

Matthias Greulich

Dr. med.

Einfluss von pulmonalem Surfactant auf den Ionentransport am Alveolarepithel in Hypoxie und Normoxie

Promotionsfach: Sport- und Leistungsmedizin

Doktorvater: Prof. Dr. phil. Heimo Mairbäurl

Pulmonaler Surfactant ist eine komplexe Struktur bestehend aus Phospholipiden, neutralen Lipiden und Proteinen, welche der apikalen Plasmamembran der Alveolarepithelzellen der Lunge direkt aufliegt. Diese Zellen erzeugen durch aktiven Ionentransport über die alveolare Barriere einen osmotischen Gradienten, der entscheidend für die Resorption von Wasser aus der Alveole ist. Das alveolare Epithel ist nach der Geburt normalerweise einem Sauerstoffpartialdruck von 100mmHg ausgesetzt, aber alveolare Hypoxie entsteht bei vielen physiologischen und pathologischen Verhältnissen wie bei Entzündungsreaktionen, pulmonalem Ödem oder Höhengaufenthalt. Hierbei kommt es zu einer Hemmung des epithelialen Natriumtransports und somit zur Hemmung der Flüssigkeitsresorption und zur Ödembildung.

Ziel dieser Arbeit war es, Zusammenhänge zwischen Surfactant und dem Ionentransport am Alveolarepithel sowie den Einfluss von Hypoxie auf dieses System und auf die Surfactantproteinexpression zu untersuchen. Es sollte die Frage beantwortet werden, ob eine funktionelle Beeinflussung des Ionentransports und damit der Flüssigkeitsresorption aus der Alveole durch Surfactant besteht.

Hierfür wurde untersucht, ob die synthetischen Surfactantpräparate Curosurf und Survanta, die der Zusammensetzung und den physikalischen Eigenschaften von pulmonalem Surfactant ähneln, Einfluss auf die Kurzschlussströme und somit auf den Ionentransport an isolierten und im air-liquid Interface kultivierten Alveolarepithel TypII

Zellen der Ratte unter Normoxie als auch Hypoxie nehmen.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass es nach kurzzeitiger Behandlung mit den Surfactantpräparaten Survanta (n=91) und Curosurf (n=121) von einer Stunde zunächst zu einer Verminderung des Ionentransports kommt (für Survanta ISC_{tot} -13%, $p=0,06$, für Curosurf ISC_{tot} -19%, $p<0,05$). Nach 24-stündiger Behandlung wird der Ionentransport jedoch signifikant bei Verwendung von Curosurf um bis zu 25% gesteigert ($p<0,05$), wobei dieser Effekt den Amilorid-sensitiven und -insensitiven Anteil des Natriumtransports betrifft (für Curosurf $ISC_{\Delta amil}$ nach 1h -25%, $p<0,05$; nach 24h bis +35%, $p<0,05$).

Auch unter Hypoxie ließ sich diese zeitabhängige Beeinflussung des Ionentransports nachweisen, wobei die längerfristige Steigerung des Ionentransports nach 24stündiger Behandlung mit Surfactant unter Hypoxie sogar signifikant höher lag als in Normoxie. Wir fanden, dass im air-liquid Interface kultivierte Zellen keine Hemmung des Ionentransports durch Hypoxie auftritt. Auch auf Genexpressionsebene kam es unter Hypoxie in diesen Zellen nicht zu einem Anstieg der Expression des Hypoxie-induzierten Enzyms GAPDH. Dies trägt dazu bei frühere in vitro Untersuchungen zu Hypoxie-Effekten in isolierten Alveolarepithelzellen kritisch zu werten.

Unsere Ergebnisse zeigen, dass die Surfactantapplikation zeitabhängig den Ionentransport an Alveolarepithelzellen sowohl in Normoxie als auch in Hypoxie beeinflusst. Ferner lassen sie vermuten, dass dieser Effekt primär auf der Wirkung der Phospholipide in den Surfactantzubereitungen beruht. Zu diskutieren bleibt, ob es sich hierbei um eine direkte Interaktion mit dem ENaC-Kanal handelt, ob Veränderungen in der Fluidität der Plasmamembran eine Rolle spielen oder ob die Ursache der gemessenen Effekte in der Aktivierung intrazellulärer second-messenger Systeme oder der Genexpression liegt.

Ein Effekt der Surfactantbehandlung ließ sich jedoch nur für die Gabe von Surfactant auf die apikale Plasmamembran von im air-liquid Interface kultivierten Zellen nachweisen. Bei direkter Zugabe von Surfactant in das wässrige Ussing Kammer Medium konnte keine Beeinflussung der Kurzschlussströme gemessen werden. Letzteres

Versuchsmodell entspricht in vivo am ehesten einem ausgeprägten Lungenödem.

Im nächsten Schritt wurde untersucht, ob Hypoxie Auswirkungen auf die Genexpression von Surfactantproteinen in Alveolarepithel TypII Zellen der Ratte hat. Unsere Ergebnisse zeigen, dass Hypoxie-exponierte ATII Zellen eine signifikante Erniedrigung der mRNA-Expression der Surfactantproteine SPA1, SPB sowie SPD im Vergleich zu normoxischen Zellen aufweisen. Dies lässt auf eine verminderte Surfactantproteinfunktion schließen, was bedeuten könnte, dass der Surfactantfilm in Hypoxie in seinen biophysikalischen Funktionen deutlich eingeschränkt wird.