

Aus der Klinik für Neonatologie/CCM  
der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Effekt von *Chlamydomyces pneumoniae* auf den  
Surfactanthaushalt der Typ II Pneumozyten

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät der Charité – Universitätsmedizin  
Berlin

von

Christian Schulz

aus Potsdam

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. R.Wauer

2. Prof. Dr. med. P. Bartmann

3. Prof. Dr. med. Chr. Bühner

Datum der Promotion: 22.06.2007

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Einleitung</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Chlamydien</b>	<b>1</b>
<b>1.1.1 Was sind Chlamydien</b>	<b>1</b>
<b>1.1.2 Nomenklatorische Einordnung</b>	<b>3</b>
<b>1.1.3 Chlamydien als (human)pathogene Keime</b>	<b>3</b>
Chlamydophila pneumoniae (C. pneumoniae)	5
Chlamydia trachomatis	8
Chlamydia psittaci	8
<b>1.2 Alveolarepithel - Barriere für Pathogene und andere Partikel</b>	<b>9</b>
<b>1.2.1 Typ I und Typ II Pneumozyten</b>	<b>9</b>
<b>1.2.2 Zytoskelettale Strukturen</b>	<b>10</b>
<b>1.2.3 Alveolarmakrophagen</b>	<b>11</b>
<b>1.2.4 Funktion und Zusammensetzung des Surfactant</b>	<b>11</b>
Lipidbestandteile	13
Proteinbestandteile	13
<b>1.3 Relevanz und Ziel der Arbeit</b>	<b>16</b>
Relevanz	16
Ziel	18

<b>2. Material und Methoden</b>	<b>19</b>
<b>2.1 Material</b>	<b>19</b>
<b>2.2 Methoden</b>	<b>20</b>
<b>2.2.1 Anzucht von C. pneumoniae in HEP-2-Zellkultur</b>	<b>20</b>
Anzucht und Verarbeitung der HEP-2-Zellen	21
Infektion der HEP-2-Zellen	22
Isolierung der Elementarkörper	22
<b>2.2.2 Isolierung von Typ-II-Pneumozyten aus Rattenlungen</b>	<b>23</b>
Reagenzien für die Lungenpräparation und Zellisolierung	23
Präparation der Rattenlungen	25
Zellgewinnung aus Rattenlungen	25
Zellzählung, Vitalitäts- und Reinheitsbestimmung an isolierten Zellen aus Lungen	26
<b>2.2.3 Kultur der Typ II Pneumozyten</b>	<b>26</b>
<b>2.2.4 Inkubation der Typ-II-Pneumozyten mit C. pneumoniae</b>	<b>27</b>
<b>2.2.5 Durchführung der Surfactantlipidaufnahme- und -Resekretionsversuche</b>	<b>27</b>
Herstellung von Liposomen	27
SP-A Gewinnung	28
Proteinbestimmung	28
Aufnahmeversuche	29
Resekretionsversuche	30
<b>2.2.6 Durchführung der Surfactantsekretionsversuche</b>	<b>31</b>
<b>2.2.7 Statistik</b>	<b>31</b>
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>32</b>
<b>3.1 Wirkung der C. pneumoniae auf die Surfactantaufnahme</b>	<b>32</b>

<b>3.1.1 Anteil der Lipidaufnahme bei Typ II Zellen           durch Makrophagen</b>	<b>34</b>
<b>3.2 Prüfung des Einflusses der C. pneumoniae auf die       Lipidaufnahme im Zusammenhang mit       Zytoskelettveränderungen</b>	<b>36</b>
<b>3.3 Untersuchungen zum Einfluss der C. pneumoniae       auf den intrazellulären Transport (sogenannte „Resekretion“)       des Surfactant</b>	<b>40</b>
<b>3.4. Untersuchungen des Einflusses der C. pneumoniae auf den       intrazellulären Transport des Surfactant („Resekretion“) im       Zusammenhang mit <math>\beta</math>-Tubulin Zytoskelettveränderungen</b>	<b>44</b>
<b>3.5 Untersuchungen zum Einfluss der C. pneumoniae auf       die Surfactantsekretion und Rolle des Zytoskelett in       diesem Zusammenhang</b>	<b>46</b>
<b>4. Diskussion</b>	<b>50</b>
<b>4.1 Surfactantaufnahme und intrazellulärer Surfactanttransport</b>	<b>50</b>
<b>4.2 Surfactantsekretion</b>	<b>53</b>
<b>4.3 Möglicher Einfluss der C. pneumoniae auf           Schwankungen im Surfactanthaushalt</b>	<b>54</b>
<b>4.4 Klinische Relevanz der Ergebnisse</b>	<b>58</b>
<b>5. Zusammenfassung der Ergebnisse</b>	<b>61</b>
<b>6. Literatur</b>	<b>62</b>

## Abkürzungen

ATP	Adenosintriphosphat
RB	Reticulatory Bodies
EB	Elementary Bodies
PCR	Polymerase Chain Reaction
CAP	Community Aquired Pneumonies
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbend Assay
IgG	Immunglobulin Klasse G
IgM	Immunglobulin Klasse M
HIV	Human Immunodeficiency Virus
CIP	Chlamydien Induzierte Reaktive Arthritis
RER	Rauhes Endoplasmatisches Retikulum
SP-A	Surfactant Protein A
SP-B	Surfactant Protein B
SP-C	Surfactant Protein C
SP-D	Surfactant Protein D
PC	Phosphatidylcholin
DPPC	Dipalmitoylphosphatidylcholin
PG	Phosphatidylglycerol
PE	Phosphatidylethanolamin
PS	Phosphatidylserin
PI	Phosphatidylinositol
SM	Sphingomyelin
kDA	Kilodalton

CRD	Carbohydrate Recognition Domains
RSV	Respiratory Syncytial Virus
LPS	Lipopolysaccharid
SAPLIP	Sapoin Like Proteins
HEPES	Hydroxyethylpiperazine Ethane Sulfonic Acid
MEM	Minimum Essential Medium
DMEM	Dulbeccos Modified Eagles Medium
EGTA	Ethyleneglycol Aminoethylether Tetraacetic Acid
PBS	Phosphate Buffered Saline
KCl	Kaliumchlorid
NaCl	Natriumchlorid
MgSO <sub>4</sub>	Magnesiumsulfat
FCS	Fetal Calf Serum
Rpm	Rounds Per Minute
IFU	Inclusion Forming Units
Cpn	Chlamydia pneumoniae
CLSM	Confocal Laser Scanning Microscope
BAL	Broncho-Alveoläre Lavage
COPD	Chronic-Obstructive-Pulmonary-Disease
TNF $\alpha$	Tumornekrosefaktor $\alpha$
IL-1 $\beta$	Interleukin 1 $\beta$
TLR	Toll Like Receptors
MIP2	Macrophage Inflammatory Protein 2
NF- $\kappa$ B	Nuclear Transcription Factor kappa B

## **Lebenslauf**

Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.



## **Danksagung**

Es gilt all denen Dank zu sagen, ohne die diese Arbeit, dieses Projekt nicht möglich gewesen wäre. An erster Stelle muss Frau Dr. sc. nat. Heide Wissel genannt werden, die als immer präsenste, Orientierung gebende Chefin den Blick für das Notwendige hatte, Wege zur Lösung gezeigt hat, Methodiken vermittelt und neue Wege beschritten hat. Danke für alles!

An ihrer Seite gab es nicht minder hilfreiche Mitarbeiter, genannt seien Helge Kemmer, Ruth Hermann und Markus Braun, die mit Rat und Tat zur Seite standen, wann immer es nötig war.

Prof. Wauer sei gedankt für die Korrekturhinweise hinsichtlich Form und Inhalt der Dissertationsschrift.

Dieser Lebensabschnitt wäre nie möglich gewesen ohne die Unterstützung, das Ebnen von Wegen und das Angebot von Möglichkeiten durch meine Eltern. Nur sie haben mir ermöglicht, diesen Weg einzuschlagen, zu gehen und zum Ende zu bringen.

Nicht zuletzt soll all denen Dank gesagt werden, die in der Zeit dieser Arbeit meine Launen und Misstimmungen ertragen mussten und ertragen haben, ohne Anspruch auf Vollständigkeit:  
Claudio, Danila, David, Jarmila, Philip, René, Stefan, Tilly.

## **Erklärung**

„Ich, Christian Schulz, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertationsschrift mit dem Thema: „Effekt von Chlamydophila pneumoniae auf den Surfactanthaushalt der Typ II Pneumozyten“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.“

22.06.2007

Christian Schulz