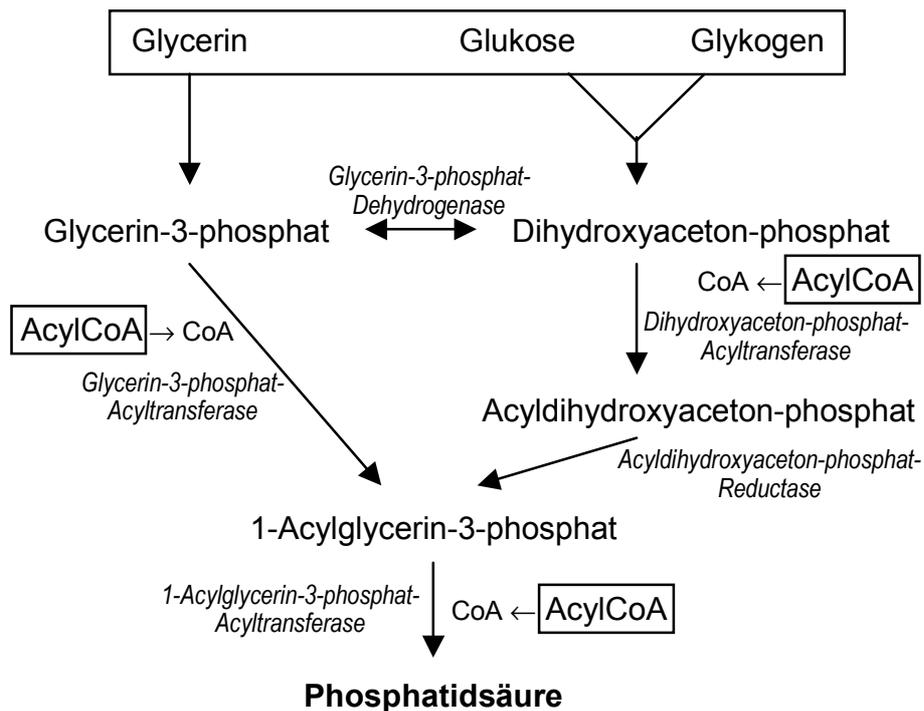


Abb. 5 Biosynthese der Phosphatidsäure in Typ II Zellen (ohne Darstellung der Cofaktoren).

genügend verstanden wird. Entweder wird zuerst Dihydroxyaceton-phosphat (DHAP) acyliert und zu 1-Acylglycerin-3-phosphat reduziert. Oder DHAP wird zuerst zu Glycerin-3-phosphat reduziert und durch die Glycerin-3-phosphat-Acyltransferase zu 1-Acylglycerin-3-phosphat acyliert. Man nahm an, daß DHAP das Substrat der Etherlipidsynthese in Peroxisomen darstellt [98], während Glycerin-3-phosphat Ausgangspunkt der Diacylglycerolipid-Biosynthese ist. Allerdings fanden James und Mitarbeiter eine reduzierte Synthese von Diacyl-Phospholipiden in Acyl-DHAP-Reduktase-defizienten CHO-Zellen [70], so daß man annehmen muß, daß beide Stoffwechselwege zumindest bei adulten Typ II Zellen von Bedeutung für die Phosphatidsäure-Synthese sind (Abbildung 5).

Annähernd 26 % der von Typ II Zellen aus Glycerin-3-phosphat synthetisierten Phosphatidsäure enthält zwei Palmitinsäurereste, was mit der hohen Konzentration von Palmitoyl-CoA in Mikrosomen und Cytosol von Typ II Zellen erklärt wird [119].

Die Phosphatidsäure wird durch Phosphatidat Phosphatase, die in der Lunge in verschiedenen Formen exprimiert wird [145], zu Diacylglycerin hydrolysiert (Abbildung 6). Cholin, das von der Typ II Zelle für die Phosphatidylcholin-Synthese benötigt wird, stammt

überwiegend aus der Nahrung [155]. Cholin wird entgegen einem Konzentrationsgradienten unter Energieverbrauch von der Typ II Zelle aufgenommen [40] und durch die Cholin Kinase phosphoryliert. Nach Aktivierung durch die CTP:Phosphocholin Cytidyltransferase kann das Phosphorylcholin (Cholinphosphat) auf das Diacylglycerin übertragen werden.

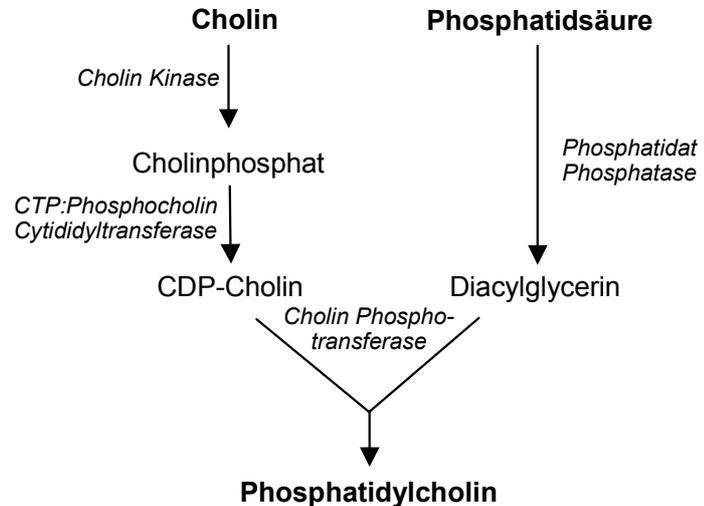


Abb. 6 *De novo* Biosynthese des Phosphatidylcholins in Typ II Zellen (ohne Darstellung der Cofaktoren). Beide Stoffwechselwege, Aktivierung des Cholins und Bereitstellung der Phosphatidsäure, sind geschwindigkeitsbestimmend.

Die Bedeutung der Fettsäuren für die Regulation der *de novo* Phosphatidylcholin-Synthese

Regulation der CTP:Phosphocholin Cytidyltransferase

Die Aktivität der Cytidyltransferase wird allgemein als der geschwindigkeitsbestimmende Schritt der *de novo* Phosphatidylcholin-Synthese angesehen (Übersicht bei [9]). Die Cytidyltransferase-Aktivität unterliegt verschiedenen Regulationsmechanismen, die vermutlich voneinander abhängen. Das Enzym liegt in einer löslichen und einer membranständigen Form vor, wobei letztere aktiv ist [73;142;144]. Fettsäuren und Diacylglycerin aktivieren die Cytidyltransferase, indem sie die Translokation des Enzyms vom Cytosol in die Membran begünstigen [142;144]. Gegen Ende der Schwangerschaft nimmt die Aktivität der Cytidyltransferase zu [156], und auch Glucocorticoide, die zur Induktion der Lungenreife angewendet werden, erhöhen die Aktivität der Cytidyltransferase [103;104]. Interessanterweise verändern Glucocorticoide dabei nicht die Expression der Cytidyltransferase [84;110]. Vielmehr stimulieren Glucocorticoide die Fettsäuresynthese in foetaler Lunge *in vivo* [109] und in foetalen Typ II Zellen [42]. Umgekehrt verhindert die Hemmung der Fettsäuresynthese den stimulierenden Effekt der Glucocorticoide auf die Cytidyltransferase [152]. Man geht heute davon aus, daß die Glucocorticoidwirkung auf die Cytidyltransferase-Aktivität ein sekundärer Effekt ist, dem eine gesteigerte Fettsäuresynthese zugrunde liegt. In isolierten foetalen Typ II Zellen geht dies mit einem Anstieg der mRNA für Fettsäure-Synthase, Acetyl-CoA Carboxylase und ATP-Citrat Lyase einher [10]. Burkhardt und Mitarbeiter konnten zeigen, daß auch exogen zugeführte Palmitinsäure die Cytidyltransferase aktiviert [22].

Glycerin-3-Phosphat Acyltransferase

Die Glycerin-3-Phosphat Acyltransferase kann unter bestimmten Bedingungen geschwindigkeitsbestimmend für die Phosphatidylcholin-Synthese sein. Haagsman und

Mitarbeiter begasten kultivierte Typ II Zellen mit Ozon und beobachteten eine verminderte Inkorporation von Cholin in Phosphatidylcholin als Ausdruck einer gestörten Phosphatidylcholin-Synthese. Cholin Kinase- und Cytidylyltransferase-Aktivität waren unbeeinträchtigt, während Ozon die Glycerin-3-Phosphat Acyltransferase hemmte. Der Zusatz von Palmitinsäure in das Kulturmedium erhöhte sowohl die Diacylglycerin-Synthese als auch die Phosphatidylcholin-Synthese, ohne die Aktivierung des Cholins zu beeinflussen [49]. Dies bestätigt frühere Untersuchungen, wonach die Bildung der Diacylglycerole eine der geschwindigkeitsbestimmenden Reaktionen der Phosphatidylcholin-Synthese in Typ II Zell-Mikrosomen ist [116-119].

Wir haben deshalb angenommen, daß die intrazelluläre Verfügbarkeit der Fettsäuren die Synthese gesättigter und ungesättigter Surfactantlipide reguliert.

Langkettige Fettsäuren

Langkettige Fettsäuren (LCFA) sind wasserunlöslich; als Voraussetzung für ihre Beteiligung an der Synthese komplexer Lipide und ihrer Verstoffwechslung müssen LCFA durch Bindung an spezifische Protein solubilisiert werden. Haq und Mitarbeiter isolierten ein Fettsäurebindendes Protein aus dem Cytosol von Rattenlunge, das die Acyl-CoA Synthetase-vermittelte Aktivierung von LCFA stimulierte [57]. Ob Fettsäurebindende Proteine bei der Surfactantlipidsynthese über ihre Funktion als Lösungsvermittler hinaus eine Rolle spielen, ist unklar.

Die Synthese der Surfactant-Phospholipide in Typ II Pneumozyten setzt die *de novo* Synthese und/oder die Aufnahme exogener Fettsäuren sowie den intrazellulären Transport der wasserunlöslichen LCFA voraus. Dabei scheinen charakteristische Unterschiede bei der Verwertung exogener und *de novo* synthetisierter Fettsäuren zwischen foetalen und adulten Typ II Zellen zu bestehen. Foetale Typ II Zellen können ihren Fettsäure-Bedarf aus der *de novo* Synthese decken, während adulte Typ II Zellen für die maximale Lezithinsynthese auf die Aufnahme exogener Fettsäuren angewiesen sind [11;22;25;85].

Transmembranärer Transport langkettiger Fettsäuren

Seit den 1990er Jahren wurde gezeigt, daß es neben der Diffusion [55;56] eine zweite, sättigbare Komponente bei der Aufnahme freier Fettsäuren gibt. Die Beteiligung von Proteinen am transmembranären Transport von LCFA wurde mehrfach gezeigt (Übersicht bei [1]).

Das am besten untersuchte membranständige Transportprotein für LCFA ist die "Fatty Acid Translocase" (FAT), die durch ihre Bindung an reaktive Ester von LCFA identifiziert wurde [59;60]. FAT ist das Homolog des humanen CD36 im Rattenfettgewebe, das erstmals 1989 aus Thrombozyten als ein Thrombospondin-bindendes Protein isoliert wurde [88;135]. FAT (im Folgenden: FAT/CD36) ist ein Glycoprotein von ca. 88 kD mit zwei transmembranären Domänen und einer extrazellulären Schleife [135].

Intrazellulärer Transport langkettiger Fettsäuren

Der intrazelluläre Transport der LCFA erfolgt in Bindung an "fatty acid binding proteins" (FABPs). Ob die Funktion verschiedener FABP-Isoformen in einem Zelltyp gleich und additiv ist, oder ob verschiedene Isoformen verschiedene Funktionen in Fettsäure-Stoffwechsel, z. B. Transport zur Veresterung in den Mikrosomen oder Transport zu den Mitochondrien für die Energiegewinnung, erfüllen, ist Gegenstand weiterer Untersuchungen.

Regulation der LCFA-Aufnahme

Die Regulation der Aufnahme von LCFA in Typ II Zellen wurde bislang nicht untersucht. Abgesehen von Menge und Muster des Angebots an LCFA mit der Nahrung sind vor allem die proteinvermittelten Schritte im Prozeß der Aufnahme der LCFA durch Zellen als regelnde Elemente anzunehmen. Mindestens drei Mechanismen zur Regulation der LCFA-Aufnahme sind denkbar:

- (a) Die Beeinflussung der Aktivität von Fettsäuretransportern,
- (b) Die Regulation der Expression von Fettsäuretransportern,
- (c) Die Translokation von Fettsäuretransportern zwischen Cytosol und Zellmembran;

Wir haben diese Möglichkeiten an humanen Thrombozyten (a) und Typ II Zellen (b, c) untersucht (s. 3.1 bis 3.3).