

### **3. Ergebnisse**

Die Untersuchung zur Beeinflussung von Surfactantwiederaufnahme, Surfactantsekretion und Surfactantsekretion mit und ohne SP-A erfolgte an mit und ohne *C. pneumoniae* inkubierten Typ II Zellen. Zur Prüfung des Einflusses von Veränderungen des Zytoskeletts wurden Typ II Zellen vor der Inkubation mit *C. pneumoniae* mit zytoskelett-stabilisierenden Substanzen Paclitaxel und Phalloidin, wie im Kapitel Material und Methoden beschrieben, inkubiert.

#### **3.1 Wirkung der *C. pneumoniae* auf die Surfactantaufnahme**

An für 3, 6 und 12 Stunden mit *C. pneumoniae* inkubierten Typ-II-Pneumozyten und mit MEM inkubierten Kontrollzellen wurden Surfactantaufnahmeversuche mit [<sup>3</sup>H]DPPC-markierten Liposomen durchgeführt. Die Zellen wurden für 60 min in An- bzw. Abwesenheit von SP-A bei 37 °C mit Liposomen inkubiert. Die Ergebnisse sind in Abb. 1 dargestellt.

Es zeigt sich an für 3 Stunden mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen in Anwesenheit von SP-A eine 1,9 fache ( $p = 0,0008$ ) höhere Lipidaufnahme im Vergleich zu den nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen. Nach 6 Stunden war die Lipidaufnahme 1,5 fach ( $p < 0,0001$ ) und nach 12 Stunden nur noch 1,3 fach höher ( $p = 0,0154$ ). Die Lipidaufnahme ohne SP-A war durch die *C. pneumoniae* Inkubation im Vergleich zu den nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen in keinem Fall signifikant verändert.

Abbildung 3

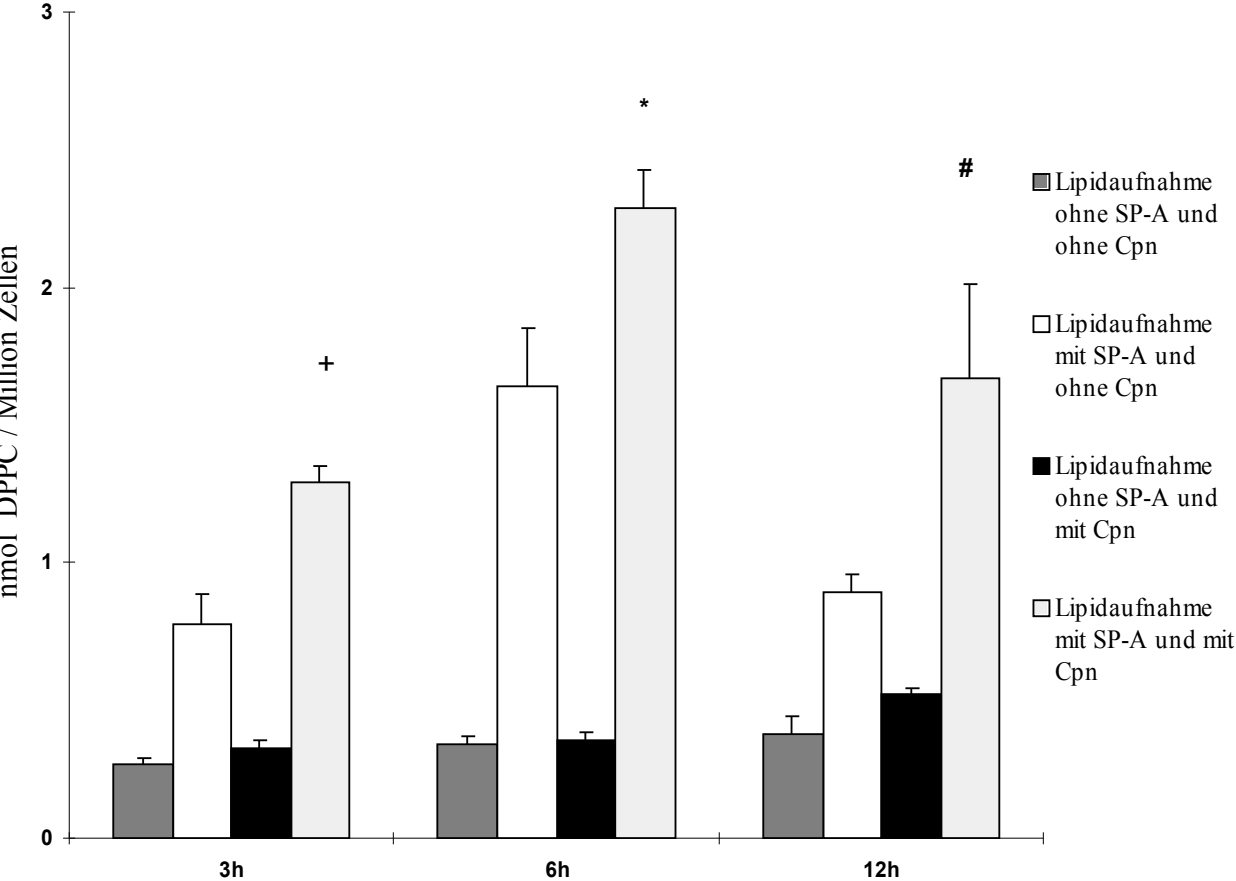


Abbildung 3

2 x 10<sup>6</sup> Typ II Pneumozyten in 1 ml MEM wurden mit 4 x 10<sup>6</sup> C. pneumoniae Elementarkörperchen für 3, 6 und 12 h bei 37 °C inkubiert. Nach Waschung mit MEM

erfolgte die Inkubation der Zellen, je Ansatz in 1 ml MEM für 1 h mit 15  $\mu$ l [ $^3$ H]DPPC-markierter Liposomen in An – und Abwesenheit von SP-A (10  $\mu$ g). Der Überstand wurde entnommen. Durch die im Kapitel 2.2.5 beschriebene Waschprozedur wurde an der Zellmembran haftendes Lipid und SP-A entfernt. An den mit Ultraschall aufgeschlossenen Zellen erfolgte die Proteinbestimmung und die Messung der Radioaktivität.

Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in nmol DPPC/ $10^6$  Zellen angegeben.

+p = 0,0008: 3 Stunden, \*p <0,0001: 6 Stunden, #p = 0,0154: 12 h mit *C. pneumoniae* inkubierte Zellen versus Zellansätze ohne *C. pneumoniae*

### **3.1.1 Anteil der Lipidaufnahme bei Typ II Zellen durch Makrophagen**

Der Tatsache geschuldet, dass in den wie oben beschrieben isolierten Typ-II-Pneumozyten ca 10% Alveolarmakrophagen enthalten sind, und diese aufgrund ihres eigenen Surfactanthaushaltes die Werte des Surfactantmetabolismus der Typ II Pneumozyten verfälschen könnten, wurden auch bei isolierten Makrophagen aus der Lavage der Lungen Lipidaufnahmeversuche durchgeführt.

$2 \times 10^6$  Alveolarmakrophagen in 1 ml MEM wurden mit oder ohne  $4 \times 10^6$  Elementarkörperchen von *C. pneumoniae* für 3 h bei 37 °C inkubiert. Nach Waschung der Zellen mit MEM erfolgte die Inkubation für 1 Stunde in Anwesenheit von 10  $\mu$ g SP-A und 15  $\mu$ l [ $^3$ H]DPPC-markierten Liposomen. Der Überstand wurde entnommen und die beschriebene Waschprozedur zur Entfernung von Lipidresten an den Zellmembranen durchgeführt. Der Aufschluss der Zellen nach dem Abschaben erfolgte mittels einer Bandeline Ultraschallsonde. Der Proteingehalt und die Radioaktivität wurden bestimmt. Die Ergebnisse für die SP-A-vermittelte Lipidaufnahme nach dreistündiger Inkubation der Zellen mit *C. pneumoniae* im Vergleich zu nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen sind in Tabelle 1 dargestellt. Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in nmol DPPC/ $10^6$  Zellen angegeben.

**Tabelle 2** Lipidaufnahme mit SP-A an mit *C. pneumoniae* infizierten bzw. nicht infizierten Makrophagen

Lipidaufnahme mit SP-A mit <i>C. pneumoniae</i>	$0,9 \pm 0,1^*$
Lipidaufnahme mit SP-A ohne <i>C. pneumoniae</i>	$0,6 \pm 0,03^*$

\*  $p < 0,05$

Von den SP-A vermittelten Lipidaufnahmewerten der Makrophagen (Tabelle 1) und den SP-A vermittelten Werten der Typ II Zellen (Abbildung 1) ausgehend, unter Berücksichtigung des zehnprozentigen Kontaminationsanteils mit Makrophagen im Typ-II-Zellansatz, ergab sich, wie rechnerisch in Tabelle 2 dargestellt, ein Anteil im Typ II Zellansatz bei *C. pneumoniae* Inkubation mit anschließender SP-A vermittelten Lipidaufnahme von 7%. Für die SP-A vermittelte Lipidaufnahme ohne *C. pneumoniae* betrug der Anteil 7,6%:

**Tabelle 3** Berechnung des Lipidaufnahmeanteil der Makrophagenim Typ II Zellansatz

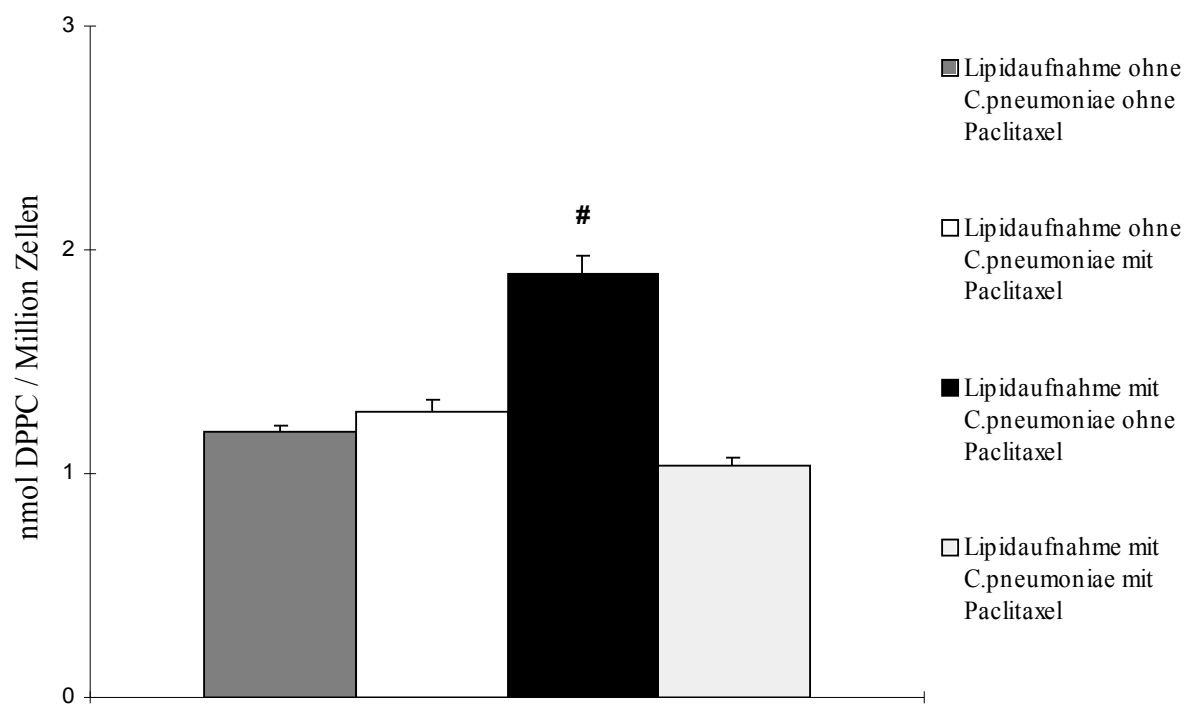
	Makrophagen / Typ II Zellen	Einfluss in %
Lipidaufnahme mit SP-A mit <i>C.pneumoniae</i>	$(0,9 \times 0,1) / (1,29 \times 1,0)$	7
Lipidaufnahme mit SP-A ohne <i>C.pneumoniae</i>	$(0,6 \times 0,1) / (0,78 \times 1,0)$	7,6

Wie in Abbildung 1 gezeigt, war der Anteil der SP-A vermittelten Lipidaufnahme am höchsten bei mit *C. pneumoniae* inkubierten Typ II Zellen. Der für diese Ansätze ermittelte Anteil der Makrophagen an der Lipidaufnahme von 7 % hat somit keinen signifikanten Einfluss auf die gezeigten Ergebnisse. Auch der Makrophagenanteil von 7,6 % im Typ II Zellansatz bei der SP-A vermittelter Lipidaufnahme ohne *C. pneumoniae* Einwirkung zeigte keine signifikanten Einflüsse auf diese Ergebnisse.

### **3.2 Prüfung des Einflusses der *C. pneumoniae* auf die Lipidaufnahme im Zusammenhang mit Zytoskelettveränderungen**

Zur Prüfung, ob die erhöhte SP-A vermittelten Lipidaufnahme nach *C. pneumoniae* Inkubation im Zusammenhang mit Veränderungen des Zytoskelett von Typ II Zellen steht, wurden Typ II Zellen in separaten Ansätzen mit Paclitaxel, einem  $\beta$ -Tubulinzytoskelett Stabilisator und mit Phalloidin, welches die Umwandlung des F- zu G-Aktin hemmt, präinkubiert. Im Anschluss daran erfolgte die *C. pneumoniae* Inkubation und danach die SP-A vermittelte Lipidaufnahme.

Abbildung 4



#### Abbildung 4

$2 \times 10^6$  Typ II Pneumozyten wurden mit  $5 \mu\text{M}$  Paclitaxel für 30 min bei  $37^\circ\text{C}$  vorinkubiert und im Anschluss für 3 h mit  $4 \times 10^6$  *C. pneumoniae* Elementarkörperchen inkubiert. Nach Waschung mit MEM erfolgte die Inkubation der Zellen, je Ansatz in 1 ml MEM für eine Stunde mit  $15 \mu\text{l}$  [ $^3\text{H}$ ]DPPC-markierter Liposomen in Anwesenheit von SP-A ( $10 \mu\text{g}$ ). Der Überstand wurde entnommen. Durch die im Methodenteil beschriebene Waschprozedur wurde an der Zellmembran haftendes Lipid und SP-A entfernt. An den mit Ultraschall aufgeschlossenen Zellen erfolgte die Proteinbestimmung und die Messung der Radioaktivität. Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in  $\text{nmol DPPC}/10^6$  Zellen angegeben.

<sup>#</sup> $p < 0,0001$  vs. Zellen ohne *C. pneumoniae* und Paclitaxel präinkubierten Zellen mit *C. pneumoniae*

Abbildung 5

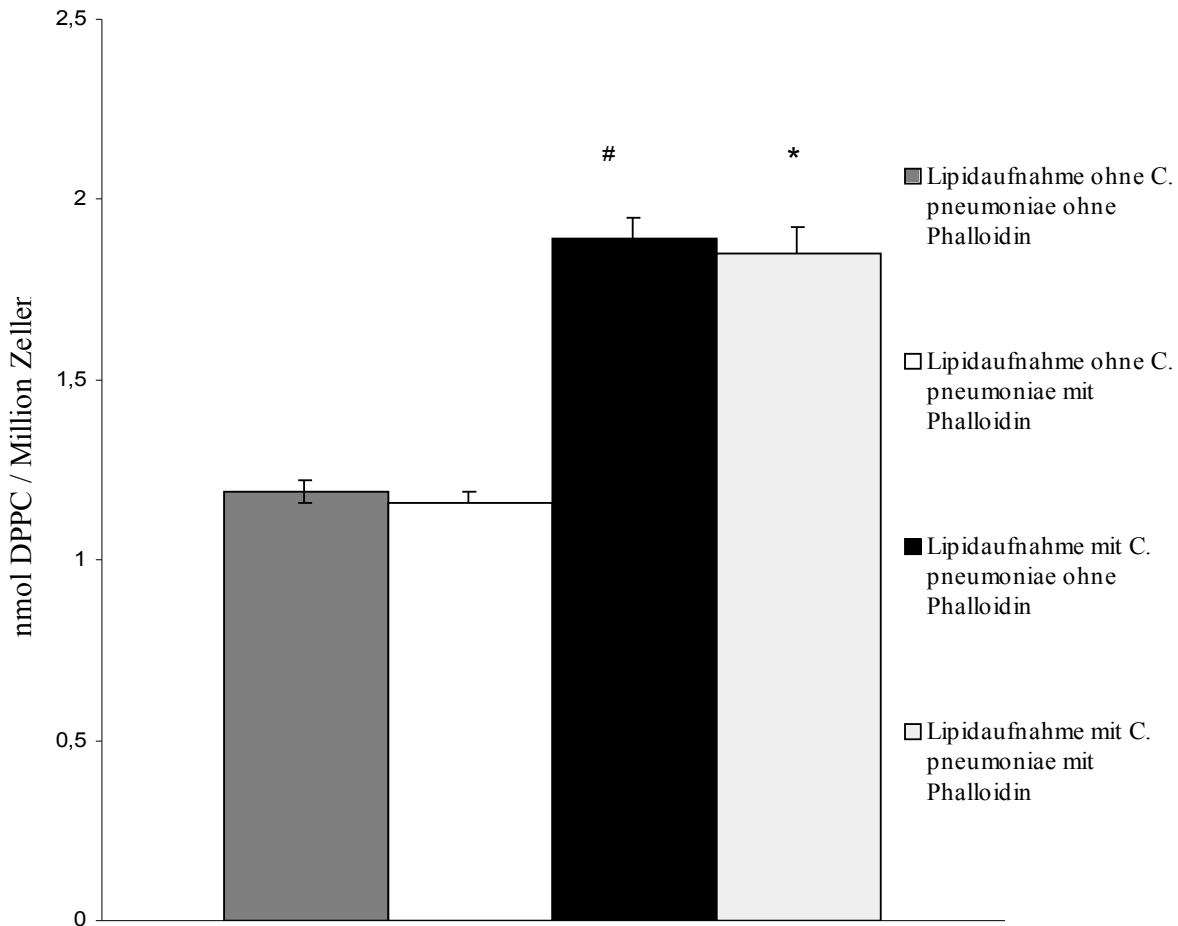


Abbildung 5

$2 \times 10^6$  Typ II Pneumozyten wurden mit  $10 \mu\text{g/ml}$  Phalloidin für 30 Minuten bei  $37^\circ\text{C}$  vorinkubiert und im Anschluss mit  $4 \times 10^6$  C. pneumoniae Elementarkörperchen für 3 h inkubiert. Nach Waschung mit MEM erfolgte die Inkubation der Zellen, je Ansatz in 1 ml MEM für eine Stunde mit  $15 \mu\text{l}$  [ $^3\text{H}$ ]DPPC-markierter Liposomen in Anwesenheit von SP-A ( $10 \mu\text{g}$ ). Der Überstand wurde entnommen. Durch die im Methodenteil beschriebene Waschprozedur wurde an der Zellmembran haftendes Lipid und SP-A entfernt. An den mit Ultraschall aufgeschlossenen Zellen erfolgte die Proteinbestimmung und die Messung der Radioaktivität.

Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in nmol DPPC/ $10^6$  Zellen angegeben.

#p < 0,0001 vs. Zellen ohne C. pneumoniae, \*p < 0,0001 vs. Zellen ohne C. pneumoniae



Den Ergebnissen (Abbildung 2) ist zu entnehmen, dass nach Behandlung mit Paclitaxel, also bei Stabilisierung des  $\beta$ -Tubulin Zytoskelett und *C. pneumoniae* Infektion, die Lipidaufnahme mit SP-A nicht signifikant von der SP-A vermittelten Lipidaufnahme ohne *C. pneumoniae* Infektion zu unterscheiden war. Im Gegensatz dazu war ohne Paclitaxel die SP-A vermittelte Lipidaufnahme in mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen signifikant höher ( $p > 0,0001$ ). Paclitaxel hemmte demnach die durch *C. pneumoniae* vermittelte erhöhte Lipidaufnahme im Beisein von SP-A.

Dagegen hatte Phalloidin (Ergebnisse, dargestellt in Abbildung 3) keinen signifikanten Einfluss auf die Lipidaufnahme. Die bei *C. pneumoniae* festgestellte signifikant höhere SP-A-vermittelte Lipidaufnahme im Vergleich zur SP-A vermittelten Lipidaufnahme ohne *C. pneumoniae* ( $p > 0,0001$ ) blieb auch in Anwesenheit von Phalloidin erhalten.

Die Ergebnisse suggerieren, dass Veränderungen des  $\beta$ -Tubulin Zytoskelett nach *C. pneumoniae* Infektion die SP-A vermittelte Lipidaufnahme beeinflussen, was auf einen veränderten intrazellulären Surfactanttransport hinweisen könnte. F-Aktin Veränderungen scheinen hierbei keine Rolle zu spielen.

### **3.3 Untersuchungen zum Einfluss der *C. pneumoniae* auf den intrazellulären Transport (sogenannte „Resekretion“) des Surfactant**

Um den Einfluss der *C. pneumoniae* auf den intrazellulären Surfactanttransport nach Lipidaufnahme mit und ohne SP-A genauer zu erkennen, wurden Resekretionsversuche durchgeführt.

Dazu wurden zuerst  $2 \times 10^6$ /ml Typ-II-Pneumozyten mit  $4 \times 10^6$  *C. pneumoniae* Elementarkörperchen bzw. ohne *C. pneumoniae* für 3 bzw. 12 Stunden inkubiert. Nach

Waschung erfolgte die Zugabe von je 150 µg [<sup>3</sup>H]DPPC markierter Liposomen mit bzw. ohne 10 µg SP-A. Zur Bestimmung der Lipidaufnahme wurde die Hälfte eines Ansatzes, wie im Kapitel 2.2.5 beschrieben, mittels Liquid-Scintillation-Counter und Proteinanalyse ausgewertet. Die Bestimmung, wieviel aufgenommenes Lipid in den Zellen verblieb bzw. in der Resekretionsphase ausgeschieden wurde, erfolgte in der anderen Hälfte des Zellansatzes nach 30 min Inkubation in MEM/0,1% BSA ohne Zugabe von SP-A und Liposomen. Auch in diesen Zellen wurde das verbliebene Surfactantlipid mittels Liquid-Scintillation-Counter und Proteinanalyse bestimmt. Die Ergebnisse sind in den Tabellen 3 und 4 dargestellt.

**Tabelle 4** Lipidaufnahme und Resekretion an für 3 Stunden mit und ohne *C. pneumoniae* inkubierten Typ-II-Pneumozyten

	- Cpn	- Cpn	+ Cpn	+ Cpn
	Aufnahme	Aufnahme/ Resekretion	Aufnahme	Aufnahme/ Resekretion
+ SP-A	0,63 ± 0,03	0,41 ± 0,03†	1,05 ± 0,11*	0,94 ± 0,03
- SP-A	0,23 ± 0,02	0,15 ± 0,01	0,44 ± 0,03	0,44 ± 0,03

Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in nmol DPPC/10<sup>6</sup> Zellen angegeben

†p = 0.0044 vs. SP-A vermittelte Lipidaufnahme in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

\*p <0.0001 vs. SP-A vermittelte Lipidaufnahme in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

In mit für 3 Stunden mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen blieb das SP-A vermittelte Lipid nach der „Resekretionsphase“ zu  $90 \pm 6$  % in den Zellen. Es wurde also nicht reseziert. Zwischen SP-A vermittelter Lipidaufnahme und Resekretion gab es keine signifikanten Unterschiede.

In nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen verblieben nur  $67,5 \pm 3,8$  % des aufgenommenen SP-A vermittelten Lipid nach der Resekretionsphase in den Zellen. Die Unterschiede zur SP-A vermittelten Aufnahme in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen waren signifikant ( $p=0.0044$ ). Sowohl in An- als auch in Abwesenheit von *C. pneumoniae* zeigten sich ohne SP-A keine signifikanten Unterschiede zwischen Lipidaufnahme und Resekretion.

**Tabelle 5** Lipidaufnahme und Resekretion an für 12 Stunden mit oder ohne *C. pneumoniae* inkubierten Typ-II-Pneumozyten

	- Cpn Aufnahme	- Cpn Aufnahme / Resekretion	+ Cpn Aufnahme	+ Cpn Aufnahme / Resekretion
+ SP-A	0,99	0,69	1,53	1,45
	$\pm 0,02$	$\pm 0,02 \dagger$	$\pm 0,07^*$	$\pm 0,04$
- SP-A	0,49	0,39	0,59	0,50
	$\pm 0,02$	$\pm 0,02$	$\pm 0,05$	$\pm 0,02$

Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in nmol DPPC/ $10^6$  Zellen angegeben.

$\dagger p < 0.0001$  vs. Lipidaufnahme in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

$*p < 0.0001$  vs. Lipidaufnahme in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

In für 12 Stunden mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen verblieb in Anwesenheit von SP-A ein Anteil von  $96\pm 2\%$  des aufgenommenen Lipids in den Zellen. Zwischen Aufnahme und Resekretion waren die Ergebnisse nicht signifikant zu unterscheiden.

In Zellen ohne *C. pneumoniae* Inkubation verblieb ein Anteil von  $73\pm 2\%$  des aufgenommenen SP-A vermittelten Lipid intrazellulär. Zwischen Aufnahme und Resekretion waren die Ergebnisse signifikant unterscheidbar ( $p < 0.0001$ ).

Auch nach 12 Stunden Inkubation zeigten sich bei der Lipidaufnahme ohne SP-A sowohl in An- als auch in Abwesenheit von *C. pneumoniae* keine signifikanten Unterschiede zur Resekretion.

Sowohl nach drei als auch nach 12 Stunden *C. pneumoniae* Inkubation waren nach SP-A vermittelter Lipidaufnahme signifikant höhere Lipidaufnahmewerte im Vergleich zu SP-A vermittelter Lipidaufnahmen ohne *C. pneumoniae* ( $p < 0.0001$ ) erkennbar. Ähnliche Ergebnisse erhielten wir bereits bei den Lipidaufnahmeversuchen in Kapitel 3.1.

Den Ergebnissen der Resekretionsversuche nach Infektion der Typ II Zellen ist zu entnehmen, dass es sich nicht um erhöhte Lipidaufnahme handelt, wie in Kapitel 3.1 dargestellt, sondern dass sich das aufgenommene Surfactant in den Zellen staut und nicht reseziert wird. Dadurch werden erhöhte Lipidaufnahmewerte vorgetäuscht.

#### **3.4. Untersuchungen des Einflusses der *C. pneumoniae* auf den intrazellulären Transport des Surfactant („Resekretion“) im Zusammenhang mit $\beta$ -Tubulin Zytoskelettveränderungen**

Um die Ursachen des in den Resekretionsversuchen festgestellten SP-A vermittelten Lipidstau klären zu können, wurde geprüft, ob *C. pneumoniae* den SP-A vermittelten Lipidaufnahme über Veränderungen des  $\beta$ -Tubulin Zytoskelett beeinflusst. Es erfolgten Präinkubationen der Typ II Zellen mit dem  $\beta$ -Tubulinzytoskelett Stabilisator Paclitaxel ( $5\mu\text{M}$ ) mit anschließender *C. pneumoniae* Inkubation für 3 Stunden, und darauffolgender SP-A vermittelte Lipidaufnahme für

eine Stunde. Nach Waschung wurden die Zellansätze jeweils geteilt. Im Aufnahmeansatz wurde in den Zellen der Lipid- und Proteingehalt gemessen. Die andere Hälfte des Ansatzes gelangte nur in Medium und wurde für 30 min bei 37 °C inkubiert. Auch hier wurde der Lipid- und Proteingehalt in den Zellen bestimmt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 5 dargestellt.

**Tabelle 6** SP-A vermittelte Lipidaufnahme- und Resekretion in An und Abwesenheit von Paclitaxel

	- Cpn	- Cpn	+ Cpn	+ Cpn
	Aufnahme	Aufnahme/ Resekretion	Aufnahme	Aufnahme/ Resekretion
ohne	1,08	0,70	1,45	1,33
Paclitaxel	± 0,03	± 0,06*	± 0,05	± 0,09
mit	1,14	0,78	1,0	0,74††
Paclitaxel	± 0,03	± 0,05†	± 0,03	± 0,03

Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler in nmol DPPC/10<sup>6</sup> Zellen angegeben.

\*p = 0,0019 vs. Lipidaufnahme ohne Paclitaxel in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

†p = 0,0032 vs. Lipidaufnahme mit Paclitaxel in nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

††p = 0,0241 vs. Lipidaufnahme in mit Paclitaxel und *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

In Abwesenheit von Paclitaxel verblieben nach der Resekretionsperiode 92±4% des

aufgenommenen Lipids bei mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen intrazellulär. Die Unterschiede zwischen Aufnahme und Resekretion waren hier nicht signifikant. Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit den Ergebnissen aus Kapitel 3.3.

In mit Paclitaxel präinkubierten und für 3 Stunden mit *C. pneumoniae* inkubierten Typ II Zellen wurden nach der Resekretionsperiode nur noch  $74 \pm 2,6\%$  des aufgenommenen Lipids in den Zellen nachgewiesen. Die Unterschiede im Surfactantanteil nach der Aufnahme- versus nach der Resekretionsperiode- waren signifikant verschieden ( $p = 0,0241$ ).

Es zeigt sich, dass Paclitaxel den Stau des Surfactant mindert.

Wie bereits in Kapitel 3.3 nachgewiesen, waren bei nicht infizierten Zellen zwischen SP-A vermittelten Lipidaufnahme und Resekretionsphase signifikante Unterschiede zu erkennen ( $p = 0,0019$ ). Die Einwirkung von Paclitaxel bei diesen Ansätzen veränderte die Lipidaufnahme und die Resekretion nicht. Zwischen Aufnahme und Resekretion blieben signifikante Unterschiede ( $p = 0,0032$ ). Mehr als 30% des aufgenommenen Lipids hatte die Zellen nach der Resekretionsphase verlassen.

### **3.5 Untersuchungen zum Einfluss der *C. pneumoniae* auf die Surfactantsekretion und Rolle des Zytoskelett in diesem Zusammenhang**

Mit diesen Versuchen sollte festgestellt werden, ob *C. pneumoniae* die Sekretion des Surfactant beeinflusst und ob Veränderungen des Zytoskeletts damit in Verbindung stehen. Typ II Zellen wurden für Sekretionsassays (Kapitel 2.2.6) mit Paclitaxel, einem  $\beta$ -Tubulinzytoskelett Stabilisator bzw. mit Phalloidin, welches die Umwandlung von F- zu G-Aktin hemmt, präinkubiert und danach mit bzw. ohne *C. pneumoniae* inkubiert. Die Ergebnisse sind in den Abbildungen 4 und 5 dargestellt.

Abbildung 6

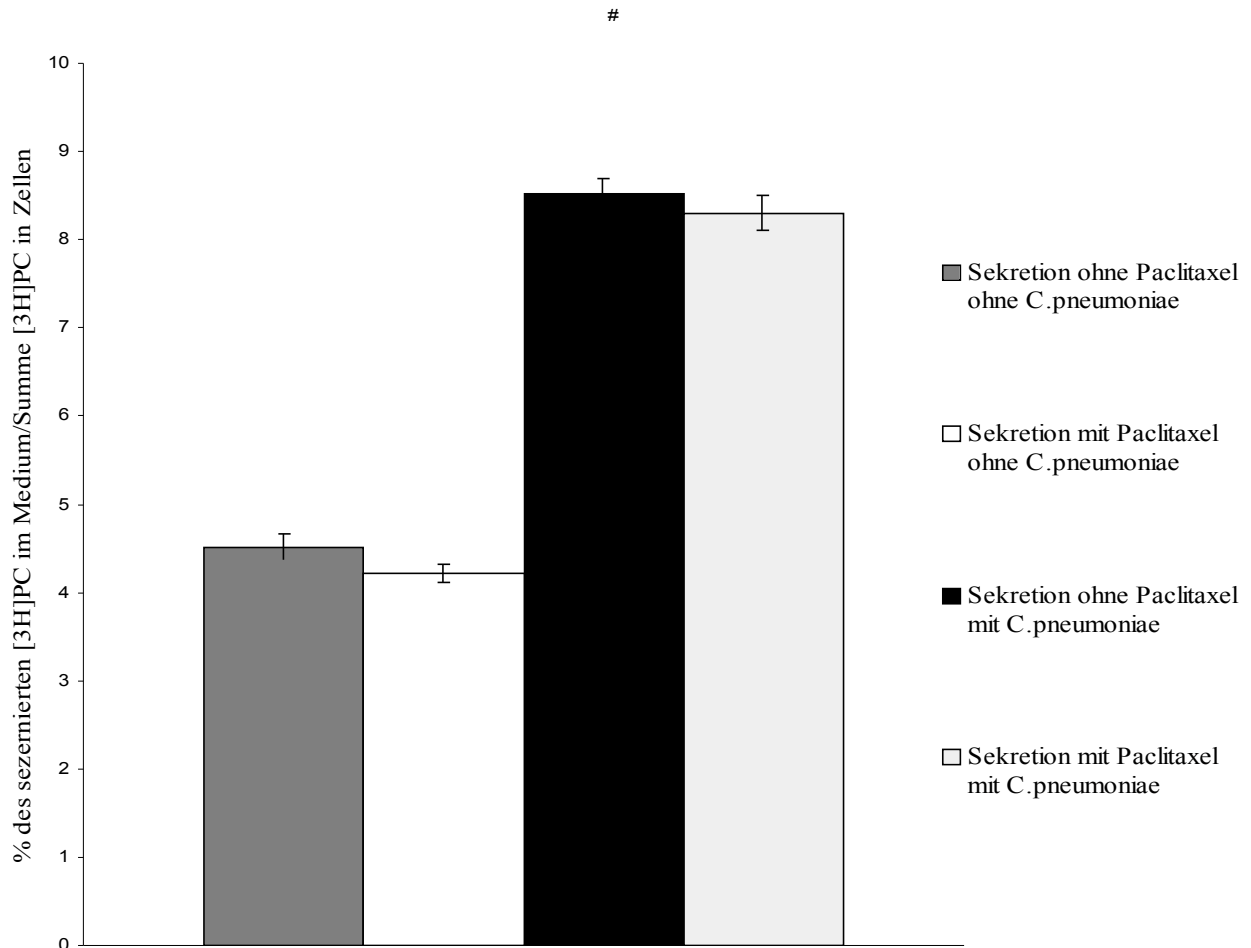


Abbildung 6

Je  $0,5 \times 10^6$  adhärenente Typ-II-Zellen wurden mit  $[^3\text{H}]\text{PC}$  für 16 h vorinkubiert, danach gewaschen und anschließend für 30 min mit und ohne  $5 \mu\text{M}$  Paclitaxel vorinkubiert. Danach erfolgte die Zugabe von *C. pneumoniae* für 3 h. Die Bestimmung der Radioaktivität im Überstand wurde getrennt von der Analyse der zellulären Bestandteile durchgeführt. Die Berechnung des sezernierten Surfactant erfolgte als % des sezernierten  $[^3\text{H}]\text{PC}$  im Überstand geteilt durch die Summe des Gehalts im Überstand und in den Zellen. Die Werte aus drei

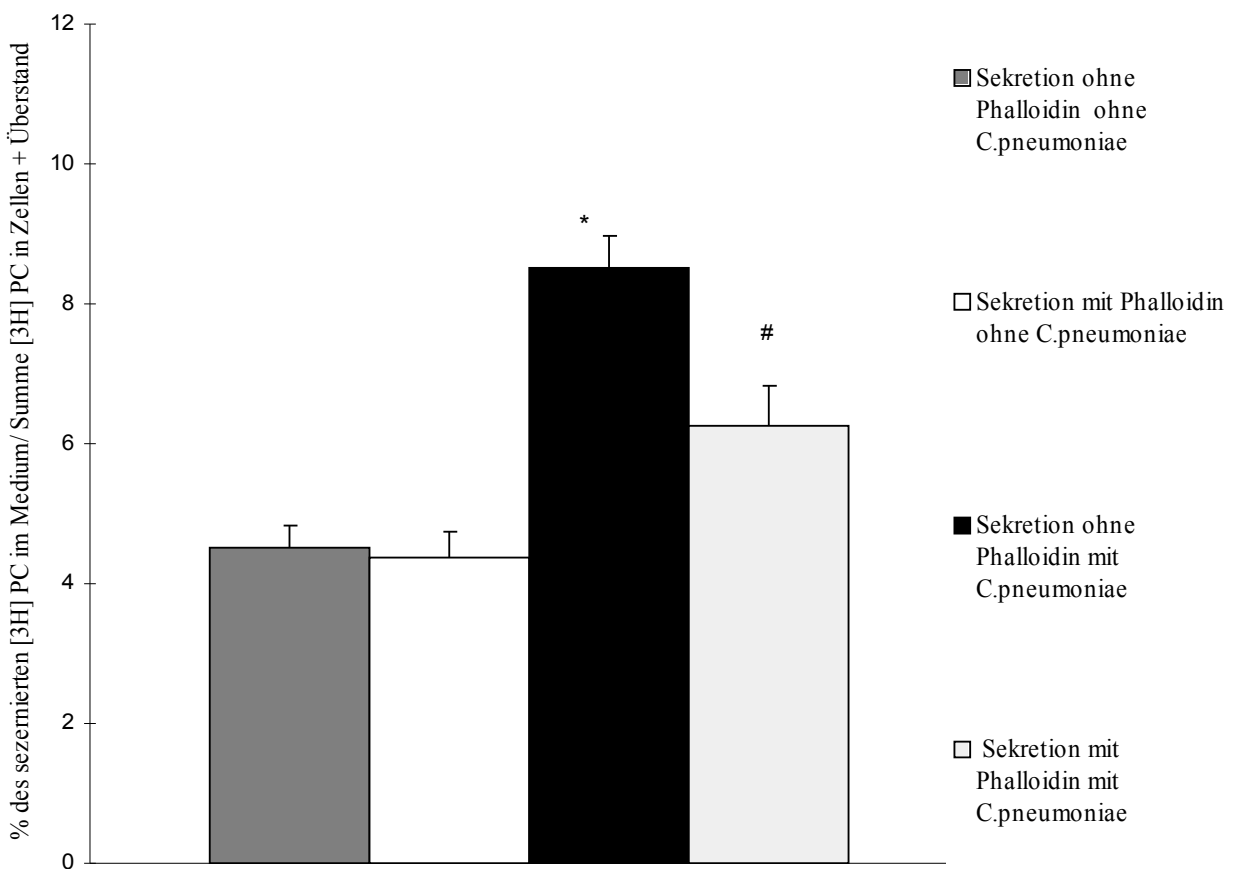


unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler als % angegeben.

#p <0,0001

Die Ergebnisse (Abbildung 4) machen deutlich, dass *C. pneumoniae* nach 3 h Inkubation die Surfactantsekretion signifikant erhöht im Vergleich zu nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen (p <0,0001). Paclitaxel hatte auf die *C. pneumoniae* stimulierte Sekretion und auf die basale Surfactantsekretion der Zellen ohne *C. pneumoniae* keinen signifikanten Einfluss.

**Abbildung 7**



**Abbildung 7**

Je  $0,5 \times 10^6$  adhärenzte Typ-II-Zellen wurden mit [ $^3\text{H}$ ]PC für 16 h vorinkubiert, danach gewaschen und anschließend für 30 min mit bzw. ohne 10  $\mu\text{g/ml}$  Phalloidin bei 37 °C vorinkubiert. Danach erfolgte die Zugabe von *C. pneumoniae* für 3 h bei 37 °C. Die Bestimmung der Radioaktivität im Überstand wurde getrennt von der Analyse der zellulären Bestandteile durchgeführt. Die Berechnung des sezernierten Surfactant erfolgte als % des sezernierten [ $^3\text{H}$ ]PC im Überstand geteilt durch die Summe des Gehalts im

Überstand und in den Zellen. Die Werte aus drei unabhängigen Experimenten sind als Mittelwerte mit Standardfehler als % angegeben.

\* $p < 0,0001$  versus nicht mit *C. pneumoniae* inkubierte Zellen

# $p < 0,0001$  versus nicht mit Phalloidin, jedoch mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen

Diese Ergebnisse (Abbildung 5) verdeutlichen, dass Phalloidin die *C. pneumoniae* vermittelte stimulierte Surfactantsekretion signifikant hemmt ( $p < 0,0001$ ). Bei nicht mit *C. pneumoniae* inkubierten Zellen waren keine Phalloidineffekte bei der Sekretion nachweisbar.

Diesen Ergebnissen ist zu entnehmen, dass die *C. pneumoniae* vermittelte stimulierte Surfactantsekretion aus Veränderungen des Aktinzytoskelett hervorgeht.