

Zentrum für Experimentelle Medizin
Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie II: Molekulare Zellbiologie
Universitäts-Klinikum Eppendorf
Prof. Dr. rer. physiol. Dr. h. c. Ulrike Beisiegel

**α -Tocopherol- und Fettsäurespiegel in verschiedenen Geweben von
SR-BI knock-out- und Wildtyp-Mäusen**

DISSERTATION

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg vorgelegt von

Gunda Seligmann

aus Hamburg

Hamburg, 2005

Inhalt

1.	Fragestellung dieser Arbeit	1
2.	Einleitung	2
2.1.	<u>Lipoproteinmetabolismus</u>	2
2.2.	<u>Metabolismus der lipophilen Vitamine und Fettsäuren</u>	7
2.2.1.	Tocopherole	7
2.2.2.	Fettsäuren	8
2.3.	<u>HDL-Rezeptoren</u>	10
2.3.1.	Scavenger Receptor class B, type I (SR-BI)	13
2.4.	<u>SR-BI ko-Mäuse</u>	18
3.	Material und Methoden	20
3.1.	<u>Immunologische Methoden</u>	20
3.1.1.	Immunhistologie	20
3.1.2.	Membran-Präparation	22
3.1.3.	SDS-Lowry	23
3.1.4.	Western-Blot	24
3.2.	<u>Gewinnung der Gewebe-, Plasma- und Gallenflüssigkeitsproben</u>	28
3.3.	<u>α-Tocopherol-Bestimmung</u>	29
3.3.1.	α -Tocopherol-Bestimmung aus Gewebeproben	31
3.3.2.	α -Tocopherol-Bestimmung aus Plasma	31
3.3.3.	α -Tocopherol-Bestimmung aus Gallenflüssigkeit	32
3.4.	<u>Fettsäure-Analyse</u>	32
3.4.1.	Fettsäure-Analyse aus Gewebeproben	33
3.4.2.	Fettsäure-Analyse aus Plasma	34
3.4.3.	Fettsäure-Analyse aus Gallenflüssigkeit	34
3.5.	<u>Enzymatische Plasmacholesterin-Bestimmung</u>	34
3.6.	<u>Enzymatische Plasma-Triglycerid-Bestimmung</u>	35

4.	Ergebnisse	37
4.1.	<u>Etablieren der Methoden für die Messung von α-Tocopherol und Fettsäuren aus Gewebe</u>	37
4.1.1.	Suspendieren der Gewebeproben	37
4.1.2.	Methode der α -Tocopherol-Bestimmung	38
4.1.3.	Methode der Fettsäure-Analyse	40
4.2.	<u>Ergebnisse der Cholesterin- und Triglycerid-Messungen im Plasma</u>	41
4.3.	<u>Immunologischer Nachweis von SR-BI im Gewebe</u>	43
4.3.1.	Western Blot	43
4.3.2.	Immunhistologische Darstellung	45
4.4.	<u>Ergebnisse der α-Tocopherol-Messungen</u>	49
4.4.1.	Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen im Plasma, in der Gallenflüssigkeit, in der Leber und im Hirn	49
4.4.2.	Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen in den Hoden, den Nebenhoden und in den Nebennieren	51
4.4.3.	Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen in der Lunge, den Nieren, der Milz und im weißen Fettgewebe	52
4.4.4.	Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen in der Skelettmuskulatur, dem Herzmuskel und der Wand des Magens und des Dünndarmes	53
4.4.5.	Zusammenfassende Erläuterung der Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen aller untersuchten Gewebearten	54
4.5.	<u>Ergebnisse der Fettsäure-Messungen</u>	55
4.5.1.	Ergebnisse der Fettsäure-Messungen im Plasma, in der Gallenflüssigkeit, in der Leber und im Hirn	55
4.5.2.	Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in den Hoden, den Nebenhoden und in den Nebennieren	61
4.5.3.	Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Lunge, den Nieren, der Milz und im weißen Fettgewebe	65
4.5.4.	Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Skelettmuskulatur, dem Herzmuskel und in der Wand des Magens und des Dünndarmes	68
4.5.5.	Zusammenfassende Erläuterung der Ergebnisse der Fettsäure-Messungen aller untersuchten Gewebearten	75

5. Diskussion	77
5.1. <u>Methodische Fehlerdiskussion</u>	78
5.2. <u>Die Rolle des SR-BI in Bezug auf die Gewebe-Physiologie</u>	81
5.2.1. Plasma, Gallenflüssigkeit, Leber und Hirn	81
5.2.2. Hodengewebe, Nebenhoden und Nebennieren	88
5.2.3. Lunge, Nieren, Milz und weißes Fettgewebe	94
5.2.4. Skelettmuskulatur, Herzmuskel, Wand des Magens und des Dünndarmes	99
6. Zusammenfassung	102
7. Abkürzungsverzeichnis	103
8. Anhang	104
8.1. <u>Genauigkeit der Fettsäure-Messung bei verschiedenen Einwaage-Mengen</u>	104
8.2. <u>Ergebnisse der α-Tocopherol-Messungen</u>	105
8.3. <u>Ergebnisse der Fettsäure-Messungen</u>	106
9. Literaturverzeichnis	122
10. Danksagung	129
11. Lebenslauf	130
12. Eidesstattliche Versicherung	131

1. Fragestellung dieser Arbeit

Der Scavenger Receptor class B, type I (SR-BI) ist ein membranständiger Rezeptor, der eine selektive Aufnahme von Lipiden vor allem aus HDL-Partikeln ermöglicht [M. Krieger, 1999]. Während die Rolle des SR-BI in der selektiven Cholesterin-Aufnahme, sowie im reversen Cholesterin-Transport in zahlreichen Arbeiten beschrieben wurde, ist über die Bedeutung dieses Rezeptors für die Aufnahme anderer lipophiler Substanzen noch wenig bekannt.

P. Mardones et al. haben den α -Tocopherol-Gehalt einiger Gewebe von SR-BI ko-Mäusen mit denen von wt-Tieren verglichen, und für die Lungen, die Ovarien, die Hoden und das Hirn bei SR-BI ko-Mäusen erniedrigte α -Tocopherolkonzentrationen festgestellt [P. Mardones et al., 2002].

In dieser Arbeit soll untersucht werden, ob sich ein Fehlen des SR-BI in den Gewebekonzentrationen des α -Tocopherols und verschiedener Fettsäuren bemerkbar macht. Zu diesem Zweck sollen Gewebeproben aus dreizehn Organen, sowie Proben des Plasmas und der Gallenflüssigkeit von SR-BI ko-Mäusen und wt-Tieren miteinander verglichen werden. Es sollen auch Gewebearten untersucht werden, zu denen bisher keine Angaben bezüglich der α -Tocopherolkonzentrationen gemacht wurden.

Unter Einbeziehung der in der Literatur beschriebenen Erkenntnisse werden die Ergebnisse dieser Arbeit abschließend dahingehend diskutiert, welche Rückschlüsse sie auf die Funktion des Rezeptors in den unterschiedlichen Organen ermöglichen.

2. Einleitung

Lipide, wie Triacylglyceride, Fettsäuren, Cholesterin oder fettlösliche Vitamine, spielen im Organismus bei zahlreichen Prozessen eine wichtige Rolle, weswegen es von großer Bedeutung ist, dass sie jeder Gewebeart in ausreichender Menge zur Verfügung stehen. Da sie sich als hydrophobe Substanzen weder im Blutplasma noch im wässrigen Milieu der Zellen oder der Interzellularflüssigkeit lösen können, ist eine Vielzahl von Transport-, Aufnahme- und Abgabemechanismen vonnöten, um die Versorgung aller Organe mit den verschiedenen lipophilen Molekülen zu gewährleisten. Sowohl systemisch als auch für jede einzelne Zelle muss durch viele, zum Teil noch ungeklärte Regulationsmöglichkeiten eine nahezu gleich bleibende und doch den spezifischen Bedürfnissen angepasste Konzentration der unterschiedlichen lipophilen Stoffe erreicht werden.

Eine entscheidende Aufgabe haben hierbei die Lipoproteine und deren Rezeptoren auf den Zellen. Zu diesen Rezeptoren zählt auch der Scavenger Receptor class B, type I (SR-BI), welcher im Mittelpunkt dieser Arbeit steht.

2.1. Lipoproteinmetabolismus

Lipophile und damit hydrophobe Substanzen können nicht frei im Blutplasma transportiert werden, sondern benötigen spezifische Transportvehikel. Neben Plasmaproteinen, wie unter anderem dem in der Leber synthetisierten Albumin, mit denen Fettsäuren und andere lipophile Moleküle im Blutstrom transportiert werden können, spielen die Lipoproteine eine wichtige Rolle für den Transport fettlöslicher Stoffe im Blut. Lipoproteine sind aus verschiedenen Lipiden, hauptsächlich Triacylglyceriden, Phospholipiden, Cholesterin sowie Cholesterinestern und Apolipoproteinen (Apo) zusammengesetzt. Ihr Funktionsprinzip beruht darauf, dass die Apolipoproteine und Phospholipide eine wasserlösliche Hülle bilden und dadurch die im Inneren der Lipoproteine vorhandenen Triacylglyceride und andere stark hydrophoben Moleküle umschließen.

Es sind verschiedene Lipoproteinklassen bekannt, die sich unter anderem anhand ihrer Dichte unterscheiden lassen: Chylomikronen haben eine sehr geringe Dichte. Mit zunehmender Dichte folgen die very low density lipoproteins (VLDL), die low density

lipoproteins (LDL) und die high density lipoproteins (HDL). Die unterschiedliche Dichte dieser Lipoproteinklassen ist bedingt durch den unterschiedlichen Lipidgehalt, der in der oben genannten Reihenfolge stetig abnimmt.

Außerdem enthalten die Lipoproteine verschiedene Apolipoproteine, woraus sich auch ihr unterschiedliches Verhalten in der Plasma-Elektrophorese ergibt. Während sich die Chylomikronen nicht im elektrischen Feld bewegen, wandern die HDL vorwiegend in der α - und die LDL in der β -Globulin-Fraktion, weshalb man sie auch als α -, bzw. β -Lipoproteine bezeichnet. Die VLDL wandern etwas schneller als die β -Globulin-Fraktion, man nennt sie daher Prä- β -Lipoproteine.

Von großer Bedeutung ist auch der unterschiedliche Gehalt der Lipoproteinklassen an Triacylglyceriden, Cholesterin und Phospholipiden. In der Reihenfolge VLDL, LDL, HDL nimmt der Triacylglyceridanteil ab, während sich der Phospholipidgehalt erhöht; die höchste Konzentration an Cholesterin haben die LDL [P. Schwandt et al., 2000; S.10].

In Anbetracht der Unterschiede hinsichtlich ihres Aufbaus ist naheliegend, dass den einzelnen Lipoproteinklassen verschiedene Aufgaben zukommen.

Die Chylomikronen werden in den Mucosazellen des Duodenums gebildet und enthalten hauptsächlich Triacylglyceride, die aus Fettsäuren und β -Monoacylglyceriden resynthetisiert werden, welche aus dem Darmlumen resorbiert worden sind. Neben den Triacylglyceriden enthalten die Chylomikronen nur wenig Cholesterin und Phospholipide, sowie als wichtigstes Apolipoprotein das ApoB₄₈. Die Chylomikronen werden im Golgi-Apparat synthetisiert und in Sekretgranula verpackt. Anschließend werden sie aus den Zellen in Lymphkapillaren exozytiert. Über das Lymphsystem gelangen die Chylomikronen dann in den Blutkreislauf und erreichen auf diesem Wege die verschiedenen Organe und Gewebe. Im Blut findet die Übertragung einiger Apolipoproteine (ApoC und ApoE) von HDL-Partikeln auf die Chylomikronen statt, wobei hauptsächlich das ApoCII von Bedeutung ist, da es als Cofaktor der Lipoproteinlipase eine wichtige Rolle im Stoffwechsel der Chylomikronen spielt. Die Lipoproteinlipase ist ein membrangebundenes Enzym, das vor allem auf Kapillar-Endothelzellen im Fett- und Muskelgewebe vorkommt. Es dient dazu, die Triacylglyceride in Lipoproteinen wie den Chylomikronen oder den VLDL in Glycerin und Fettsäuren aufzuspalten, so dass die Fettsäuren von den Zellen aufgenommen und

verstoffwechselt werden können. Das Glycerin gelangt über den Blutkreislauf zur Leber, wo es in die Glycolyse eingeschleust werden kann.

Auf diese Weise verlieren die Chylomikronen einen großen Teil der Triacylglyceride, wodurch die sogenannten Chylomikronen-Remnants entstehen. Diese werden mit dem Blutstrom zur Leber transportiert, wo sie von den Hepatozyten hauptsächlich über das LDL-Receptor related protein (LRP), einen Membranrezeptor, aufgenommen werden [P. Schwandt et al., 2000; S. 31].

Aus den so aufgenommenen Lipiden, und denen aus der endogenen, hepatischen Lipidsynthese, bauen die Hepatozyten ihrerseits Lipoproteine auf – die VLDL. Auch sie enthalten wie die Chylomikronen einen hohen Anteil an Triacylglyceriden, daneben Cholesterin, Cholesterinester und Phospholipide. An Apolipoproteinen enthalten die VLDL ApoCI bis III, ApoB₁₀₀ und ApoE. Von den Hepatozyten werden die Lipoproteine an das Blut abgegeben, wo sie von HDL-Partikeln zusätzliche ApoC erhalten. Wiederum spielt ApoCII die größte Rolle, da die VLDL ebenso wie die Chylomikronen mit der Lipoproteinlipase interagieren.

Indem die VLDL einen großen Teil der Fettsäuren ihrer Triacylglyceride an die extrahepatischen Gewebe abgeben, entstehen aus ihnen die sogenannten intermediate density lipoproteins – die IDL. Die IDL werden im weiteren Verlauf, hauptsächlich durch Interaktion mit der hepatischen Lipase (HL), zu LDL-Partikeln umgewandelt, indem ein weiterer Teil der Fettsäuren ihrer Triacylglyceride und Phospholipide abgespalten wird. Des Weiteren werden einige Apolipoproteine, wie die ApoC und auch ein Teil der ApoE aus den IDL entfernt, so dass die entstandenen LDL hauptsächlich ApoB enthalten. Hinsichtlich des Gehalts an den verschiedenen Lipiden unterscheiden sich die LDL deutlich von den bisher beschriebenen Lipoproteinen. Es sind nur sehr wenige Triacylglyceride und Phospholipide, dafür aber sehr viel Cholesterin und Cholesterinester enthalten [P. Schwandt et al., 2000; S. 10].

Von besonderer Bedeutung für den Stoffwechsel der LDL ist das ApoB₁₀₀, weil dieses als Ligand des LDL-Rezeptors für die Aufnahme der LDL unerlässlich ist. Der LDL-Rezeptor ist ein Membranprotein, das sich auf der Zelloberfläche vieler Gewebe befindet und spezifisch LDL-Partikel bindet und dadurch deren Rezeptor-vermittelte Endozytose einleitet. Durch Verschmelzen der endozytotischen Vesikel mit primären Lysosomen entstehen sekundäre Lysosomen, in deren saurem Milieu die LDL-Partikel abgebaut werden. Die enthaltenen Cholesterinester werden durch eine lysosomale saure

Lipase hydrolysiert und das freie Cholesterin kann nun die Lysosomen verlassen [P. Schwandt et al., 2000; S.27].

Diese durch den LDL-Rezeptor vermittelte Endozytose und der daran anschließende Verdau des LDL-Partikels sind in der Abb. 1 schematisch dargestellt.

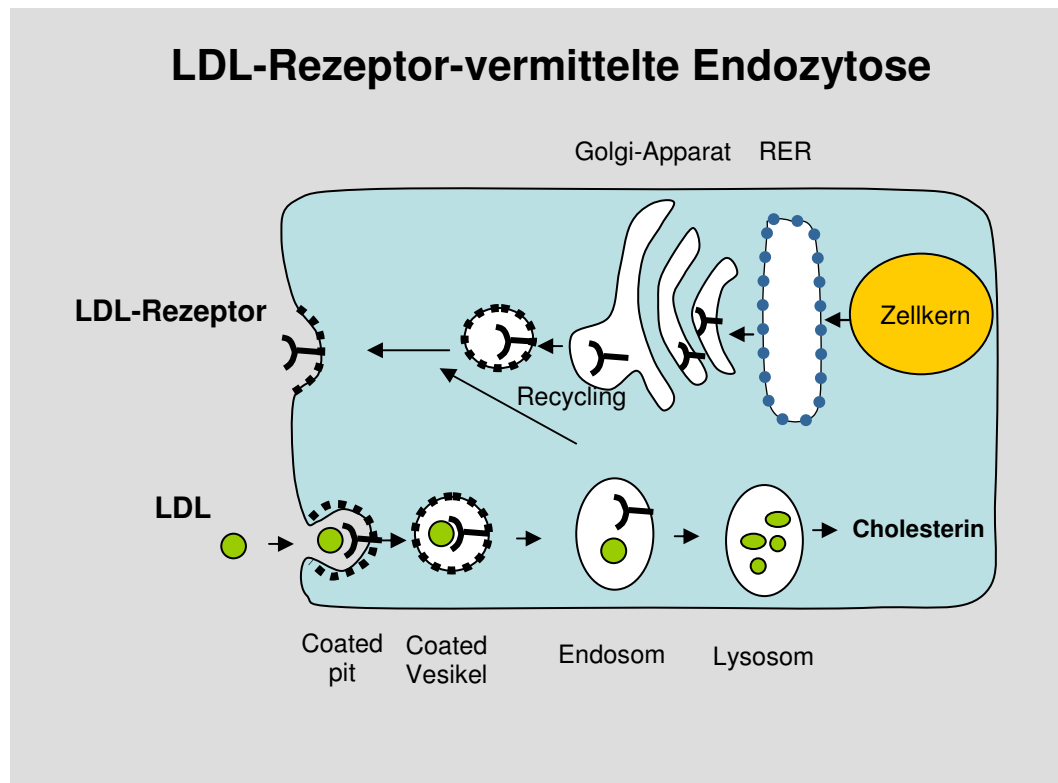


Abb.1: LDL-Rezeptor-vermittelte Endozytose Nach der Synthese des LDL-Rezeptors am rauen Endoplasmatischen Retikulum (RER) wird das Protein im Golgi-Apparat postranslationell glycosyliert. Auf der Zelloberfläche ist der LDL-Rezeptor in besonderen Bereichen der Zellmembran lokalisiert, den sogenannten „coated pits“. Coated pits zeichnen sich dadurch aus, dass an die cytosolische Seite der Plasmamembran ein Protein – das Clathrin – angelagert ist, welches die Fähigkeit hat, eine dichte Hülle um membranöse Vesikel auszubilden.

Initiiert durch die Bindung eines LDL-Partikels an den Rezeptor, bei der besonders das ApoB₁₀₀ von Bedeutung ist, erfolgt die Endozytose des Rezeptor-Lipoprotein-Komplexes. So entsteht ein endozytotisches Vesikel, in dessen Innerem ein in Relation zum Cytoplasma saureres Milieu herrscht, wodurch sich die Bindung zwischen LDL und Rezeptor wieder löst. Der LDL-Rezeptor kann anschließend wieder in die Plasmamembran zurücktransportiert und somit „recycled“ werden.

Das Endosom mit dem in ihm enthaltenen LDL-Partikel verschmilzt mit im Cytoplasma vorhandenen Lysosomen. In dem dadurch entstandenen sekundären Lysosom werden alle Bestandteile des LDL durch saure Hydrolasen gespalten, die Proteine werden abgebaut und die Lipide können dem Metabolismus der Zelle zugeführt werden. [Angelehnt an eine Abbildung von M. Krieger, 1999: Annual Reviews of Biochemistry, Vol. 68: 523-558]

Die Gruppe der HDL-Partikel ist weniger einheitlich als es bei den übrigen Lipoproteinen der Fall ist. Man unterscheidet drei Sub-Klassen: Synthetisiert werden die HDL als discoidale Partikel in der Leber und im Intestinum [M. Krieger, 1999]. Diese Partikel enthalten lediglich Phospholipide und ApoAI und erscheinen nur vorübergehend im Blutstrom. Die anderen HDL-Partikel sind spätere Erscheinungsformen, die aus den anfangs gebildeten discoidalen HDL hervorgehen.

Im Plasma kommen in geringer Konzentration kleine, Lipid-arme HDL-Partikel vor, die ebenfalls Phospholipide und ApoAI enthalten [A. Rigotti et al., 2003]. Die größte Plasmakonzentration haben jedoch die sogenannten α -HDL, die einen großen Lipid-Kern und in ihrer Hülle neben ApoAI noch weitere Apolipoproteine enthalten, darunter ApoAII und IV, ApoC, ApoD und ApoE. α -HDL sind sphärisch und durch ihren hohen Lipidgehalt im Vergleich zu den anderen HDL-Partikeln relativ groß. Sie werden je nach dem, ob sie ApoAII enthalten, nochmals in zwei Sub-Populationen unterteilt: Lipoprotein (Lp)A-I HDL enthalten lediglich ApoAI, während Lp A-I:A-II HDL sowohl ApoAI als auch ApoAII enthalten [A. Rigotti et al., 2003]. Der Gehalt an bestimmten Lipoproteinen ist wichtig für die Interaktion der HDL-Partikel mit den Oberflächenproteinen von Zellmembranen.

Wie auch bei den zuvor beschriebenen Lipoproteinen besteht die Aufgabe von HDL unter anderem im Transport lipophiler Substanzen in die verschiedenen Gewebe. Der Mechanismus der Lipid-Abgabe an das Gewebe unterscheidet sich bei den HDL-Partikeln jedoch grundlegend von dem der LDL. Statt einer Rezeptor-vermittelten Endozytose und anschließendem lysosomalen Verdau des gesamten Lipoproteins, wie es für die LDL beschrieben wurde, resultiert aus der Bindung der HDL an die Zelloberfläche eine selektive Aufnahme von Lipiden in die Zelle [S. Acton et al., 1996]. Diese "selektive Lipidaufnahme" zeichnet sich dadurch aus, dass sich das HDL-Partikel, nachdem die Lipide auf die Zelle übergegangen sind, wieder von der Zellmembran löst. Die Gruppe von X. Gu [X. Gu et al., 1998] und andere [M. A. Connelly et al., 2003; A. Rigotti et al., 2003] zeigten, dass dieser selektive Lipid-Transfer besonders für den Cholesterintransport zu Steroid-produzierenden Organen von großer Bedeutung ist.

Im Gegensatz zu anderen Lipoproteinen sind die HDL jedoch nicht nur dazu befähigt, Lipide von der Leber in die peripheren Gewebe und Organe zu transportieren. Vielmehr spielen die HDL zusätzlich eine entscheidende Rolle im sogenannten „reversen Cholesterin-Transport“, einem Prozess, der es den Zellen extrahepatischer Gewebe

ermöglicht, überzähliges Cholesterin wieder abzugeben. Die HDL haben dabei die Aufgabe, als Akzeptor für das abgegebene Cholesterin aus den peripheren Geweben zu dienen und dieses entweder an andere Lipoproteine weiterzugeben, oder es zur Leber zu transportieren, wo es über die Galle ausgeschieden werden kann [A. Rigotti et al., 1997; X. Gu et al., 2000]. Dem reversen Cholesterin-Transport kommt eine große regulatorische Bedeutung zu, da die Sekretion von Gallensäuren, Cholesterin und Cholesterinestern in die Gallenflüssigkeit die einzige Möglichkeit des Organismus darstellt, überschüssiges Cholesterin aus dem Körper zu eliminieren.

2.2. Metabolismus der lipophilen Vitamine und Fettsäuren

Im Organismus spielen eine Vielzahl unterschiedlicher lipophiler Moleküle eine wichtige Rolle in zahlreichen hochspezifischen Stoffwechsel-Prozessen. In dieser Arbeit wird jedoch nur auf eine kleine Auswahl der verschiedenen Lipide eingegangen. Es werden zunächst die Tocopherole dargestellt, die der Gruppe der lipophilen Vitamine angehören und anschließend die unterschiedlichen Fettsäure-Klassen und deren Metabolismus erläutert.

2.2.1. Tocopherole

Die Tocopherole und Tocotrienole werden unter dem Begriff des Vitamin E zusammengefasst. Unter ihnen hat das α -Tocopherol die größte physiologische Bedeutung, da es von allen Tocopherolen in der höchsten Konzentration in Gewebe und Plasma vorhanden ist und die größte biologische Aktivität besitzt [P. Masrdones et al., 2002].

α -Tocopherol ist das wichtigste lipophile Antioxidanz; seine Funktion besteht darin, durch oxidativen Stress bedingte Schäden an Lipiden, wie beispielsweise den mehrfach ungesättigten Fettsäuren der Membranphospholipide, zu vermeiden.

In verschiedenen Pflanzen gebildet, muss α -Tocopherol vom Organismus mit der Nahrung aufgenommen werden. Als lipophiles Vitamin wird es zusammen mit anderen Lipiden in Abhängigkeit der Gallensäuren aus dem Darm resorbiert, im Blut zunächst in Chylomikronen zur Leber und anschließend in den verschiedenen anderen Lipoproteinen transportiert [D. E. Kaempf-Rotzoll et al., 2003]. In der Leber von Ratten

wurde ein α -Tocopherol-bindendes Protein nachgewiesen – das α -Tocopherol-Transfer-Protein (α TTP) [Y. Sato et al., 1991]. Das α TTP ist sowohl für den Transport von α -Tocopherol zwischen einzelnen Kompartimenten der Hepatozyten, als auch für die Sekretion des α -Tocopherols in Lipoproteine – hier hauptsächlich VLDL – verantwortlich [Y. Sato et al., 1993; M. Arita et al., 1997]. Das α TTP wird nur in den Leberzellen in hohem Maße exprimiert [Y. Sato et al., 1993]. In anderen Organen, wie dem Hirn, der Milz, der Lunge und der Niere konnte das α TTP nur in sehr geringen Mengen nachgewiesen werden [A. Hosomi et al., 1998].

Obwohl α -Tocopherol in allen Lipoproteinklassen transportiert werden kann und gezeigt wurde, dass sowohl die endotheliale Lipoproteinlipase, als auch ein Phospholipid-Transfer-Protein und der LDL-Rezeptor an der Aufnahme des Vitamins in die Zelle beteiligt sind [P. Mardones et al., 2002], scheinen dennoch, zumindest in Mäusen, die HDL die wichtigste Rolle in der Regulation des intrazellulären und systemischen α -Tocopherol-Gehaltes zu spielen [D. Goti et al., 2001].

Der Metabolismus von α -Tocopherol ist bis heute noch nicht vollständig aufgeklärt. Da es jedoch nicht zu einer Akkumulation des Vitamins im Lebergewebe kommt, müssen Abbau- und Ausscheidungswege für Tocopherole bestehen. Zum einen kann α -Tocopherol von der Leber über die Galle ausgeschieden werden. Zusätzlich scheint ein Abbau von verschiedenen Tocopherolen stattzufinden, der durch das hauptsächlich im glatten Endoplasmatischen Retikulum von Leber und Nebenniere vorkommende Enzym Cytochrom p450 vermittelt wird [T. J. Sontag und R. S. Parker, 2002; D. E. Kaempf-Rotzoll et al., 2003]. Bedeutung und Regulationsmechanismen dieses Abbauweges sind jedoch noch nicht vollständig geklärt.

2.2.2. Fettsäuren

Sowohl im Gewebe als auch im Blutplasma sind Fettsäuren nur zu einem sehr geringen Prozentsatz als freie Fettsäuren vorhanden. Zum allergrößten Teil liegen sie in gebundener, veresterter Form vor. Drei Substanzgruppen spielen hierbei eine große Rolle: Cholesterinester, Triacylglyceride und Phospholipide.

Fettsäuren haben eine große Anzahl physiologischer Funktionen. Hierzu zählt zum einen, dass sie in Phospholipiden verestert den Hauptbestandteil von Zellmembranen

darstellen. In den Membranen beeinflussen die Fettsäuren ganz entscheidend deren Fluidität; je kürzer die Kohlenwasserstoffketten der veresterten Fettsäuren sind, und je mehr Doppelbindungen diese enthalten, desto höher ist die Fluidität der jeweiligen Membran.

Zum anderen dienen gesättigte kurz- und mittelkettige Fettsäuren als wichtige Energielieferanten. In der β -Oxidation werden sie zur Energiegewinnung zu Acetyl-CoA abgebaut, welches dann in Citratcyclus und Atmungskette weiter zu Kohlendioxid und Wasser oxidiert wird. Wenn sehr viel Acetyl-CoA gebildet wird, können in der Leber Ketonkörper synthetisiert werden, welche auch von denjenigen Geweben verstoffwechselt werden können, die selbst nicht zum Fettsäure-Abbau befähigt sind.

Sind mehr Fettsäuren vorhanden als augenblicklich für die Energieversorgung des Organismus benötigt werden, können sie von den Zellen des Fettgewebes gespeichert werden. Dazu werden sie mit Glycerin verestert – es entstehen die Triacylglyceride.

Zusätzlich kommt besonders den mehrfach ungesättigten Fettsäuren eine wichtige Funktion als Ausgangsstoffe für die Produktion von Botenstoffen zu, da viele Gewebshormone und Mediatoren aus Fettsäuren synthetisiert werden.

Viele Zellen können aus Acetyl-CoA Fettsäuren synthetisieren, wobei die entstehende Fettsäure immer wieder um zwei Kohlenstoffatome verlängert wird. Wenn mit der Bildung von Palmitat eine Kettenlänge von 16 Kohlenstoffatomen erreicht wird, ist die eigentliche Fettsäure-Neusynthese abgeschlossen. Weitere Kettenverlängerungen und der Einbau eventueller Doppelbindungen werden von spezifischen Enzymen und Enzymkomplexen katalysiert. So ist für die Schaffung von Doppelbindungen zur Synthese ungesättigter Fettsäuren unter anderem eine Desaturase notwendig, deren spezifische Eigenschaften bei Säugern es jedoch nicht erlauben, Doppelbindungen an jeder beliebigen Stelle einer Fettsäure einzubauen. Es ist nicht möglich Doppelbindungen zu schaffen, die weiter als neun C-Atome von der Carboxylgruppe entfernt sind. Ungesättigte Fettsäuren wie Linolsäure (18:2 cis- Δ^9 , Δ^{12}) und Linolensäure (18:3 cis- Δ^9 , Δ^{12} , Δ^{15}), die solche Doppelbindungen enthalten, müssen deshalb mit der Nahrung aufgenommen werden – es handelt sich um essentielle Fettsäuren. Aus ihnen können dann andere mehrfach ungesättigte Fettsäuren synthetisiert werden, beispielsweise die Arachidonsäure (20:4) oder die Docosahexaensäure (22:6).

2.3. HDL-Rezeptoren

Die Struktur und Funktionsweise von HDL-Rezeptoren sind bisher weit weniger bekannt als beispielsweise der unter 2.1. dargestellte LDL-Rezeptor. Neben der Gruppe der „Scavenger Receptors“, der auch der SR-BI angehört, welcher später ausführlich besprochen wird, werden unter anderem dem HDL-bindenden Proteinen HB2, dem Vigilin und dem ATP-binding cassette transporter class A 1 (ABCA 1) wichtige Funktionen im HDL-Metabolismus zugeschrieben [N. H. Fidge, 1999; J. S. Owen und J. V. Mulcahy, 2002].

Von großer Bedeutung für die Funktion der HDL, und besonders für den reversen Cholesterin-Transport ist auch der ATP-binding cassette transporter A 1 (ABCA 1). Die Superfamilie der ATP-binding cassette transporters umfasst eine große Gruppe von Membran-Proteinen, deren Aufgabe es ist, unter Energie-Verbrauch den Transport verschiedenster Substrate über die Plasmamembran zu gewährleisten [L.-X. Zhao et al., 2000]. Als Mitglied dieser Superfamilie ermöglicht der ABCA 1 in extrahepatischen Geweben den Efflux von intrazellulärem Cholesterin auf die extrazellulären HDL-Partikel [J. S. Owen und J. V. Mulcahy, 2002; A. Rigotti et al., 2003]. Ein Defekt in dem für diesen Transporter codierenden Gen wurde bei den Tangier-Patienten nachgewiesen [U. Panzenboeck et al., 2002], deren HDL-Metabolismus entscheidend gestört ist: Tangier-Patienten haben einen deutlich erniedrigten HDL-Spiegel im Blut und neigen frühzeitig zu Cholesterin-Ablagerungen in verschiedenen Organen, besonders in den jeweiligen Gewebs-Makrophagen. Durch die Assoziation dieser HDL-Stoffwechsel-Störung mit einem Defekt im ABCA 1-Gen wird die Bedeutung dieses Transporters für eine intakte systemische Cholesterin-Homöostase untermauert.

Von den HDL-bindenden Proteinen HB1 und HB2 besitzt das letztere die größere physiologische Bedeutung für den HDL-Stoffwechsel, deswegen soll nur dieses im Folgenden kurz vorgestellt werden. HB2 konnte zunächst aus dem Lebergewebe von Ratten extrahiert werden [H. Kurata et al., 1998], später wurde es auch im Hirn, im Intestinum, in der Lunge und in Gewebemakrophagen nachgewiesen [C. Lutton und N. Fidge, 1994; N. H. Fidge, 1999]. HB2 ist ein Membranprotein, das große Ähnlichkeit mit der Gruppe der Adhäsionsmoleküle aufweist und selektiv an die in den HDL-Partikeln enthaltenen ApoAI und ApoAII bindet [N. H. Fidge, 1999]. Seine wichtige

Rolle im HDL-Metabolismus zeigte sich unter anderem dadurch, dass sich das Maß der HDL-Bindung an Zellen, die zur übermäßigen Expression des Proteins angeregt wurden, in etwa verdoppelte [H. Kurata et al., 1998; N. H. Fidge, 1999]. Andererseits wird die HB2-Expression in Hepatozyten durch einen erhöhten intrazellulären Cholesterin-Gehalt, sowie durch Gabe des Cholesterin-senkenden Medikamentes Simvastatin nachweislich reduziert [N. H. Fidge, 1999; Y. Fujiwara et al., 2000], was die Funktion des HB2 als Cholesterin-Transport-Molekül untermauert.

Bei einem weiteren HDL-bindenden Protein, dem Vigilin, handelt es sich um ein ubiquitär vorkommendes Protein, das ebenfalls das in den HDL-Partikeln enthaltenen ApoAI bindet [N. H. Fidge, 1999]. Je höher der Cholesterin-Gehalt der Zelle ist, desto stärker wird das Vigilin in der jeweiligen Zelle exprimiert, was auf eine bedeutende Rolle des Proteins im reversen Cholesterin-Transport hindeutet [N. H. Fidge, 1999].

Eine wichtige Rolle unter den HDL-Rezeptoren spielt die Gruppe der Scavenger Receptors (SR). In der Gruppe der Scavenger Receptors werden eine Vielzahl verschiedener Rezeptoren zusammengefasst, denen eine allen gemeinsame Aufgabe zukommt: Die Scavenger Receptors sind dafür verantwortlich, neben chemisch modifizierten Lipoproteinen auch apoptotisches Zellmaterial und andere potentiell pathogene Substanzen aus dem Blutplasma herauszufiltern und deren Phagozytose zu ermöglichen. Dieser gemeinsamen Funktion verdanken die Scavenger Receptors ihren Namen (*to scavenge*, zu deutsch: reinigen, säubern).

Scavenger Receptors werden in besonders hohem Maße von Monozyten und den aus ihnen hervorgehenden Gewebe-Makrophagen exprimiert, was zu der vornehmlichen Funktion dieser Zellen passt, potentiell schädliche Partikel zu phagozytieren und – wenn möglich – abzubauen.

Die Familie der Scavenger Receptors umfasst mehrere kleinere Klassen, die mit den Buchstaben A bis E bezeichnet werden [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999].

Zu den Scavenger Receptors der Klasse A gehören SR-AI, AII und AIII, die als Oberflächenrezeptoren von Makrophagen entscheidend an der Phagozytose von oxidierten LDL-Partikeln beteiligt sind [Y. Yamada et al., 1998]. Hieraus lässt sich ableiten, dass diese Rezeptoren eine wichtige Rolle bei der Entstehung der Schaumzellen spielen, die aus Makrophagen hervorgehen, wenn diese eine große

Menge oxidiertes LDL-Partikel aufgenommen haben, aber nicht vollständig abbauen konnten. Die Bildung von Schaumzellen ist ein entscheidender Vorgang in der Pathogenese der Atherosklerose.

SR-AI und SR-AII sind zudem auch an der Phagozytose apoptotischer Zellen durch Rezeptor-exprimierende Makrophagen beteiligt [M. Krieger und D. M. Stern, 2001].

Die SR der Klasse A kommen jedoch nicht nur auf den Monozyten des Blutes, sondern auch auf differenzierten Makrophagen wie den Peritoneal-Makrophagen, den Kupffer'schen Sternzellen in der Leber, den Alveolar-Makrophagen der Lunge und in geringerem Ausmaß auf den epidermalen Langerhans-Zellen und dendritischen Zellen vor. Auch einige Endothelzellen exprimieren SR-AI und SR-AII, wie beispielsweise die Zellen des Sinusoidal-Epithels der Leber, Endothelzellen in der Nebenniere sowie die Zellen der hochendothelialen Venulen in Lymphknoten [Y. Yamada et al., 1998].

Ein weiterer Makrophagen-Scavenger Receptor der Klasse A, der MARCO, ist nicht an der Aufnahme modifizierter Lipoproteine beteiligt. Er spielt statt dessen eine wichtige Rolle in der immunologischen Abwehr von pathogenen Bakterien. So wurde nachgewiesen, dass MARCO spezifisch sowohl den gram-negativen Fäkalkeim *Escherichia coli*, als auch das gram-positive Bakterium *Staphylococcus aureus* bindet [N. A. Elshourbagy et al., 2000]. Entsprechend seiner Funktion ist MARCO vor allem auf den Markscheiden-Makrophagen der Milz, auf Peritoneal-Makrophagen sowie auf Monozyten und Makrophagen in Lymphknoten nachgewiesen worden [Y. Yamada et al., 1998].

Die Klasse B der SRs umfasst den SR-BI, den SR-BII sowie den CD36-Rezeptor.

Der CD36-Rezeptor ist, wie die oben beschriebenen SR-As, an der Bildung von Schaumzellen und somit an der Genese atherosklerotischer Plaques beteiligt. Neben oxidierten LDL bindet CD36 aber auch Zelldetritus, apoptotisches Zellmaterial, langkettige Fettsäuren, anionische Phospholipide sowie acetylierte LDL und ist für deren Endozytose verantwortlich. Auch für die Adhäsion und Aggregation der Thrombozyten und für die Cytoadhärenz von mit *Plasmodium falciparum* infizierten Erythrozyten ist CD36 offenbar von Bedeutung [Y. Yamada et al., 1998].

Ca. 3% der japanischen Bevölkerung weisen eine CD36-Defizienz auf, die sich phänotypisch nicht bemerkbar macht [Y. Yamada et al., 1998], die jedoch mit einer erhöhten Inzidenz der koronaren Herzkrankheit (KHK) einhergeht. Bei ca. 17% der in

Japan an KHK leidenden Patienten kann diese CD36-Defizienz nachgewiesen werden [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999].

Das Vorkommen, sowie die Funktionen von SR-BI und von dessen Spleißvariante SR-BII werden unter 2.3.1. näher ausgeführt.

Aus der Klasse C der Scavenger Receptors ist ein Makrophagen-spezifischer Rezeptor aus der Fruchtfliege *Drosophila melanogaster* (dSR-CI) bekannt, der vor allem acetylierte, aber auch oxidierte LDL bindet und deren Phagozytose durch die den Rezeptor exprimierenden Makrophagen einleitet [Y. Yamada et al., 1998].

Der Klasse D der Scavenger Receptors gehört das Macrosialin an, ein Protein der Maus, welches dem humanen CD68 entspricht. Auch die SR-Ds sind Oberflächenrezeptoren von Makrophagen und sind durch das Ermöglichen der Endozytose von modifizierten LDL-Partikeln in die Pathogenese der Atherosklerose involviert [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999].

Zu der Klasse E der SRs gehört ein Lecithin-ähnlicher Rezeptor für oxidierte LDL (LOX-I). LOX-I wurde auf Peritoneal-Makrophagen von Mäusen und auch auf humanen Monozyten und Makrophagen nachgewiesen, und gilt ebenfalls als Rezeptor für oxidierte LDL [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999].

2.3.1. Scavenger Receptor class B, type I (SR-BI)

SR-BI wird hauptsächlich in Zellen exprimiert, denen eine besondere Rolle im Lipid-Metabolismus zukommt, so zum Beispiel in den Leber-Parenchymzellen und in Steroid-produzierenden Geweben, wie beispielsweise in der Nebennierenrinde [S. Acton et al., 1996; K. Landschulz et al., 1996]. In niedrigeren Konzentrationen wurde SR-BI zudem im Intestinum, in der Mamma trächtiger Ratten, im Trophoblasten, Dottersack, der Plazenta und dem Endometrium nachgewiesen [A. Rigotti et al., 2003]. Auch in der Lunge [I. Kollek et al., 1999], im Gallengangsepithel, auf Makrophagen, Endothelzellen, glatten Muskelzellen [A. Rigotti et al., 2003] und epidermalen Keratinozyten [H. Tsuruoka et al., 2002] ist SR-BI nachweisbar.

Die Abb. 2 zeigt eine schematische Darstellung des SR-BI. Der SR-BI ist ein ca. 509 Aminosäuren großer membrangebundener Rezeptor und besitzt einen großen extrazellulären Bereich, der durch je eine Transmembrandomäne an jedem Ende in der Plasmamembran verankert ist. Intrazellulär befinden sich nur kurze N- und C-terminale Abschnitte [M. Krieger, 1999]. Der SR-BI der Maus ist stark N-glycosyliert und an zwei C-terminalen Cysteinresten mit Palmitinsäuren verestert [A. Rigotti et al., 2003].

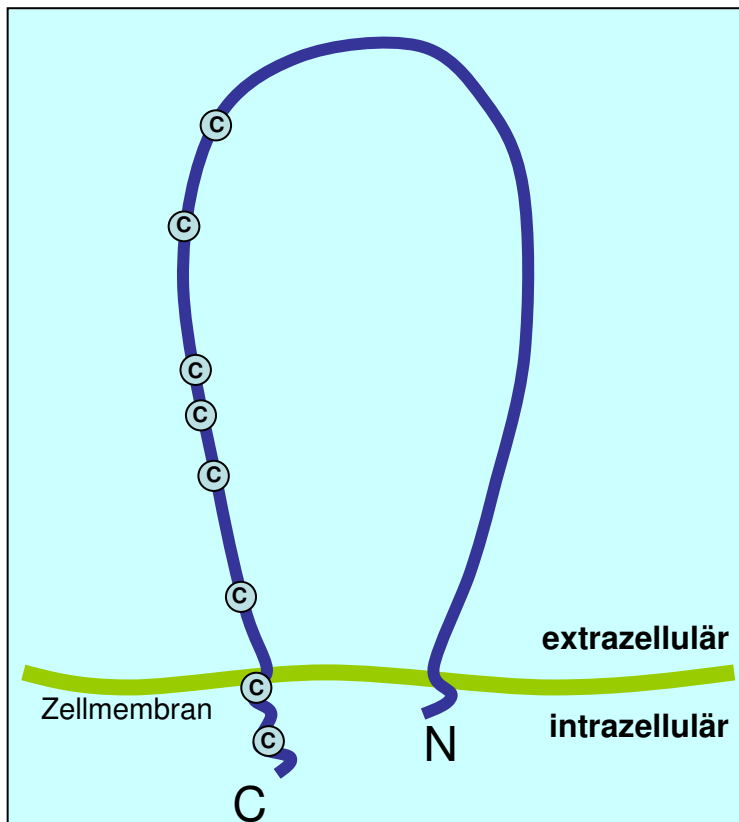


Abb.2: Schematische Darstellung des SR-BI Der membranständige HDL-Rezeptor SR-BI besteht aus 509 Aminosäuren. Seine große extrazelluläre Schleife ist durch kurze transmembranäre Bereiche an jedem Ende in der Plasmamembran verankert. SR-BI enthält mehrere Cystein-Reste in der Aminosäurekette, deren ungefähre Lokalisationen in der Abbildung durch Kreise markiert sind. [Angelehnt an eine Abbildung von M. Krieger, 1999: Annual Reviews of Biochemistry, Vol. 68: 523-558]

Der SR-BI ist in der Lage, eine Vielzahl verschiedener Liganden zu binden. Hierzu gehören vor allen Dingen die HDL-Partikel. Aber auch LDL, VLDL, acetyliertes LDL [X. Gu et al., 2000], apoptotische Zellreste, freies ApoAI und ApoAII, sowie vermutlich freies ApoE [A. Rigotti et al., 2003] stellen mögliche Bindungspartner des SR-BI dar.

Die HDL nehmen jedoch die wichtigste Rolle unter den bisher bekannten SR-BI-Bindungspartnern ein. Der SR-BI war der erste bekannte und charakterisierte HDL-Rezeptor [J. Babitt et al., 1997]. Anders als bei dem schon seit langem bekannten LDL-Rezeptor, führt die Interaktion des HDL mit dem SR-BI – wie bereits unter 2.1. erwähnt – nicht zu einer Endozytose des gesamten Partikels. Statt dessen ermöglicht SR-BI selektiv die Aufnahme lipophiler Bestandteile aus dem HDL-Partikel in die Zelle, ohne dass die im HDL enthaltenen Proteine internalisiert und abgebaut werden [S. Acton et al., 1996]. Dieser Vorgang wird als „selektive Lipidaufnahme“ bezeichnet und ist im Metabolismus der HDL für die Interaktion mit dem SR-BI charakteristisch. Denn obwohl auch andere Scavenger Receptors, wie beispielsweise der CD36, in der Lage sind, HDL-Partikel zu binden, findet doch lediglich nach einer Bindung an den SR-BI ein effektiver Lipid-Transfer auf die Zielzelle statt [D. L. Williams et al., 2000]. Die essentielle Funktion des SR-BI im selektiven Lipid-Transport wurde nachgewiesen, indem der Rezeptor auf isolierten Leberzellen der Ratte mit einem spezifischen Liganden blockiert wurde. Es wurde beobachtet, dass der selektive Transfer von an HDL gebundenen Cholesterin-Estern auf die Zellen vollständig zum Erliegen kam, wenn der SR-BI blockiert war [K. Fluiter und T.-J. van Berkel, 1997].

Neben dem selektiven Lipid-Transfer von HDL auf die Zielzelle ist SR-BI noch in eine weitere unter 2.1. bereits kurz erwähnte Aufgabe der HDL involviert: Durch Binden eines HDL-Partikels an den SR-BI ist ein Übertreten von Cholesterin aus der Rezeptor-exprimierenden Zelle auf das HDL möglich – der erste Schritt des „reversen Cholesterintransportes“. Das HDL kann das auf diesem Wege aufgenommene Cholesterin entweder an andere Lipoproteine oder Gewebe mit hohem Cholesterinbedarf abgeben, oder es zur Leber transportieren, wo es von den Hepatozyten mit der Gallenflüssigkeit ausgeschieden werden kann.

SR-BI ist also dazu in der Lage, einen bidirektionalen Cholesterinfluss zu ermöglichen: Zum einen können Cholesterin und andere Lipide mithilfe des SR-BI durch selektive Lipid-Aufnahme von HDL auf die Rezeptor-exprimierende Zelle übergehen. Zum anderen ist ein Übertritt des Cholesterins von der Zelle auf die gebundenen HDL-Partikel und damit ein reverser Cholesterintransport möglich.

Zusammengefasst ist die Rolle des SR-BI im Cholesterin-Fluss in der Abb. 3 zu erkennen.

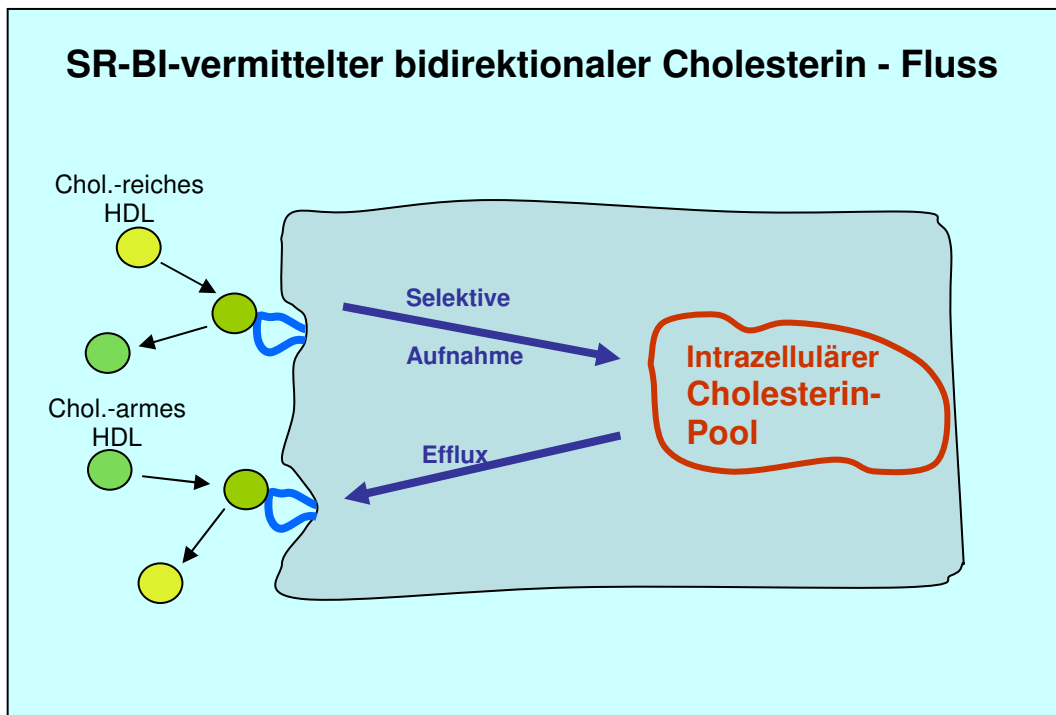


Abb.3: SR-BI-vermittelter bidirektionaler Cholesterin-Fluss SR-BI bindet HDL mit hoher Affinität. Abhängig von dem Cholesteringehalt des HDL-Partikels und von dem der Plasmamembran wird durch die Bindung von HDL an den Rezeptor ein Transfer von freiem Cholesterin und Cholesterinestern entlang des jeweiligen Konzentrationsgradienten ermöglicht. Der Übergang von Cholesterin auf die Rezeptor-exprimierende Zelle ist dabei unabhängig von einer endozytotischen Aufnahme des gesamten Lipoproteins und wird deshalb als „selektive Lipidaufnahme“ bezeichnet. Das HDL-Partikel dissoziiert nach der Abgabe des Cholesterins wieder von der Zelle ab. [Angelehnt an eine Abbildung von M. Krieger, 1999: Annual Reviews of Biochemistry, Vol. 68: 523-558]

Der genaue Mechanismus des durch SR-BI vermittelten Lipid-Transfers ist noch nicht endgültig geklärt. Wie bereits erwähnt, ist das alleinige Binden des HDLs nicht ausreichend, um einen effektiven Lipid-Transport zu ermöglichen, da zwar auch andere SRs dazu in der Lage sind, HDL zu binden, jedoch nur bei einer Bindung an SR-BI ein Lipidaustausch zwischen der Zelle und dem Lipoprotein ermöglicht wird [D. L. Williams et al., 2000]. Es wurde angenommen, dass der SR-BI einen unpolaren Kanal zwischen dem gebundenen HDL und der Plasmamembran der Zelle formt, durch den eine Diffusion der Lipide vom HDL-Partikel auf die Zielzelle möglich ist [W. V. Rodriguez et al., 1999]. Eine alternative Vorstellung besteht darin, dass SR-BI eine Hemifusion zwischen der Phospholipidschicht des HDL-Partikels und der äußeren

Phospholipidschicht der Plasmamembran induziert und auf diesem Wege die Aufnahme von Lipiden in die Zelle ermöglicht [X. Gu et al., 1998]. Auch die Möglichkeit einer Retroendozytose des HDL-Partikels wurde erwogen, während derer die selektive Lipid-Aufnahme stattfindet [D. L. Silver et al., 2000]. Es ist wahrscheinlich, dass der Übertritt von Lipiden durch SR-BI sowohl an der Zelloberfläche, als auch in retroendozytotischen Vesikeln ermöglicht wird [S. T. Thuahnai et al., 2001].

Für die selektive Aufnahme von in HDL transportierten Lipiden in die Zelle ist, wie bereits erwähnt, ein bestimmtes Apolipoprotein der HDL-Partikel von besonderer Bedeutung – das ApoAI. Es ist als unmittelbarer Bindungspartner des Rezeptors für das Andocken des HDL-Partikels an die Zelle verantwortlich. Aber auch an dem Lipid-Transfer selbst ist das ApoAI beteiligt, da zwar auch andere Apolipoproteine der HDL-Partikel, wie beispielsweise das ApoAII oder das ApoE, an SR-BI binden können, diese Bindungen jedoch keinen oder nur einen bedeutend geringeren Lipid-Fluss ermöglichen, als es bei der durch ApoAI vermittelten Bindung zu beobachten ist [B. L. Trigatti et al., 2000 a]. Die SR-BI-vermittelte selektive Aufnahme von Cholesterinestern ist bei ApoAI-haltigen HDL (LpA-I) höher als bei HDL-Partikeln, die sowohl ApoAI, als auch ApoAII enthalten (LpA-I:A-II) [F. Rinninger et al.; 2003]. Bemerkenswert ist, dass die Affinität der HDL zu SR-BI zwar sogar ansteigt, wenn sich das Verhältnis ApoAI:ApoAII zugunsten des ApoAII verschiebt – gleichzeitig wird die Menge der transportierten Cholesterinestern aber geringer [B. L. Trigatti et al., 2000 a].

Der durch SR-BI vermittelte bidirektionale Fluss von lipophilen Substanzen zwischen den Rezeptor-exprimierenden Zellen und den HDL-Partikeln findet stets entlang eines Konzentrationsgradienten statt [S. T. Thuahnai et al., 2001]. Es ist also sowohl von dem Lipid- und Cholesterin-Gehalt des gebundenen Lipoproteins, als auch von der Konzentration der einzelnen Lipide in der Plasmamembran abhängig, in welcher Richtung ein Austausch stattfindet.

SR-BI ist auf der Membran der Zellen nicht gleichmäßig verteilt, sondern in bestimmten Membranregionen in besonders hohen Konzentrationen vorhanden. Etwa 70 % des gesamten SR-BI-Gehaltes einer Zelle befinden sich in diesen Regionen der Plasmamembran [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999], bei denen es sich um Cholesterin- und Sphingomyelinreiche Mikrodomänen handelt, die als Caveolae bezeichnet werden. Ein Protein, das in den Caveolae lokalisiert ist und daher als Marker dieser Membranregionen verwendet wird, ist das Caveolin-1. SR-BI und Caveolin-1 sind kolokalisiert, was auf eine wichtige Rolle der Caveolae im Cholesterin- und Lipid-

Transport hindeutet [J. Babitt et al., 1997]. Die Caveolae haben besonders für die zelluläre Cholesterin-Homöostase eine entscheidende Funktion, da sie zum einen am Efflux von freiem Cholesterin beteiligt sind, welches aus der *de novo*-Synthese oder aus LDL-Partikeln stammt [P. E. Fielding und C. J. Fielding, 1995]. Zum anderen sind die Caveolae die initialen Akzeptoren für die von den HDL über selektiven Lipid-Transport aufgenommenen Cholesterinester [J. Babitt et al., 1997].

Als mRNA-Spleißvariante des SR-BI unterscheidet sich der SR-BII von diesem in seiner Morphologie nur geringfügig, er scheint jedoch eine größere C-terminale cytoplasmatische Domäne zu besitzen [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999]. SR-BI und SR-BII werden in denselben Geweben exprimiert, SR-BII kommt aber in geringerer Konzentration vor, was mit der größeren Instabilität der SR-BII-mRNA zusammenhängen kann [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999]. So macht SR-BI ca. 60 % der im Lebergewebe von Mäusen vorkommenden Gesamtmenge an SR-BI/II aus [N. R. Webb et al., 1997]. Es zeigte sich außerdem, dass SR-BII eine deutlich niedrigere Aktivität bezüglich des Lipidtransportes zwischen Zellen und HDL-Partikeln aufweist, so dass davon auszugehen ist, dass SR-BI die weitaus größere physiologische Bedeutung hat [W. J. S. de Villiers und E. J. Smart, 1999].

2.4. SR-BI ko-Mäuse

Um die physiologische Bedeutung des SR-BI im Tiermodell erkennbar zu machen, wurden Mäuse gezüchtet, deren Zellen den Rezeptor aufgrund eines Gen-Defektes nicht exprimieren können [A. Rigotti et al., 1997]. Als mRNA-Spleißvariante des SR-BI ist der SR-BII durch den Defekt des gemeinsamen Genes ebenfalls ausgeschaltet, so dass der Verlust des SR-BI in diesem Tiermodell nicht durch den SR-BII kompensiert werden kann.

Die Abwesenheit des SR-BI macht sich äußerlich nicht bemerkbar [A. Rigotti et al., 1997; M. Krieger, 1999], es hat jedoch einen großen Einfluss auf den HDL-Metabolismus der Tiere: Im Plasma von SR-BI ko-Mäusen findet sich ein deutlich erhöhter HDL-Cholesterin-Spiegel, wobei die vorhandenen HDL-Partikel unnatürlich groß und sehr uneinheitlich geformt sind [A. Rigotti et al., 1997; Mardones et al., 2002; H. E. Miettinen et al., 2001].

Des Weiteren ist beschrieben, dass der Verlust des SR-BI die Fertilität der weiblichen, nicht aber die der männlichen SR-BI ko-Mäuse beeinträchtigt [M. Krieger, 1999; B. Trigatti et al., 1999]. Der Rezeptor scheint für die Ausbildung sowohl der maternalen als auch der embryonalen Plazentastrukturen von großer Bedeutung zu sein, da neben der femininen Infertilität in der Zucht der SR-BI ko-Mäuse zusätzlich auffiel, dass in den jeweiligen Würfen von heterozygoten SR-BI wt/SR-BI ko-Mäusen weniger homozygote SR-BI ko-Tiere enthalten waren, als statistisch zu erwarten gewesen wäre [M. Krieger, 1999].

Für die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen wurden männliche, homozygote SR-BI ko- und wt-Mäuse verwendet.

3. **Material und Methoden**

Für diese Arbeit kamen folgende Methoden zum Einsatz:

- Immunologische Methoden (Immunhistologie und immunologische Färbung von Western-Blots)
- α -Tocopherol-Bestimmung aus Gewebeprobe, Plasma und Gallenflüssigkeit von Mäusen mit Hilfe der Flüssigkeits-Chromatographie (HPLC)
- Fettsäure-Analyse aus Gewebeprobe, Plasma und Gallenflüssigkeit von Mäusen mit der Gas-Chromatographie
- Enzymatische Bestimmung der Plasmakonzentration von Cholesterin und Triglyceriden

3.1. **Immunologische Methoden**

3.1.1. **Immunhistologie**

Geräte:

- Mikrotom: Mikrom-Kryostat, Cryostar HM 560 M (Mikrom International GmbH)
- Mikroskop: LSM 510 (Zeiss)

Material:

- Feuchte Kammer
- Adhäsions-Objektträger: HistoBond (Marienfeld)
- Deckgläser (Marienfeld, 24*32 mm; 8520)
- Tissue-Tek (Sakura)
- Methanol
- 1* TBS, pH 7,4 (einzustellen mit HCl + NaOH)
 - 116,8g NaCl
 - 16,8g Tris
 - ad 4l A. dest.
- TBS-Glycin (0,1 M)

- Bovines Serum Albumin Fraktion V (BSA) (PAA Laboratories GmbH; K41-001-100)
- Blocklösung: 0,1% BSA-c und 1% BSA in TBS-Glycin
- primärer Antikörper (in Blockierlösung):

<u>Antigen</u>	<u>Wirt</u>	<u>Verdünnung</u>	<u>Firma/Referenz</u>
SR-BI	Kaninchen	1:500	F. Rinninger

- sekundärer Antikörper (in Blockierlösung)

<u>Antigen und Wirt</u>	<u>Verdünnung</u>	<u>gekoppelter Farbstoff</u>	<u>Firma/ Referenz</u>
Esel anti-Kaninchen	1:100	Cy 2	Dianova/Jackson Immuno Research

- DAPI in TBS \Rightarrow 4 μ l/100ml
- Mowiol + 0,1 % PPD

Methode:

Das -20°C kalte Gewebe wird in Tissue-Tek eingebettet. Mit Hilfe des Kryotoms werden Schnitte mit einer Dicke von 5 μm angefertigt und zur Fixation 10 Min. in Methanol gewaschen, welches zuvor ebenfalls auf -20°C vorgekühlt worden ist. Anschließend werden die Schnitte bei Raumtemperatur 5 mal 5 Min. in TBS und einmal 5 Min. in TBS-Glycin-Lösung gewaschen. Für 45 Min. werden die Schnitte nun ebenfalls bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer mit der Blocklösung inkubiert. Mit dem ersten Antikörper werden die Schnitte bei 4°C über Nacht in einer feuchten Kammer überschichtet und anschließend 2 mal je 5 Min. in TBS-Glycin-Lösung gewaschen. Bei der 120 minütigen Inkubation mit dem zweiten Antikörper, welche wiederum bei Raumtemperatur in einer feuchten Kammer stattfindet, müssen die Schnitte vor Licht geschützt werden. Danach werden die Schnitte 3 mal für 5 Min. in TBS gewaschen, worauf eine ebenfalls 5 minütige Inkubation mit DAPI in TBS folgt. Abschließend werden die Schnitte wiederum 2 mal je 5 Min. in TBS-Lösung gewaschen und in Mowiol mit 0,1% PPD eingedeckt.

Mit dem oben genannten konfokalen Mikroskop werden die auf diese Weise gefärbten Schnitte betrachtet und digitalisiert. Zur Bearbeitung der Bilder wurden die Programme LSM 510 (Zeiss), Axio Vision und Powerpoint verwendet.

3.1.2. Membran-Präparation

Geräte:

- Tischzentrifuge (Sigma, 1-15 k)
- Untrazentrifuge (Beckman TL-100)
- Ultra-Turrax (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik)

Material:

- Homogenisationspuffer:
 - 200 mM Tris-HCl, pH 7,4
 - 2 mM Magnesiumchlorid
 - 0,25 M Sucrose
 - ad 500 ml
 - Proteaseinhibitoren (PIC) 1:1000
- Proteaseinhibitoren (PIC):
 - 1 mM Pepstatin A (Cambiochem; 516 482)
 - 10 mM Chymostatin (Cambiochem; 230 790)
 - 10 mM Leupeptin (Cambiochem; 108 975)
 - 10 mM Anipain (Cambiochem; 178 220)
 - in DMSO
- Resuspensionspuffer:
 - 50 mM Tris-HCl, pH 8,0
 - 2 mM Calciumchlorid
 - 80 mM Natriumchlorid
 - 1% TritonX 100
 - ad 10 ml
- Eppendorf Reaktionsgefäß
- 1 ml Spritze
- Kanüle
- Röhrenchen (Sarstedt, 75 x 12 mm; 55.476)
- Ultrazentrifugentubes (Beckman, 11x34 mm)

Methode:

Alle Arbeitsschritte werden auf Eis bei 4 °C durchgeführt.

Aliquote des Gewebes von 200 mg werden in Röhrchen mit dem Ultra-Turrax in 1,2 ml Homogenisationspuffer homogenisiert und 15 Min. bei 4  C mit 800g zentrifugiert. Die Zentrifugation wird mit der oberen Phase wiederholt und die neu entstandene obere Phase in ein Ultrazentrifugentube überführt und eine Stunde bei 4  C mit 100 000g in der Ultrazentrifuge zentrifugiert. Anschließend befinden sich die cytosolischen Bestandteile der Gewebeprobe in der löslichen Phase, während sich die membranösen Anteile im Pellet befinden. Nachdem die lösliche Fraktion abgenommen worden ist, muss das Pellet mit einer Spritze mit feiner Kan le in 400 Öl Resuspensionspuffer resuspendiert und danach nochmals 30 Min. bei 4  C mit 100 000g zentrifugiert werden. Der Überstand, in dem sich die Plasmamembranen befinden, kann nun weiteren Untersuchungen zugeführt werden.

3.1.3. SDS-Lowry

Mit der SDS-Lowry wird die Gesamt-Protein-Konzentration in den unterschiedlichen Fraktionen, die in der Membran-Präparation gewonnen wurden, bestimmt.

Geräte:

- Vortex
- Photometer (JASCO, Model 7800, UV/VIS Spectralphotometer)

Material:

- Proben:
 - Fraktionen aus der Membranpräparation: Membranproteine aus Leber und Hirn von Wildtyp- und SR-BI ko-Mäusen
- 0,1 N Natronlauge
- Standards (BSA in NaOH)
 - 2 mg/ml
 - 1 mg/ml
 - 0,5 mg/ml
 - 0,25 mg/ml
 - 0,125 mg/ml
 - 0,0625 mg/ml

- Lösung A:
 - 2 % Natriumcarbonat
 - 0,02 % Natrium-Kaliumtetrat
 - in 0,1 N Natronlauge
- Lösung B (lichtgeschützt lagern):
 - 0,5 % Kupfersulfat
 - 5 % SDS
- Lösung C:
 - Lösung A + Lösung B im Verhältnis 49 : 1
- Folin-Ciocalteus Phenolreagenz (Merck; 1.09001.0500); 1:2 verdünnt
- 5 ml Röhren (Sarstedt, 75 x 12 mm; 55.476)

Methode:

Pipettierschema:

<u>Reagenz</u>	<u>Leerwert</u>	<u>Standard</u>	<u>Probe</u>
0,1 N Natronlauge	100 µl	80 µl	95 µl
Standardlösung	-	20 µl	-
Probe	-	-	5 µl
Lösung C	1000 µl	1000 µl	1000 µl

Die einzelnen Ansätze werden nach obigem Schema zusammenpipettiert und anschließend auf dem Vortex vermischt. Nach einer zehnmütigen Inkubation bei Raumtemperatur werden zu jeder Probe 100 µl Folin-Lösung zugegeben, sie werden erneut auf dem Vortex gut durchmischt und anschließend lichtgeschützt bei Raumtemperatur 30 bis 60 Min. inkubiert. Nun können die Extinktionen der Proben bei 760 nm im Photometer gegen den Leerwert gemessen werden.

3.1.4. Western-BlotGeräte

- Elektrophorese-/Blotting-Apparaturen:
 - Minigel-Elektrophorese-Apparatur, Mini Protean 3, BioRad
 - Mini-Blotting Apparatur, BioRad, MiniTrans-Blot, 170-3930

Material

- Biologisches Material:
 - Fraktionen aus der Membranpräparation: Membranproteine aus dem Hirn von je einer Wildtyp- und SR-BI ko-Maus

- Antikörper:

Für die Färbung der Western-Blots wurden die folgenden Antikörper verwendet:

primäre Antikörper (1. AK)

<u>Antigen</u>	<u>Wirt</u>	<u>Verdünnung</u>	<u>Firma/ Referenz</u>
SR-BI	Kaninchen	1:20 000	F. Rinninger
Humanes Aktin	Maus	1:500	Sigma

sekundäre Antikörper Peroxidase-gekoppelt (2. AK)

Ziege anti-Kaninchen (GARPO)	1:5000	Dianova/ Jackson Immuno Research
Ziege anti-Maus (GAMPO)	1:5000	Dianova/ Jackson Immuno Research

- Protein-Größenmarker
 - Rainbow-Marker, Amersham Bioscience, RPN 756
 - Rainbow-Marker, Amersham Bioscience, RPN 800

- Lösungen und Puffer

Die Angaben zur Zusammensetzung der speziellen Puffer und Lösungen sind wegen der Übersichtlichkeit der Beschreibung der betreffenden Methode vorangestellt:

- Sonstige Materialien und Geräte
 - Nitrocellulose (45 µm Porengröße), Schleicher und Schüll, Protran BA 85
 - Röntgenfilme, KODAK, Biomax MR
 - Entwicklermaschine: KODAK, X-OMAT 1000

Methoden

SDS-PAGE

Probenpuffer, 4X:

- 3 % SDS (w/v), 80 mM Tris, pH 6,8, 16 % Glycerol (v/v), 3,75 % Mercaptoethanol (v/v) 0,2 % Bromphenolblau (w/v) in A. dest.

Obergelpuffer :

- 40 mM Borsäure, 41 mM Tris, 0,001 % SDS in A. dest., pH 8,64

Untergelpuffer:

- 427 mM Tris in A. dest., pH 9,5 mit HCl eingestellt.

Sammelgel 3%:

- 385 µl 40% Acrylamid/Bis (37,5 : 1), BioRad
- 1,25 ml Obergelpuffer
- 3,4 ml A. dest.
- 25 µl 10% APS (Ammoniumpersulfat) (w/v)
- 5 µl TEMED

Trenngel, 10%:

- 2 ml 40% Acrylamid/Bis (37,5 : 1), BioRad
- 2 ml Untergelpuffer
- 4 ml A. dest.
- 40 µl 10% APS (Ammoniumpersulfat) (w/v)
- 10µl TEMED

Die Auftrennung von Proteingemischen erfolgt unter denaturierenden Bedingungen mittels SDS-PAGE (Polyacrylamid-Gel-Elektrophorese). Die Proben werden mit Probenpuffer versetzt und vor der Beladung für 10 Min. bei 95°C aufgekocht. Der Gel-Lauf erfolgt bei konst. 120 V.

Western-Blot und Immundetektion

• Blotpuffer:

- 20 mM Tris, 150 mM Glycin, 20 % Methanol

- Waschpuffer A:
 - 10 mM Tris, pH 7,4, 154 mM NaCl, 0,1 % Tween
- Waschpuffer B:
 - 10 mM Tris pH 7,4, 154 mM NaCl, 0,1 % Tween, 1% SDS, 0,25 % Natriumdesoycholat
- Blockingpuffer:
 - 10 % Milchpulver, 5% BSA in Waschpuffer A
- primärer Antikörper:
 - in 5% BSA in Waschpuffer A
- sekundärer Antikörper:
 - in 10 % Milchpulver, 5% BSA in Waschpuffer A
- ECL-Lösung:
 - 10 ml 0,1 M Tris, pH 8,5 + 50 µl 250 mM Luminol + 25 µl 90 mM Cumarin-3-Carbonsäure + 3 µl Wasserstoffperoxid (30%), stets kurz vor der Benutzung pipettiert.

Die in der SDS-PAGE aufgetrennten Proteine werden mittels Elektroblob auf Nitrocellulose (0,45 µm Porengröße) übertragen. Dies geschieht in der o.g. Blotting-Apparatur unter Verwendung des angegebenen Blotpuffers. Der Transfer erfolgt bei konstant 400 mA für 1 h. Dabei wird kontinuierlich gekühlt. Zur Kontrolle des Transfers erfolgt im Anschluss eine Ponceaufärbung (s.u.). Die vollständig entfärbte Membran wird nun für die Inkubation mit den Antikörpern vorbereitet. Zur Absättigung freier Bindungsstellen auf der Membran erfolgt eine einstündige Inkubation bei Raumtemperatur in Blockingpuffer (s.o.). Anschließend wird mit PBS oder Waschpuffer A gewaschen und über Nacht bei 4 °C mit dem primären Antikörper inkubiert. Es folgen 4 Waschschrte: einmal 1 Min. Waschpuffer A, zweimal 10 Min. Waschpuffer B und abschließend erneut 1 Min. Waschpuffer A. Gefolgt von der einstündigen Inkubation mit dem sekundären Antikörper. Nach Wiederholung der 4 vorgenannten Waschschrte wird die Membran mit einem Filterpapier trockengetupft und einer Detektion unterzogen.

Die mit den Antikörpern inkubierte Membran wird für 1 Min. mit frischer ECL-Lösung (s.o.) bedeckt. Nach deren Entfernung mit einem Filterpapier erfolgt die Detektion durch Auflegen eines Röntgenfilmes. Je nach Signalstärke werden unterschiedliche Belichtungszeiten gewählt.

Ponceau-Proteinfärbung

Ponceau-Färbelösung , SERVA, 33427 :

- 0,2% Ponceau in 3% Trichloressigsäure

Die Membranen werden nach dem Blotten kurz mit A. dest. gewaschen und anschließend für 10 Min. in Ponceau-Färbelösung inkubiert. Danach wird mit A. dest. entfärbt, bis einzelne Banden sichtbar werden. Nach Dokumentation des Färberegebnisses und Einzeichnen der Markerbanden erfolgt eine vollständige Entfärbung der Membran in A. dest.. Die geblotteten Proteine können nun einer Immundetektion unterzogen werden.

3.2. Gewinnung der Gewebe-, Plasma- und Gallenflüssigkeitsproben

Geräte:

- Präparationsbank
- Skalpelle
- Klemmen
- 20 ml Spritze
- 1 ml Spritze
- Kanülen
- Cryo-Tubes (Nunc)
- 1,5 ml Eppendorf Reaktionsgefäß
- Micro-test-tubes, 250 µl (Beckman)

Material:

- PBS Dulbecco's (GIBCO; 14190-094)
- Betäubungsmittel:
 - 2 ml Ketamin 10 (Altarost; Zul.-Nr.: 29819.01.00)
 - 1 ml Rompun 2% (Bayer; Reg.-Nr.: R1061)
 - ad 10 ml isotoner NaCl-Lösung
- 0,5 M EDTA
- flüssiger Stickstoff

Methode:

Nachdem dem Versuchstier 200 μ l des Betäubungsmittelgemisches intraperitoneal appliziert worden sind und dieses zu wirken begonnen hat, wird das Tier zunächst auf ein mögliches Verbleiben von Schmerzreflexen untersucht. Gegebenenfalls muss die Betäubungsmitteldosis durch Nachspritzen so lange erhöht werden, bis die Schmerzreflexe des Tieres nicht mehr auslösbar sind. Die Tiere werden nun mit Hilfe von vier Kanülen an Vorder- und Hinterbeinen auf der Präparationsbank fixiert. Anschließend werden Bauchraum und Thoraxhöhle eröffnet und aus dem rechten Herzvorhof mit einer 1 ml Spritze etwa 200 bis 250 μ l Blut entnommen. Das Blut wird in einem Eppendorfreaktionsgefäß mit 2,5 μ l 0,5 M EDTA versetzt. Anschließend wird das Plasma abzentrifugiert und in Microtubes überführt.

Mit einer 20 ml Spritze werden nun langsam etwa 10 bis 12ml PBS in den linken Herzventrikel injiziert, um die verschiedenen Gewebe möglichst gleichmäßig zu perfundieren, wobei sich der Erfolg des Perfundierens im sichtbaren Erblassen der Leber zeigt. Nun werden die weiteren Gewebe entnommen.

Um die Gallenflüssigkeit möglichst gut zu isolieren, wird zunächst die gesamte Gallenblase entnommen und in ein Eppendorfreaktionsgefäß entleert. Magen und Darm werden nach der Entnahme gründlich mit PBS gespült, um die Organe von Nahrungsresten zu reinigen.

Die entnommenen und gereinigten Gewebeproben werden durch Eintauchen in flüssigen Stickstoff schockgefroren und anschließend bei -80°C gelagert.

3.3. α -Tocopherol-Bestimmung

Die Methoden zur Bestimmung des α -Tocopherol in den verschiedenen untersuchten Proben variiert in der Probenaufbereitung je nach dem, ob es sich bei der jeweiligen Probe um eine Flüssigkeits- oder eine Gewebeprobe handelt. Zusätzlich spielt die teils sehr begrenzte Menge der einzelnen Proben – besonders der Gallenflüssigkeit – eine entscheidende Rolle.

Im Folgenden wird deswegen zunächst die α -Tocopherol-Bestimmung aus Gewebeproben und im Anschluss daran die Unterschiede in der Bestimmung aus Plasma- und Gallenflüssigkeitsproben erläutert.

Geräte:

- Waage: LA 120S (Sartorius); 0,1mg genau
- Ultra-Turrax (Janke & Kunkel; IKA Labortechnik)
- Zentrifuge: Laboratory Centrifuges 6 K 15 (Sigma)
 - Rotor: Nr.13127; 306 g; 299/01 (Sigma)
- Zentrifuge: Biofuge fresco (Heraeus instruments)
- High Performance Liquid Chromatograph: LC 1100 Series (Agilent); C18-Trennsäule (reversed phase); elektrochemischer Detektor: Model 5011 Analytical Cell (esa);
- Abdampfvorrichtung mit Wasserbad (50 °C) unter Stickstoff

Material:

- Pyrexgläser mit Gewinde und Deckel
- Eppendorf Reaktionsgefäße
- Hamiltonspritze; 250 µl
- H₂O, LiChrosolv (Merck; 1.15333.)
- Methanol, LiChrosolv (Merck; 1.06007.9010)
- Hexan, SupraSolv (Merck; 1.04371.2500)
- Ethanol, LiChrosolv (Merck; 1.11727.1000)
- Butylhydroxitoluol, 0,1 M in Ethanol (Fluka; 34750)
- Δ-Tocopherol, 60 µM in Ethanol
- α-Tocopherol-Standards in Ethanol (Stocklösung 51,53 µM):
 - 0,10735 µM
 - 0,21471 µM
 - 0,42942 µM
- Laufmittel:
 - 720 ml Methanol (s.o.)
 - 200 ml Ethanol (s.o.)
 - 180 ml Iso-Propanol (Sigma-Aldrich; 27,049-0)
 - 1,425 g Lithiumperchlorat (Sigma-Aldrich; 43,156-7)

3.3.1. α -Tocopherol-Bestimmung aus Gewebeproben

Das Gewebe wird zunächst auf Eis aufgetaut und mit einem Skalpell zerkleinert. Von dem Gewebe werden in Abhängigkeit von der Probenmenge Aliquote von etwa 50 mg mit der oben genannten Waage in Pyrexgläser abgewogen und unter Zugabe von 40 μ l Butylhydroxitoluol als Antioxidanz in 2 ml H₂O suspendiert. Nachdem dieses Gemisch mit dem Ultra-Turrax homogenisiert wurde, wird für die weitere Analyse 1 ml abgenommen und mit 1 ml Methanol vermischt. Damit sich das α -Tocopherol aus dem Gewebe lösen kann, müssen die Proben 5 Min. lichtgeschützt belassen werden, bevor 5 ml Hexan als Lösungsmittel zugegeben werden. Zusätzlich werden als interner Standard 100 μ l Δ -Tocopherol zupipettiert. Die Proben werden 1 Min. lang kräftig geschüttelt und im Anschluss daran 10 Min. bei 4°C mit 3000 rpm zentrifugiert. Von der entstandenen organischen Phase werden 4 ml in ein neues Pyrexglas überführt und im Wasserbad bei 50°C unter Stickstoff abgedampft. Die Probe wird in 1 ml Ethanol wieder gelöst, anschließend werden etwa 150 μ l der Probe mit einer 250 μ l Hamiltonspritze aufgenommen, wovon 100 μ l in den Flüssigkeits-Chromatographen injiziert und vermessen werden. Es werden nacheinander zwei Einspritzungen derselben Probe vorgenommen, um das Messergebnis zu kontrollieren. Die quantitative Auswertung der Messungen erfolgt im Vergleich mit einer in derselben Messreihe gemessenen α -Tocopherol-Standardreihe.

3.3.2. α -Tocopherol-Bestimmung aus Plasma

Zu 30 μ l Plasma werden in ein Eppendorfreaktionsgefäß 40 μ l Butylhydroxitoluol, 100 μ l Δ -Tocopherol-Standard und 500 μ l Hexan als Lösungsmittel pipettiert. Die Lösung wird auf dem Vortex 1 Min. lang gut vermischt und im Anschluss daran 3 Min. bei 4°C mit 13 000 rpm in der Biofuge fresco zentrifugiert. Nun werden von der gebildeten organischen Phase 400 μ l in ein neues Reaktionsgefäß überführt und bei Raumtemperatur unter Stickstoff-Begasung abgedampft. Anschließend wird die Probe in 300 μ l Ethanol wieder gelöst und wie oben beschrieben mit einer Hamilton-Spritze in den Flüssigkeits-Chromatographen injiziert und vermessen.

3.3.3. α -Tocopherol-Bestimmung aus Gallenflüssigkeit

Die Aufarbeitung der Gallenflüssigkeitsproben entspricht in ihrem Ablauf und in der Menge der verwendeten Lösungen der oben ausgeführten Methode der Plasmaaufarbeitung. In Anbetracht der sehr geringen Menge der vorhandenen und gewinnbaren Gallenflüssigkeit können jedoch nur etwa 3 – 5 μ l der jeweiligen Probe eingesetzt werden.

3.4. Fettsäure-Analyse

Entsprechend der Bestimmung des α -Tocopherols aus den unterschiedlichen Gewebeproben gibt es auch bei der Fettsäure-Analyse je nach Probenbeschaffenheit und –menge geringfügig unterschiedliche Methoden hinsichtlich der Probenaufbereitung. Aus diesem Grund werden auch hier die verwendeten Materialien gemeinsam aufgeführt, wonach zunächst die Fettsäure-Analyse aus Gewebeproben und anschließend die Bestimmung aus Plasma- und Gallenflüssigkeitsproben beschrieben werden.

Geräte:

- Waage: LA 120S (Sartorius); 0,1mg genau
- Ultra-Turrax (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik)
- Zentrifuge: Laboratory Centrifuges 6 K 15 (Sigma)
 - Rotor: Nr.13127; 306 g; 299/01 (Sigma)
- Gaschromatograph: Series II 5890 (Hewlett Packard);
 - Flammenionisations-Detektor: 300 °C, Helium make up Gas, 30 ml/min;
 - Auto-Sample-Loader: 6890 Series (Hewlett Packard),
Injektionsvolumen: 1 μ l;
 - Säule: DB-225, Länge 30 m, i.D. 0.25 mm, Filmdicke 0,25 μ m; (Agilent)
 - Trägergas: Helium, 40 m/s bei 70 °C, konstanter Fluss

Material:

- Pyrexgläser mit Gewinde und Deckel
- GC-vials + Einsätze und Deckel

- H₂O, LiChrosolv (Merck; 1.15333.)
- Methanol/Toluol 4:1
- Butylhydroxitoluol, 0,1 M in Ethanol (Fluka, 34750)
- Heptadecansäure (als IS), 200 µg/ml in Ethanol (Fluka; 51610)
- Cholestan (als IS), 200 µg/ml in Methanol/Toluol 4:1
- Acetylchlorid (Fluka; 00990)
- Natriumcarbonat; ca. 0,5 M in H₂O (Merck; 1.06392.0500)

3.4.1. Fettsäure-Analyse aus Gewebeproben

Der erste Abschnitt der Extraktion deckt sich mit der Probenaufarbeitung für die α -Tocopherol-Bestimmung. Das Gewebe wird zunächst auf Eis aufgetaut und mit einem Skalpell zerkleinert. Von dem Gewebe werden je nach Probenmenge Aliquote von etwa 50 mg in Pyrexgläser abgewogen und unter Zugabe von 40 µl Butylhydroxitoluol als Antioxidanz in 2 ml H₂O suspendiert. Von dem mit dem Ultra-Turrax homogenisierten Gemisch werden 100µl für die weitere Analyse abgenommen.

Es werden nun 2 ml Methanol/Toluol-Gemisch als Lösungsmittel zugegeben sowie je 100 µl Heptadecansäure- und Cholestan-Standard und 25 µl Butylhydroxitoluol. Um ein für die Umesterung der Fettsäuren benötigtes saures Milieu zu schaffen, werden anschließend unter vortexen der Lösung 200 µl Acetylchlorid zupipettiert. Die Derivatisierung der Proben erfolgt für 60 Min. bei 80°C in fest verschlossenen Pyrexgläsern. Zur Neutralisation und um eine gute Phasentrennung zu erreichen, werden nun 5 ml einer 0,5 M Natriumcarbonat-Lösung zugegeben und die Proben anschließend 5 Min. bei 4°C mit 3000 rpm zentrifugiert. Die organische Phase wird in die GC-vials abpipettiert und mit dem oben beschriebenen Gaschromatographen analysiert. Zur Kontrolle werden alle Proben zweimal gemessen. Die quantitative Auswertung der Messergebnisse erfolgt durch die interne Standard Methode.

3.4.2. Fettsäure-Analyse aus Plasma

Die Aufarbeitung und Derivatisierung der Plasmaproben entspricht in ihrem Ablauf der oben ausgeführten Methode zur Fettsäure-Analyse aus Gewebeproben. Statt der ca. 50 mg Gewebe werden 10 µl der ebenfalls auf Eis aufgetauten Plasmaprobe eingesetzt.

3.4.3. Fettsäure-Analyse aus Gallenflüssigkeit

Auch die Probenaufarbeitung zur Fettsäure-Analyse aus Gallenflüssigkeit entspricht den oben bereits ausgeführten Methoden. Die von einer Maus zu gewinnende Menge an Gallenflüssigkeit beträgt insgesamt nur 5 – 12 µl, was auf die Organgröße zurückzuführen ist. Daher können – wie auch bei der α -Tocopherol-Messung der Gallenflüssigkeits-Proben – nur kleine Mengen von etwa 3 – 5 µl Gallenflüssigkeit eingesetzt werden.

3.5. Enzymatische Plasmacholesterin-Bestimmung

Geräte:

- ELISA-Reader: Dynatech Laboratories MRX
- Microtiterplatte: Nunc, Brand Products

Material:

- Precipath-Standard (Roche; 1285874) in FPLC-Puffer:
 - 15 mg/dl
 - 7,5 mg/dl
 - 3,75 mg/dl
 - 2,5 mg/dl
 - 1,25 mg/dl
 - 0,5 mg/dl
- Cholesterin-Reagenz (Roche; 1489437):
 - 75 mM Piperazin-1,4-bis(2-ethansulfonsäure), pH 6,8
 - 10 mM Mg²⁺

- 0,2 mM Natriumchlorat
- 4-Aminophenazon $\geq 0,15$ mM
- Phenol $\geq 4,2$ mM
- 1% Fettalkoholpolyglycoether
- Cholesterinesterase (*Pseudomonas spec.*) $\geq 0,5$ U/ml
- Cholesterinoxidase (*E. coli*) $\geq 0,15$ U/ml
- Peroxidase (Meerrettich) $\geq 0,25$ U/ml
- Stabilisatoren
- Konservierungsmittel
- FPLC-Puffer:
 - 10 mM Tris, pH 8,0
 - 0,15 M NaCl
 - 10 mM EDTA
 - gefiltert mit 0,45 μ m-Filter

Methode:

Die Bestimmung des Plasmacholesterins wurde in Doppelbestimmung durchgeführt. Wegen der geringen Menge des zur Verfügung stehenden Plasmas werden die Proben zunächst im Verhältnis 1:20 mit FPLC-Puffer verdünnt. In einer Microtiterplatte werden jeweils 100 μ l verdünnter Plasmaprobe, Standard oder FPLC-Puffer als Leerwert vorgelegt. Je 200 μ l der oben aufgeführten Cholesterin-Reagenzlösung werden hinzugegeben. Während der 15 minütigen Inkubation bei Raumtemperatur wird die Microtiterplatte leicht geschüttelt. Anschließend werden die einzelnen Extinktionen photometrisch bestimmt und mit dem Leerwert abgeglichen. Die Cholesterinkonzentration ergibt sich aus dem Vergleich der ermittelten Extinktionen der Proben mit denen der Standardreihe.

3.6. Enzymatische Plasma-Triglycerid-Bestimmung

Geräte:

- ELISA-Reader: Dynatech Laboratories MRX
- Microtiterplatte: Nunc, Brand Products

Material:

- Precipath-Standard (Roche; 1285874) in FPLC-Puffer mit den Konzentrationen:
 - 18,6 mg/dl
 - 9,3 mg/dl
 - 4,63 mg/dl
 - 3,1 mg/dl
 - 1,55 mg/dl
 - 0,62 mg/dl
- Reagenz: Puffer/4-Chlorphenol/Enzyme (Roche; 1488899):
 - 50 mM Piperazin-1,4-bis(2-ethansulfonsäure), pH 6,8
 - 40 mM Mg²⁺
 - 0,2 mM Natriumchlorat
 - ATP ≥ 1,4 mM
 - 4-Aminophenazon ≥ 0,13 mM
 - 4,7 mM 4-Chlorphenol
 - 1 μM Kaliumhexacyanoferrat (II)
 - 0,65% Fettalkoholpolyglycoether
 - Lipoproteinlipase (Pseudomonas spec.) ≥ 0,5 U/ml
 - Glycerkinase (Bacillus stearothermophilus) ≥ 0,19 U/ml
 - Glycerinphosphatoxidase (E.coli) ≥ 2,5 U/ml
 - Peroxidase (Meerrettich) ≥ 0,1 U/ml
 - Konservierungsmittel
- FPLC-Puffer (s.o.)

Methode:

Der Ablauf der enzymatischen Triglycerid-Bestimmung in Plasmaproben entspricht der oben ausgeführten Methode zur enzymatischen Plasma-Cholesterin-Bestimmung, wobei lediglich ein anderes Reagenz verwendet wird.

4. Ergebnisse

Es wurden die α -Tocopherolkonzentrationen sowie die Konzentrationen verschiedener Fettsäuren in mehreren Geweben von Wildtyp- (wt-) und SR-BI knock-out-(ko-) Mäusen gemessen.

Alle hierfür verwendeten Versuchstiere waren männlich, hatten den Hintergrund C 57; Black 6 und wurden in alphabetischer Reihenfolge von E bis J benannt. Zwei der vier wt-Tiere (Maus E und F) waren drei Monate alt und entstammten nicht demselben Wurf. Die übrigen vier Mäuse entstammten einer Züchtung von SR-BI ko-Mäusen und waren sechs Monate alte Geschwister mit heterozygoten Elterntieren (Maus G und H waren wt-, Maus I und J SR-BI ko-Tiere). Alle Tiere wurden freundlicherweise von Herrn Prof. F. Rinninger zur Verfügung gestellt. Die notwendige Genehmigung zur Durchführung der Tierexperimente lag vor.

Zur Charakterisierung der wt- und SR-BI ko-Mäuse wurde im Plasma der Tiere der Gehalt an Cholesterin und Triacylglyceriden bestimmt. Außerdem wurde der Rezeptor in den Organen Leber, Hirn und Nebenniere immunologisch dargestellt. Hierfür wurden zum Teil auch andere als die oben beschriebenen Tiere E bis J verwendet.

4.1. Etablieren der Methode für die Messung von α -Tocopherol und Fettsäuren aus Gewebe

Sowohl die Messung von α -Tocopherol- als auch die Fettsäure-Analyse waren bislang lediglich für Plasmaproben etabliert. Die existierenden Arbeitsprotokolle für die Bestimmung der α -Tocopherol- und Fettsäurekonzentrationen aus Plasmaproben mussten zunächst auf die Analyse von Gewebeproben angepasst werden, um die Messung mit der Flüssigkeitschromatographie, bzw. mit der Gaschromatographie durchführen zu können.

4.1.1. Suspendieren der Gewebeproben

Da die untersuchten Gewebeproben aufgrund der jeweiligen Organstruktur nicht immer eine in sich einheitliche Struktur besaßen, wurden die Proben vor der Einwaage mit

einem Skalpell zerschnitten und zu einem homogenen Gewebe-Brei verarbeitet. Von diesem Homogenat wurden anschließend die einzelnen Proben in Pyrexgläser abgewogen.

Es musste eine Möglichkeit gefunden werden, die portionierten Gewebeproben in Flüssigkeit zu suspendieren und die enthaltenen Lipide aus dem Gewebe zu lösen.

Zu Beginn wurde versucht, das Gewebe direkt im für die folgende Extraktion verwendeten Lösungsmittel zu suspendieren. Für die α -Tocopherol-Messung handelte es sich hierbei um Hexan, bei der Fettsäure-Analyse um ein Methanol-Toluol-Gemisch im Verhältnis 4:1. Die Gewebe-Proben wurden mit dem jeweiligen Lösungsmittel versetzt und anschließend mit Hilfe eines Ultra-Turrax suspendiert. Da jedoch die Proteine, die in den Proben enthalten waren, durch Kontakt mit den organischen Lösungsmitteln denaturierten, bildete sich keine homogene Suspension. Aus diesem Grund wurden die Gewebe-Proben nicht direkt in dem später verwendeten Lösungsmittel, sondern zunächst in Wasser zu suspendiert. Mit dem Ultra-Turrax konnte nun ein deutlich homogeneres Gewebe-Wasser-Gemisch erzeugt werden, von dem für die anschließenden Analysen definierte Mengen abpipettiert werden konnten.

4.1.2. Methode der α -Tocopherol-Bestimmung

α -Tocopherol muss nicht chemisch verändert werden, um es mit der High Performance Liquid Chromatography (HPLC) zu messen, es muss lediglich aus dem Gewebe extrahiert werden. Plasmaproben wurden hierzu direkt mit dem Lösungsmittel Hexan versetzt. Vermischte man jedoch das oben beschriebene Gewebe-Wasser-Homogenat direkt mit Hexan, konnte das α -Tocopherol nicht vollständig aus dem Gewebe extrahiert werden. Dieses Phänomen lässt sich dadurch erklären, dass sich das Gewebe mit dem darin enthaltenen α -Tocopherol in der wässrigen Phase befand und der Übergang aus dem Gewebeverband in die Hexanphase somit ein temporäres Lösen in der wässrigen Phase beinhaltete, was dem α -Tocopherol als hydrophobem Molekül nicht möglich war. Daher wurde, um das α -Tocopherol aus dem Gewebe herauszulösen, zunächst Methanol zu dem Gewebe-Wasser-Gemisch hinzugefügt, damit das im Gewebe enthaltene Vitamin im Methanol gelöst werden konnte. Erst danach wurde Hexan zupipettiert, so dass bei guter Durchmischung der beiden entstehenden Phasen das α -Tocopherol nun in die organische Phase überging. Nachdem die beiden Phasen durch

Zentrifugation wieder voneinander getrennt worden sind, wurde eine definierte Menge der organischen Phase abpipettiert und bei 50 °C unter Stickstoff abgedampft. Die Bestandteile, die sich in dieser Phase befanden, wurden in Ethanol gelöst und in dieser Form mit der HPLC vermessen (siehe Arbeitsprotokoll unter 3.3.).

Um herauszufinden, welcher Anteil des im Gewebe enthaltenen α -Tocopherols durch die durchgeführte Extraktion in die Hexanphase übergeht, wurde einer Gewebeprobe eine bestimmte Menge α -Tocopherol-Standard zugegeben. Der α -Tocopherol-Gehalt der Gewebeprobe war aus einer vorangegangenen Bestimmung bekannt und die zugegebene Menge α -Tocopherol entsprach näherungsweise dem Gesamt-Gehalt der Gewebeprobe an α -Tocopherol (Tab. 1).

Tab.1a: Bestimmung des α -Tocopherol-Gehaltes im Lebergewebe einer wt-Maus

Bestimmung der α -Tocopherol-konzentration im Lebergewebe	aufbereitete Probe 1: α -Tocopherol [μ mol/ml]	Einwaage [mg]	Konzentration im Gewebe [nmol/g]	aufbereitete Probe 2: α -Tocopherol [μ mol/ml]	Einwaage [mg]	Konzentration im Gewebe [nmol/g]	Mittel [nmol/g]
		0,42	58,7	17,86	0,42	60,7	17,24

Tab. 1a

Tab.1b: Wiederfindung des α -Tocopherols durch die beschriebene Extraktionsmethode Einer dritten Gewebeprobe wurde ein α -Tocopherol-Standard zugesetzt, dessen α -Tocopherol-Gehalt dem gesamten in der Gewebeprobe enthaltenen α -Tocopherol entsprach. Auf diese Weise wurde eine Wiederfindung des α -Tocopherols bei der verwendeten Extraktionsmethode von 87,5 % bestimmt.

<u>Probe 3: Gewebe mit α-Tocopherol-Standard</u>	Einwaage [mg]	nach obigem Mittelwert im Gewebe enthaltenes α -Tocopherol [nmol]	zupettierter Standard [nmol]	gemessener α -Tocopherolgehalt der Probe [nmol]	erwarteter α -Tocopherolgehalt der Probe [nmol]	Wiederfindung
	61,9	1,07	1,03	1,84	2,10	0,875 = 87,5%

Tab. 1b

Aus diesem Versuch geht hervor, dass mit der beschriebenen Extraktionsmethode von dem zugefügten α -Tocopherol-Standard etwa 87,5 % extrahiert werden können. Dieser Wert kann auf die später erhobenen Messwerte übertragen werden, da bei allen folgenden Messungen dieselbe oben ausgeführte Extraktionsmethode verwendet wurde.

4.1.3. Methode der Fettsäure-Analyse

Um die Konzentrationen der einzelnen Fettsäuren mit dem Gaschromatographen analysieren zu können, mussten diese zunächst aus den Verbindungen gelöst werden, in denen sie physiologischerweise in Plasma und im Gewebe gebunden sind. Zusätzlich mussten die Fettsäuren in Methylester überführt werden, da ihre Konzentrationen nur in dieser Form gaschromatographisch bestimmt werden können.

Das oben beschriebene Gewebe-Wasser-Homogenat konnte hierbei in gleicher Weise verarbeitet werden wie Plasmaproben. Die Überführung der Fettsäuren aus den bestehenden Verbindungen in Methylester erfolgte in einer Umesterungs-Reaktion. Zusätzlich zu dem Methanol aus dem Lösungsmittel-Gemisch waren hierzu ein saures Milieu, sowie eine Temperatur von 80 °C nötig (vollständiges Arbeitsprotokoll sie 3.4.). Da von einigen Gewebearten nur sehr geringe Mengen zur Verfügung standen, war es notwendig zu untersuchen, in welchem Ausmaß sich die Genauigkeit der Messungen in Bezug auf geringere Probenmengen verändert. Es wurden parallel Messungen jeweils in Doppelbestimmung von ca. 25, ca. 10 und ca. 5 mg Lebergewebe durchgeführt (Abb.4).

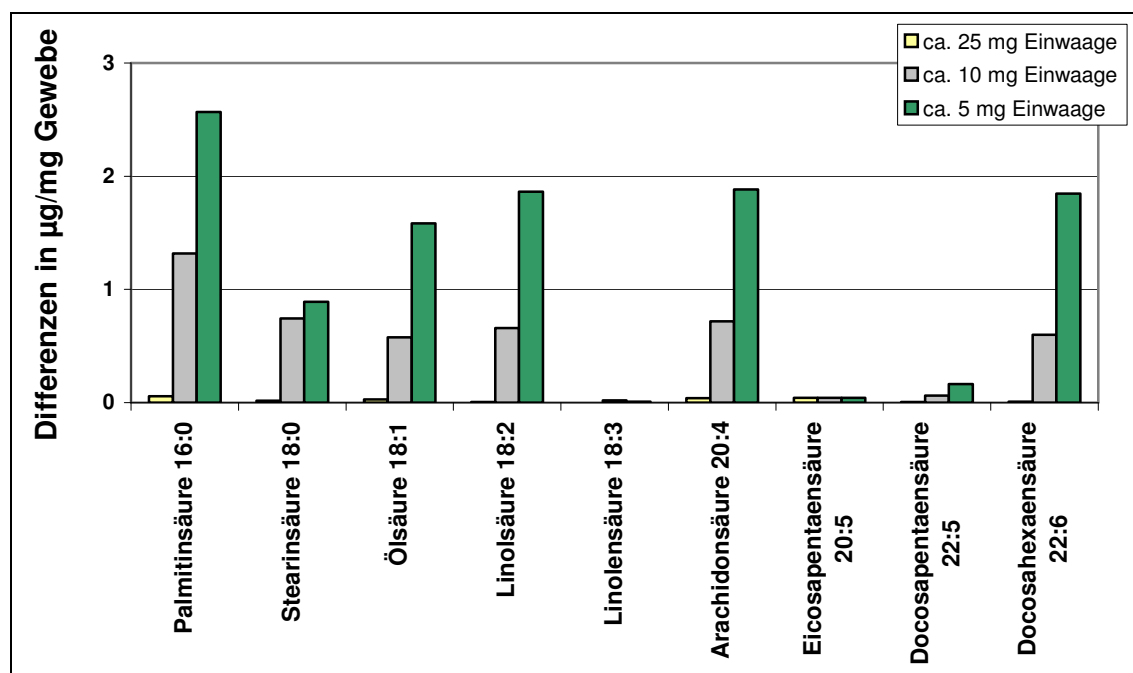


Abb.4: Genauigkeit der Fettsäure-Messung bei verschiedenen Einwaage-Mengen Es wurden unterschiedlich große Mengen (ca. 25 mg, 10 mg, 5 mg) vom Lebergewebe einer männlichen wt-Maus eingewogen und darin in Doppelbestimmung die Konzentrationen der Fettsäuren gemessen. Dargestellt sind die Differenzen zwischen den jeweiligen Doppelwerten. Die Differenz nimmt bei geringer werdender Probenmenge deutlich zu.

Wie aus der Abb.4 ersichtlich ist, vergrößern sich mit abnehmender Probenmenge die Differenzen zwischen den jeweiligen Doppelwerten deutlich.

Wenn ausreichend Gewebe zur Verfügung stand, wurden deswegen Probenmengen von ca. 50 mg verwendet. Da von kleinen Organen wie den Nebennieren oder den Nebenhoden nur wenige mg Gewebe zur Verfügung standen, wurde bei diesen Organen auf die sonst durchgeführte Doppelbestimmung verzichtet, um die Einwaagemenge so groß wie möglich zu halten und dadurch die größtmögliche Messgenauigkeit zu erzielen.

4.2. Ergebnisse der Cholesterin- und Triacylglycerid-Messungen im Plasma

Der Cholesterin- sowie der Triacylglycerid-Gehalt des Plasmas der oben beschriebenen sechs Versuchstiere wurde enzymatisch bestimmt. Die Daten dieser Messungen sind in der Tab.2 dargestellt.

Tab.2: Enzymatisch bestimmte Cholesterin- und Triacylglycerid-Konzentrationen im Plasma der vier wt- und zwei SR-BI ko-Mäuse Aus den in der Tabelle 2 dargestellten Daten ist erkennbar, dass sowohl die Konzentration von Cholesterin, als auch die der Triacylglyceride im Plasma der Mäuse keine deutlichen Unterschiede zwischen den untersuchten Kollektiven aufzeigen, die Werte aber starken interindividuellen Schwankungen unterliegen.

Mäuse	Triacylglyceride [mg/dl]	Cholesterin [mg/dl]
E (wt)	58,54	86,77
F (wt)	114,63	96,77
G (wt)	92,68	118,71
H (wt)	82,93	105,48
I (SR -BI ko)	93,17	147,42
J (SR-BI ko)	53,3	96,13
Tab.2		

In der Literatur finden sich zahlreiche Hinweise auf eine deutlich höhere Plasma-Cholesterin-Konzentration bei SR-BI ko-Mäusen im Vergleich zu wt-Tieren [u.a. M. Krieger 1999; P. Mardones et al. 2001 und 2002]. Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführte Messung von Cholesterin und Triacylglyceriden im Plasma zeigt jedoch keine Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Kollektiven. Der Grund hierfür mag darin liegen, dass die Versuchstiere vor der Blutentnahme keine vorbereitende Diät erhielten und auch nicht für eine bestimmte Zeit hungerten. So spiegeln die gemessenen Plasmakonzentrationen von Cholesterin und Triacylglyceriden hauptsächlich den Zustand nach unterschiedlich lang zurückliegender Nahrungsaufnahme wider. Auffällig sind die besonders hohen Konzentrationen der beiden Parameter im Plasma der SR-BI ko-Maus I.

4.3. Immunologischer Nachweis von SR-BI im Gewebe

Durch immunologische Methoden wurde der SR-BI in einigen Geweben dargestellt. Zum einen wurden die Membranproteine aus Hirn- und Lebergewebe von einem wt- und einem SR-BI ko-Tier im Western Blot aufgetrennt. Anschließend wurden SR-BI und Aktin auf der Blot-Membran immunologisch dargestellt. Zum anderen wurden Kryoschnitte von den Organen Leber, Hirn und Nebenniere von je einer wt- und SR-BI ko-Maus angefertigt, in denen der SR-BI ebenfalls immunologisch angefärbt wurde.

Die Auswahl der Organe liegt darin begründet, dass die Leber als bedeutendes Stoffwechselorgan und die Nebennieren als steroidproduzierendes Gewebe große Bedeutung im Lipid-Stoffwechsel haben. Das Hirn war aufgrund seiner besonderen Stoffwechsel-Situation von Interesse, da es stärker als andere Organe von dem systemischen Stoffwechsel isoliert ist.

Im Folgenden werden zunächst die Ergebnisse des Western-Blots beschrieben. Im Anschluss daran sind die immunhistologischen Schnitte dargestellt und erläutert.

4.3.1. Western Blot

Die Membranproteine aus Hirn- und Lebergewebe von einem wt- und einem SR-BI ko-Tier wurden in einem Western Blot nach ihrer Größe aufgetrennt, nachdem sie zunächst durch eine Membranpräparation von den übrigen Zellbestandteilen getrennt worden waren. Von den Proteinen des Hirns wurden Aliquote von 100 und 200 µg verwendet, von den Leberproteinen 10 µg. Auf der Blot-Membran wurden SR-BI und Aktin mit spezifischen Antikörpern markiert, welche dann mithilfe eines zweiten Antikörpers durch eine Peroxidasereaktion dargestellt wurden. Die Ergebnisse der Detektion sind in der Abb.5 dargestellt.

Mit dem verwendeten gegen SR-BI gerichteten Antikörper lässt sich der Rezeptor lediglich im Lebergewebe der wt-Maus darstellen. Alle Proben der SR-BI ko-Maus zeigen für SR-BI keinerlei Detektion, aber auch im Hirn des wt-Tieres kann der Rezeptor weder bei der geringeren noch bei der größeren Probenmenge nachgewiesen werden. Da jedoch das positive Signal im Lebergewebe zeigt, dass der SR-BI der Maus von dem verwendeten Antikörper erkannt wird, muss davon ausgegangen werden, dass der Rezeptor im Hirn der Maus nur in so geringen Mengen exprimiert wird, dass der

SR-BI auch bei 200 μg aufgetragenem Gesamtprotein im durchgeführten Western Blot nicht nachzuweisen ist.

Die Expression des SR-BI im Hirn von Mäusen konnte in anderen Blotting-Verfahren jedoch bereits gezeigt werden. So konnte die mRNA des SR-BI mithilfe eines Northern Blots im Hirn von Mäusen nachgewiesen werden [R. A. K. Srivastava, 2003]. Zuvor konnte bereits die Expression des SR-BI im Kleinhirn, sowie im Parietalcortex des menschlichen Hirnes gezeigt werden [R. A. K. Srivastava und J. C. Jain, 2002].

Bei allen aufgetragenen Proteinproben zeigt zusätzlich das Aktin ein deutliches Signal, dessen Intensität in etwa proportional zur aufgetragenen Proteinmenge ist.

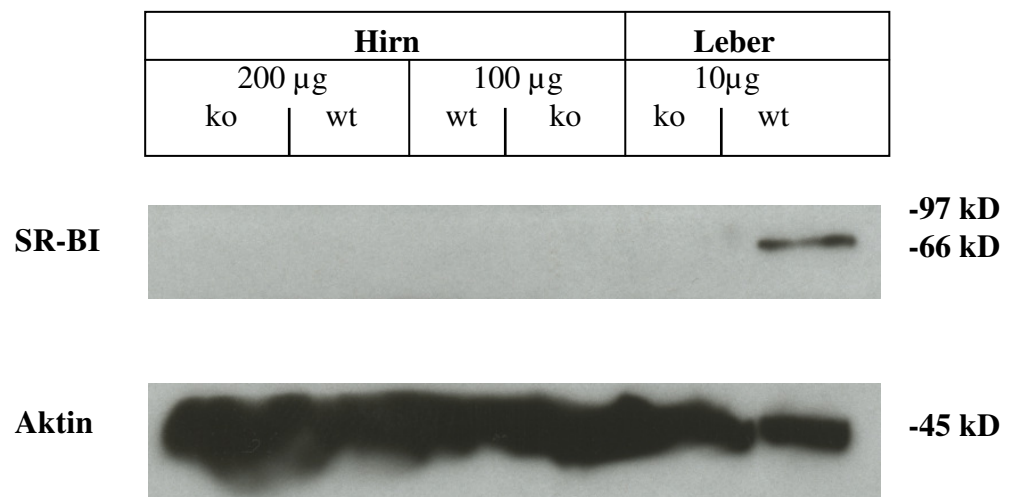


Abb.5: Membranproteine aus Hirn- und Lebergewebe im Western-Blot Von den Membranproteinen aus dem Hirn wurden 100 μg und 200 μg aufgetragen, von den Proteinen des Lebergewebes 10 μg . Die Membran des Blots wurde mit folgenden Antikörpern inkubiert: Die primären Antikörper waren gegen den SR-BI (α -SR-BI aus dem Kaninchen, 1:20000) sowie gegen Aktin (α -Aktin aus der Maus, 1:500) gerichtet. Als sekundäre Antikörper wurden Peroxidase-gekoppelte Antikörper aus der Ziege verwendet (α -Kaninchen; 1:5000 und α -Maus; 1:5000).

Aus der Abbildung ist zu ersehen, dass der SR-BI hier nur im Lebergewebe des wt-Tieres nachgewiesen werden kann, im Hirn der wt-Maus wird er nicht detektiert.

Zusätzlich kommt Aktin in allen aufgetragenen Proben zur Darstellung. Hierbei ist die Signalstärke in etwa proportional zur aufgetragenen Proteinmenge.

4.3.2. Immunhistologische Darstellung

Auf den Kryoschnitten von Lebergewebe, Nebennieren und Hirn einer wt- und einer SR-BI ko-Maus wurde der SR-BI mithilfe einer Immunfluoreszenz-Färbung mit dem grünen Fluoreszenzfarbstoff Cy2 markiert. Zudem kommen die Zellkerne aufgrund einer DAPI-Färbung blau zur Darstellung.

Die Abb.6 zeigt das auf diese Weise angefärbte Lebergewebe der beiden Tiere. Es wird deutlich, dass SR-BI im Lebergewebe in hohem Maße exprimiert wird. Besonders stark ist das Signal in den neben den Lebersinusoiden gelegenen Bereichen. Der SR-BI scheint hier auf den Oberflächen der Zellen lokalisiert zu sein. Es ist aus diesen Darstellungen letztendlich nicht zu differenzieren, welche Zellen des Lebergewebes den Rezeptor in welchem Ausmaß exprimieren, da die verschiedenen Zellpopulationen in den Abbildungen nicht eindeutig voneinander zu unterscheiden sind.

Im Lebergewebe der SR-BI ko-Maus zeigt sich erwartungsgemäß kein konkretes Cy2-Signal; die diffuse Grün-Färbung des gesamten Gewebes ist nicht auf das Vorkommen des Rezeptors, sondern vielmehr auf eine geringe Eigenfluoreszenz des Gewebes oder eine Hintergrundfärbung zurückzuführen.

Die beschriebene Lokalisation des SR-BI in den dargestellten Abbildungen der wt-Leber deckt sich mit den in der Literatur gemachten Angaben zur Expression dieses Rezeptors im Leberparenchym. Die Expression des SR-BI ist für verschiedene Zellarten des Lebergewebes beschrieben: Der Rezeptor wurde sowohl auf den Hepatozyten, als auch auf den die Lebersinusoiden auskleidenden Endothelzellen und auf den im Disse-Raum liegenden Gewebe-Makrophagen – den Kupffer'schen Sternzellen – nachgewiesen [K. Fluiter et al., 1998; L. Malerod et al., 2001].

In der Abb.7 sind die Schnitte der Nebennieren je einer wt- und SR-BI ko-Maus dargestellt. In der Abbildung 7a wird der SR-BI in der Nebenniere der wt-Maus sichtbar. Da die Nebenniere hier apikal angeschnitten wurde, entspricht der im Bild mittig gelegene Bereich, in welchem sich der SR-BI darstellen ließ, der Zona fasciculata der Nebennierenrinde. In der Abbildung 7b, in der die Nebenniere des SR-BI ko-Tieres gezeigt wird, ist wie zu erwarten kein Signal zu detektieren.

In der Literatur wird eine Expression des Rezeptors auf der Oberfläche der Nebennierenrinden-Zellen der Zona fasciculata und der Zona reticularis beschrieben [K. L. Landschulz et al., 1996; A. Rigotti et al., 2003].

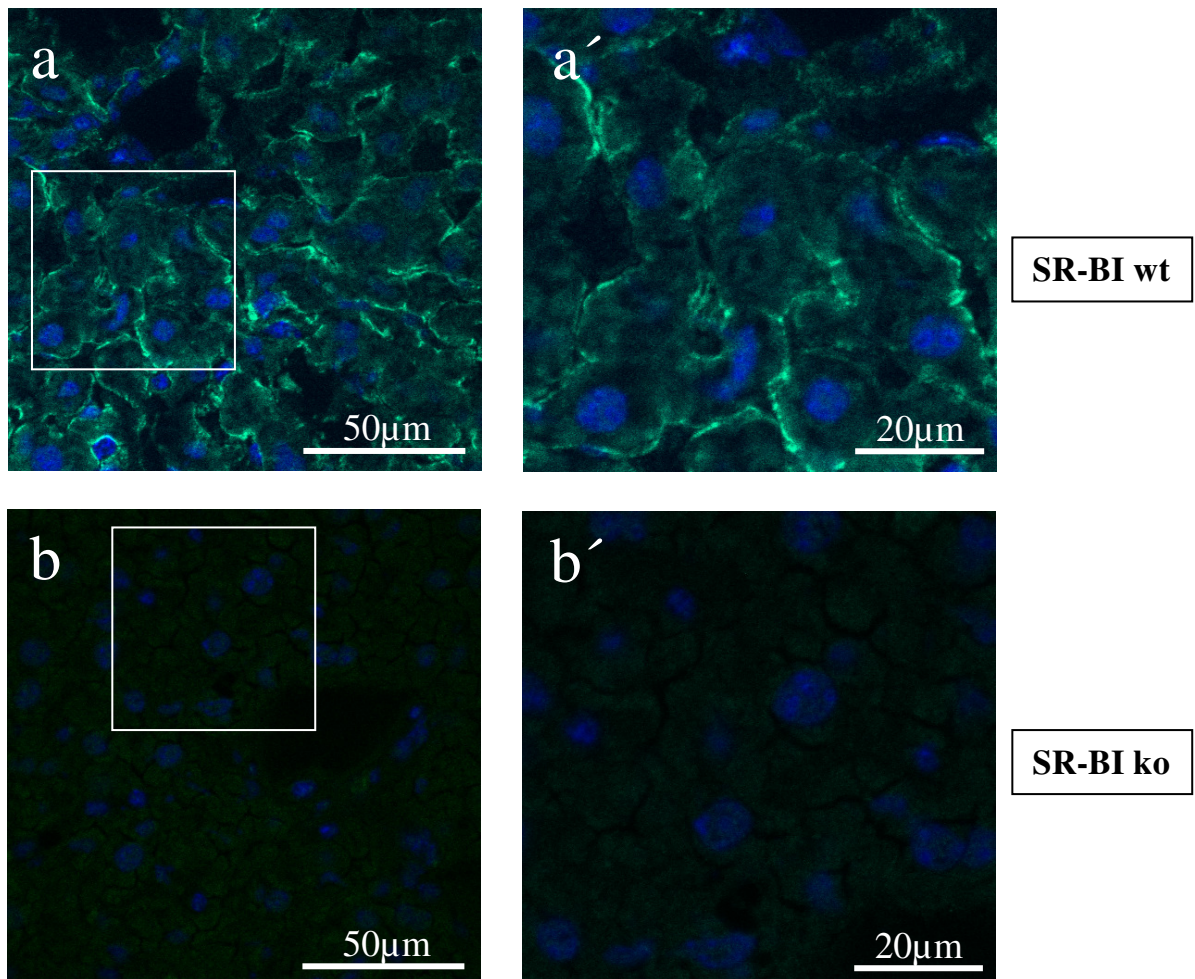


Abb.6: Lebergewebe einer wt- und einer SR-BI ko-Maus in der Immunfluoreszenzfärbung Auf den Kryoschnitten ist der SR-BI mit einem primären Antikörper aus dem Kaninchen (1:500) markiert; der sekundäre Antikörper (1:100) ist an Cy2 gekoppelt, woraus eine grüne Fluoreszenz des SR-BI resultiert. Die Zellkerne sind mit einer DAPI-Färbung (1:25000) blau angefärbt. Die mit ´ markierten Abbildungen zeigen einen Ausschnitt der jeweiligen Abbildungen a und b in höherer Vergrößerung. Es handelt sich um konfokale Aufnahmen.

Deutlich ist in den Abb.6a und a´ der SR-BI auf den die Lebersinusoiden umgebenden Zellen dargestellt. Besonders die Abb.6a´ deutet auf eine Expression des SR-BI auf den Zelloberflächen hin. In den hier gezeigten Abbildungen ist letztlich nicht zu entscheiden, ob das positive Signal für SR-BI hier auf die Endothelzellen, die Hepatozyten oder die im Disse-Raum zwischen Endothel- und Leberzellen gelegenen Zellen wie beispielsweise die Kupffer'schen Stern-Zellen zurückzuführen ist.

Im Lebergewebe der SR-BI ko-Maus ist der SR-BI nicht nachweisbar (Abb.6b und b´); die geringe diffus-grüne Färbung des Gewebes ist auf eine Eigenfluoreszenz des Gewebes oder auf eine Hintergrundfärbung zurückzuführen.

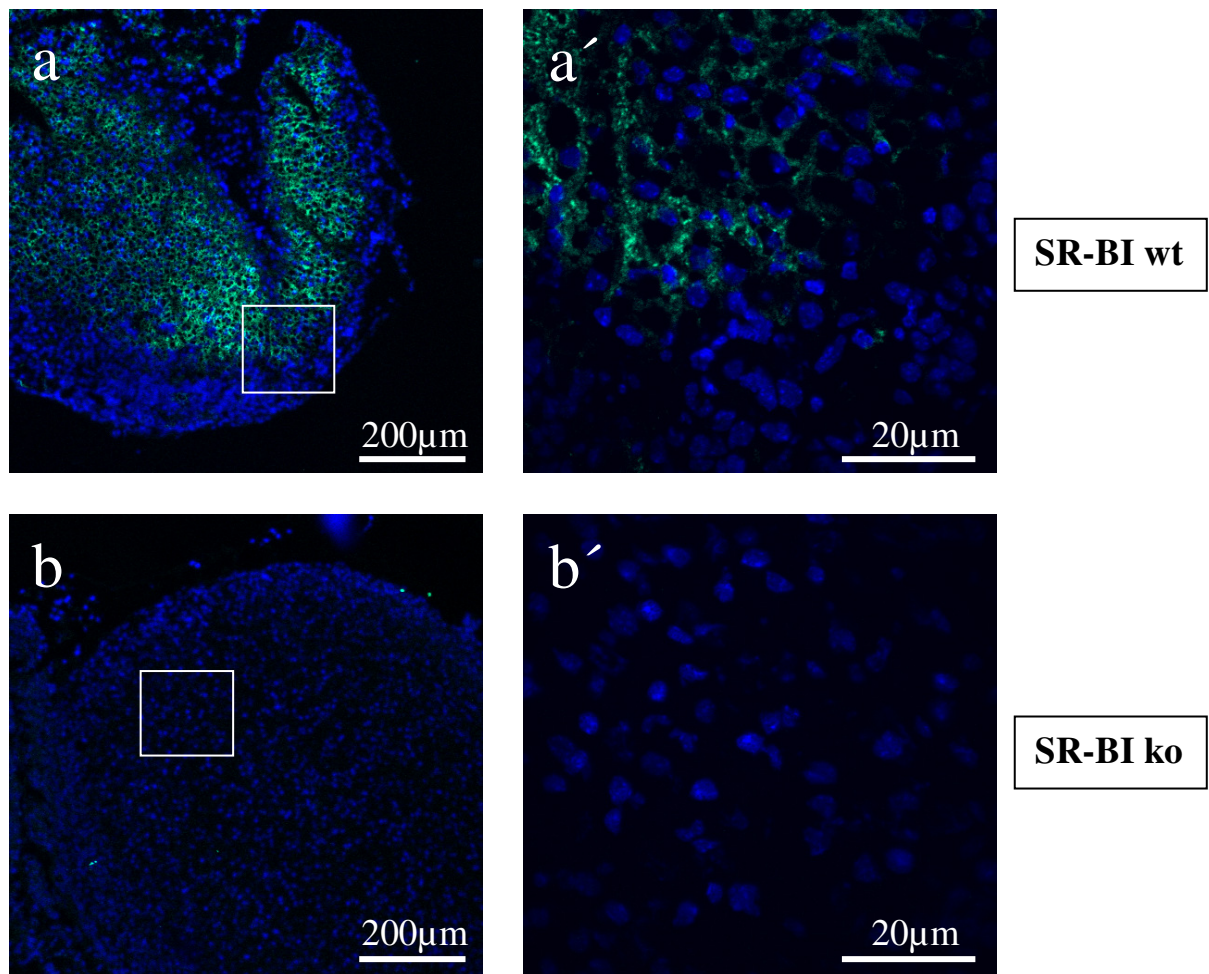


Abb.7: Nebennieren einer wt- und einer SR-BI ko-Maus in der Immunfluoreszenz-Färbung Auf den abgebildeten Kryoschnitten der Nebenniere ist der SR-BI mit einem primären Antikörper aus dem Kaninchen (1:500) markiert; der sekundäre Antikörper (1:100) ist an Cy2 gekoppelt, woraus sich eine grüne Fluoreszenz des SR-BI ergibt. Die Zellkerne stellen sich aufgrund einer DAPI-Färbung (1:25000) blau dar. Die mit ´ markierten Abbildungen zeigen einen Ausschnitt der jeweiligen Abbildungen a und b in höherer Vergrößerung. Es handelt sich um konfokale Aufnahmen.

Die Nebenniere des wt-Tieres ist apikal angeschnitten, weshalb das Nebennierenmark nicht mit abgebildet ist. Der SR-BI ist in einem Bereich der Nebennierenrinde deutlich zu erkennen, der vermutlich der Zona fasciculata entspricht (Abb.7a und a´). In der Nebenniere der SR-BI ko-Maus ist der Rezeptor erwartungsgemäß nicht nachzuweisen (Abb.7b und b´).

Die Resultate der Immunfluoreszenz-Färbung des Gehirns sind in der Abb.8 abgebildet. Dargestellt sind Zellen der Hippokampus-Region. Obwohl in der Abb.8a ein Cy2-Signal detektiert wird, kann mit den im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten immunhistologischen Färbungen eine Expression des SR-BI im Hirn der wt-Maus dennoch nicht nachgewiesen werden. In der Abb.8a ist ein Signal mit ähnlicher Intensität und Präzision im Gewebe der wt-Maus zu erkennen wie in der Abb.8b, in welcher ein Teil der Hippokampus-Region der SR-BI ko-Maus abgebildet ist. Das

positive Signal kann daher nicht auf einen real vorhandenen und markierten SR-BI zurückgeführt werden. Vielmehr ist als Ursprung dieses Signals eine stärkere Hintergrundfärbung oder eine Eigenfluoreszenz des Gewebes anzunehmen.

In der Literatur ist die Expression des SR-BI im Hirn adulter Mäuse jedoch mehrfach beschrieben (siehe auch Kapitel 4.3.1.). Unter anderem gelang der Nachweis auch mithilfe immunologischer Färbungen von Gewebeschnitten [J. Husemann und S. C. Silverstein, 2001].

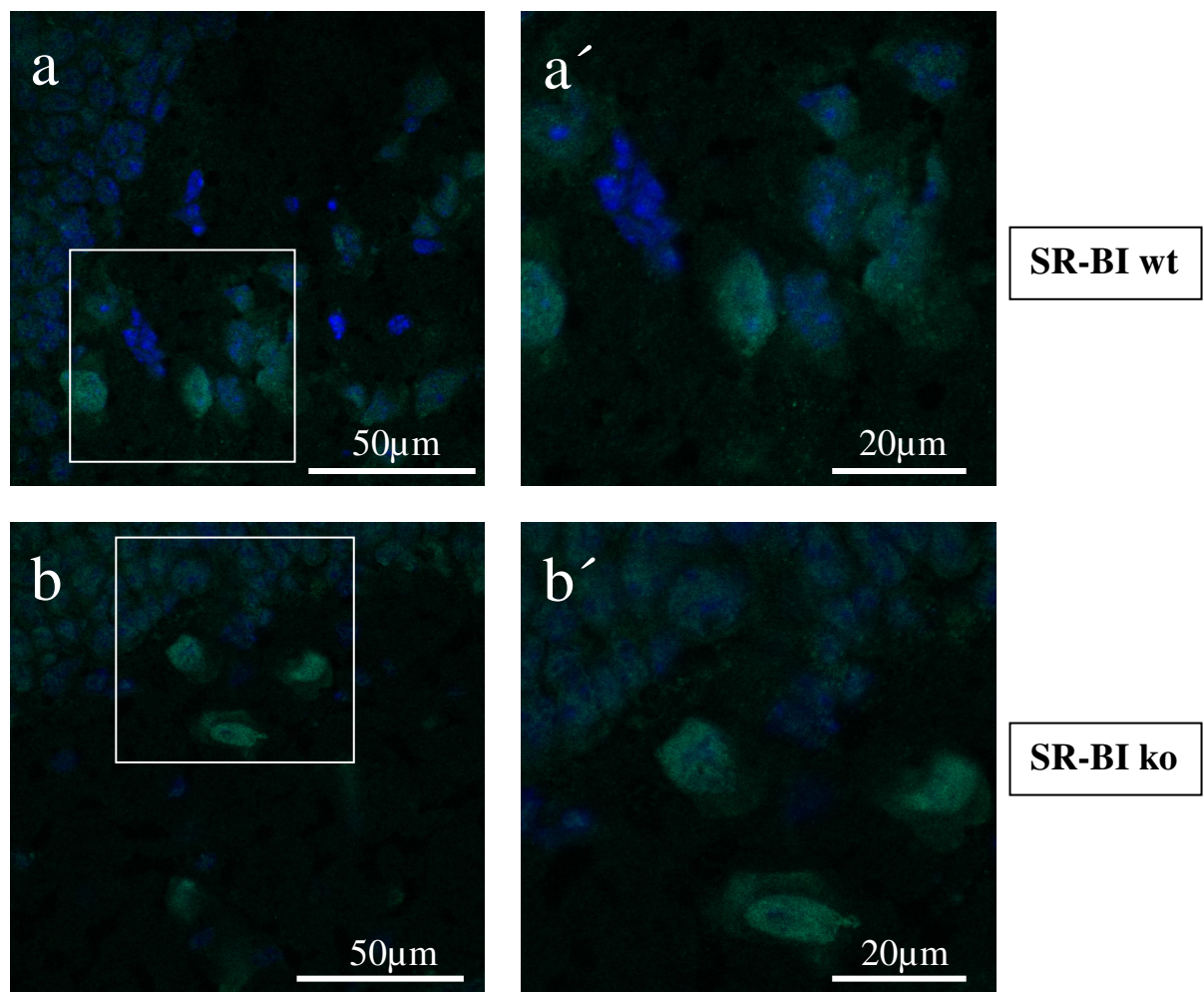


Abb.8: Hirn einer wt- und einer SR-BI ko-Maus in der Immunfluoreszenz-Färbung Auf den abgebildeten Kryoschnitten des Hirns ist der SR-BI mit einem primären Antikörper aus dem Kaninchen (1:500) markiert; der sekundäre Antikörper (1:100) ist an Cy2 gekoppelt, so dass eine grüne Fluoreszenz des SR-BI resultiert. Die Zellkerne sind aufgrund einer DAPI-Färbung (1:25000) in blau zu erkennen. Die mit ´ markierten Abbildungen zeigen einen Ausschnitt der jeweiligen Abbildungen a und b in stärkerer Vergrößerung. Es handelt sich um konfokale Aufnahmen.

In den Abbildungen sind hippokampale Zellen des Mäusehirns dargestellt. Der SR-BI kann im Hirn des wt-Tieres nicht sicher nachgewiesen werden, da sich das diffus erscheinende Signal des Cy2, mit dem der Rezeptor dargestellt werden soll, sowohl bei den Bildern der wt-Maus, als auch bei denen des SR-BI ko-Tieres in ähnlicher Intensität darstellt.

4.4. Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen

Bei den oben beschriebenen beiden SR-BI ko-Mäusen I und J, deren gleichaltrigen wt-Geschwistertieren G und H, sowie den zwei jüngeren wt-Mäusen E und F wurden die α -Tocopherolkonzentrationen in Plasma und Gallenflüssigkeit, sowie in folgenden Organen und Geweben bestimmt: Leber, Hirn, Hoden, Nebenhoden, Nebennieren, Lunge, Nieren, Milz, intraperitoneales weißes Fettgewebe, Skelettmuskel, Herzmuskel, Wand des Magens und des Dünndarms.

Die Rolle von SR-BI im Metabolismus des α -Tocopherols in einigen der in dieser Arbeit besprochenen Organe wurde von P. Mardones et al. untersucht [P. Mardones et al., 2002], die ebenfalls SR-BI ko-Mäuse mit wt-Geschwistertieren verglichen. Damals erhielten die Tiere, im Gegensatz zu den in dieser Arbeit beschriebenen Experimenten, eine mit α -Tocopherol angereicherte Diät und hungerten in der Nacht vor der Entnahme von Plasma, Gallenflüssigkeit und Geweben.

4.4.1 Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen im Plasma, in der Gallenflüssigkeit, in der Leber und im Hirn

Die Ergebnisse der α -Tocopherol-Bestimmung im Plasma, im Lebergewebe, in der Gallenflüssigkeit und im Gehirn der untersuchten Tiere sind in der Abb.9 dargestellt.

Für die Messungen der Plasmaproben fallen relativ große Schwankungen der α -Tocopherolkonzentration innerhalb der einzelnen Kollektive auf, so dass keine klare Tendenz erkennbar ist. Mardones et al. fanden bei den SR-BI ko-Mäusen erhöhte α -Tocopherol-Plasmaspiegel [P. Mardones et al., 2002].

Für Lebergewebe und Gallenflüssigkeit können keine Abweichungen erkannt werden, während die α -Tocopherolkonzentration im Hirn der SR-BI ko-Tiere tendenziell etwas niedriger ist als bei den wt-Mäusen. Für die Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen im Hirn ist jedoch zu bemerken, dass die jüngeren wt-Mäuse E und F höhere Werte zeigen als die übrigen, älteren wt-Tiere. Man muss sich daher im Vergleich der beiden SR-BI ko-Tiere I und J mit dem wt-Kollektiv auf deren gleichaltrige Geschwistertiere G und H beschränken, da innerhalb des wt-Kollektivs von SR-BI unabhängige, altersbezogene Unterschiede zu bestehen scheinen. Aber auch im alleinigen Vergleich

mit den gleichaltrigen wt-Geschwistertieren zeigen die SR-BI ko-Mäuse eher niedrigere α -Tocopherolkonzentrationen.

Für die Organe Leber und Hirn kamen Mardones et al. zu ähnlichen Ergebnissen, in der Gallenflüssigkeit der SR-BI ko-Tiere zeigte sich nach der damals durchgeführten Diät jedoch eine um ca. 74 bis 81 % niedrigere α -Tocopherolkonzentration als in den Vergleichsdaten der wt-Mäuse [P. Mardones et al., 2002].

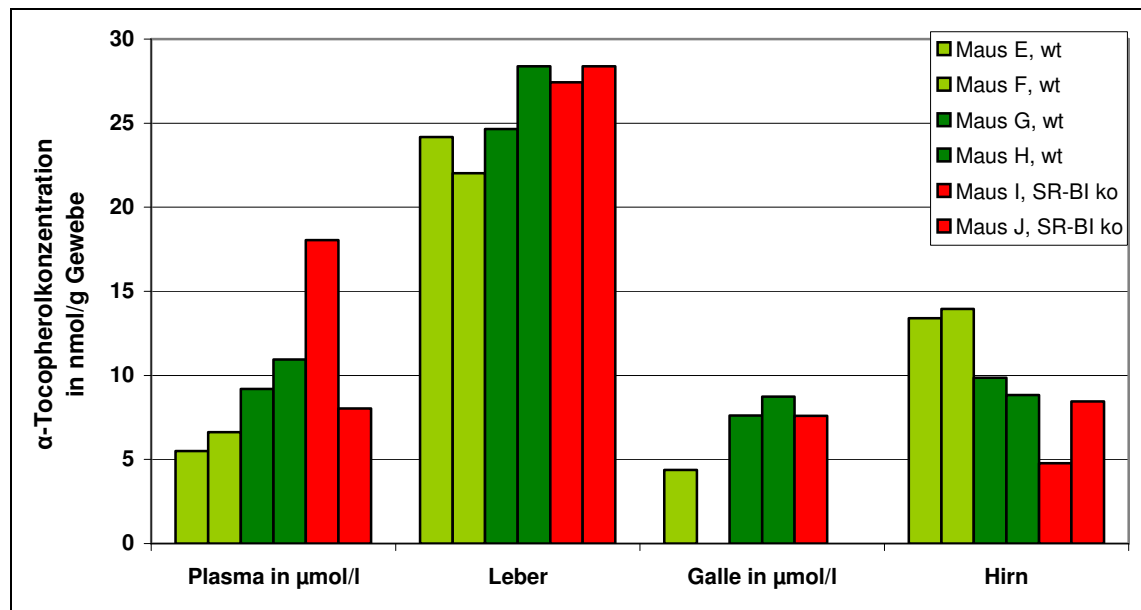


Abb.9: α -Tocopherolkonzentration in Plasma, Leber, Gallenflüssigkeit und Hirn von vier wt- und zwei SR-BI ko-Mäusen dargestellt in nmol/g Gewebe, bzw. $\mu\text{mol/l}$ Plasma oder Gallenflüssigkeit. Von der wt-Maus F und der SR-BI ko-Maus J standen keine Gallenflüssigkeitsproben zur Verfügung. Die Probenmenge vom Plasma der Tiere E und F sowie von der Gallenflüssigkeit war so gering, dass hier lediglich Einfachbestimmungen durchgeführt wurden. Die Plasmawerte der übrigen Tiere wurden in Doppelbestimmung ermittelt, von den Geweben Leber und Hirn wurden Vierfachbestimmungen durchgeführt.

Während sich die α -Tocopherolkonzentration im Lebergewebe und in der Gallenflüssigkeit der SR-BI ko-Tiere nicht deutlich von den Werten der wt-Mäuse unterscheiden, zeigt die Graphik eine höhere α -Tocopherolkonzentration für die SR-BI ko-Maus I im Plasma ebenso wie eine niedrigere α -Tocopherolkonzentration im Hirn dieser SR-BI ko-Maus. Die zweite SR-BI ko-Maus J unterscheidet sich nicht auffallend von den vier wt-Tieren.

Es wird deutlich, dass Unterschiede auch zwischen den einzelnen Tieren des wt-Kollektivs vorhanden sind. So haben die jüngeren wt-Mäuse E und F im Vergleich zu den älteren wt-Mäusen G und H eine geringere α -Tocopherolkonzentration im Plasma und eine höhere α -Tocopherolkonzentration im Hirn.

Im Lebergewebe und in der Gallenflüssigkeit ist die Streubreite der Messwerte geringer.

4.4.2. Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen in den Hoden, den Nebenhoden und in den Nebennieren

Abb.10 zeigt die α -Tocopherolkonzentrationen in den Hoden, den Nebenhoden und in den Nebennieren der vier wt- und zwei SR-BI ko-Mäuse.

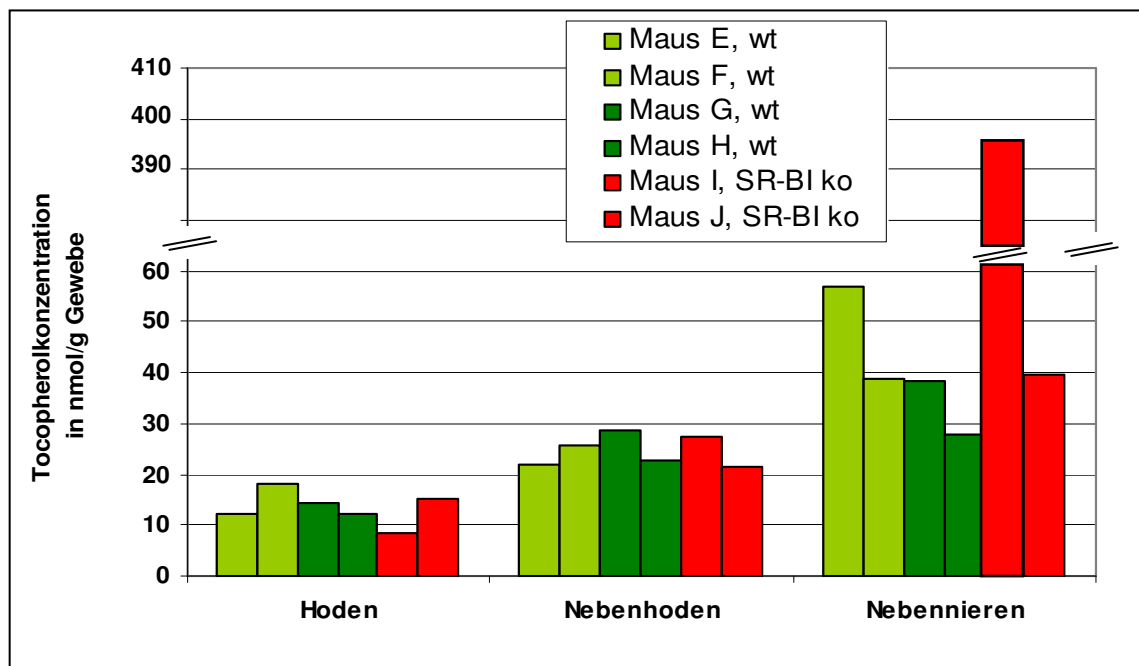


Abb.10: α -Tocopherolkonzentration im Hoden, Nebenhoden und in den Nebennieren von vier wt- und zwei SR-BI ko-Mäusen dargestellt in nmol/g Gewebe Die α -Tocopherolkonzentration im Hodengewebe sowie in den Nebenhoden von Maus E und F wurden in Doppelbestimmung gemessen; wegen der geringen Probenmenge wurden die übrigen Ergebnisse in Einfachbestimmung ermittelt.

Es zeigt sich, dass die Unterschiede der Werte zwischen den einzelnen Mäusen bei den Hoden und Nebenhoden nur gering ausgeprägt sind, wohingegen in den Nebennieren große interindividuelle Unterschiede in der α -Tocopherolkonzentration bestehen und sich besonders der Wert der Maus I deutlich von den übrigen Werten abhebt. Gravierende Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren sind nicht zu erkennen.

Die α -Tocopherolkonzentrationen im Hodengewebe und in den Nebenhoden zeigen keine großen Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren. Zudem ist aus der Abb.10 ersichtlich, dass die Streuung der gemessenen Werte sowohl beim Hodengewebe, als auch bei den Nebenhoden in Relation zu anderen Gewebearten gering ausfällt.

Bei der Messung der α -Tocopherolkonzentration in den Nebennieren fällt das Ergebnis für die SR-BI ko-Maus I um ein Vielfaches höher aus, als bei allen anderen Tieren. Die

Messergebnisse sind hier so uneinheitlich, dass eine klare Aussage über mögliche SR-BI-abhängige Veränderungen nicht möglich ist.

Mardones et al. kamen in ihren Messungen der α -Tocopherolkonzentration im Hodengewebe zu dem Ergebnis, dass der Gehalt an α -Tocopherol in den Hoden der SR-BI ko-Mäuse im Vergleich zu den wt-Tieren niedriger sei. Dieser Unterschied zwischen den Kollektiven stellte sich in den Messungen von Mardones mit ca. 77 % sehr deutlich dar [P. Mardones et al., 2002]. Die Organe Nebenhoden und Nebennieren wurden von Mardones et al. nicht untersucht.

4.4.3. Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen in der Lunge, den Nieren, der Milz und im weißen Fettgewebe

Die Ergebnisse aus den α -Tocopherol-Messungen in der Lunge, den Nieren, der Milz und dem intraperitonealen, weißen Fettgewebe sind der Abb.11 zu entnehmen.

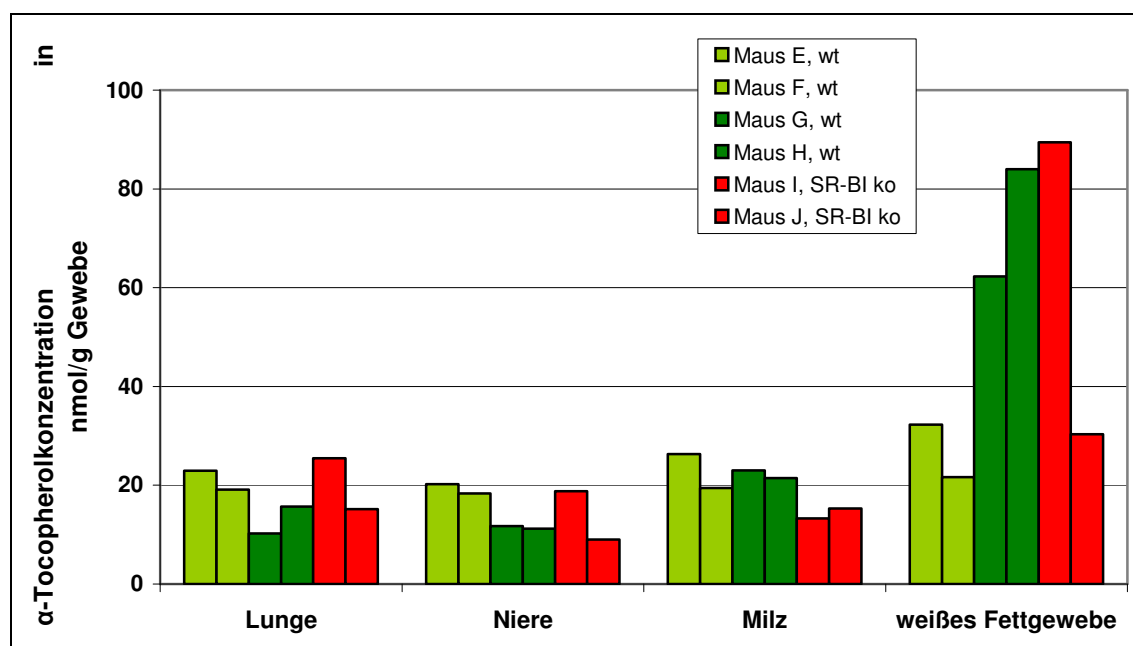


Abb.11: α -Tocopherolkonzentration in Lungengewebe, Niere, Milz und weißem Fettgewebe von vier wt- und zwei SR-BI ko-Mäusen dargestellt in nmol/g Gewebe Die für diese Darstellungen verwendeten Werte wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Erkennbar ist, dass im intraperitonealen weißen Fettgewebe insgesamt eine deutlich höhere α -Tocopherolkonzentration vorhanden ist als in den anderen hier dargestellten Organen. Die Unterschiede zwischen den einzelnen Tieren erscheinen hier relativ groß, während die interindividuellen Schwankungen innerhalb der Kollektive im Milzgewebe besonders gering sind.

Deutlich niedrigere α -Tocopherolkonzentrationen zeigt das Milzgewebe beider SR-BI ko-Mäuse im Vergleich zu den vier wt-Tieren. Die SR-BI ko-Maus I weist in der Lunge, der Niere und im Fettgewebe durchgehend einen relativ hohen α -Tocopherol-Gehalt auf.

Mardones et al. erhielten sowohl für das Lungen- als auch für das epididymale Fettgewebe signifikant niedrigere Werte in den SR-BI ko-Tieren als in den wt-Vergleichsmäusen. In den Nieren sowie im Milzgewebe stellten sie keine Änderungen fest [P. Mardones et al., 2002].

Im weißen Fettgewebe fällt auf, dass die α -Tocopherolkonzentrationen eine relativ große Streubreite aufweisen. Des Weiteren ist erkennbar, dass die Konzentration des α -Tocopherols im Fettgewebe bei den älteren Tieren G bis J höher ist als bei den beiden nur drei Monate alten wt-Mäusen E und F. Wie die Abb.11 zeigt, sind in den Nieren und in den Lungen keine relevanten Unterschiede des α -Tocopherol-Gehaltes zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren feststellbar.

Im Milzgewebe der SR-BI ko-Mäuse stellt sich die α -Tocopherolkonzentration in Relation zu den in den wt-Tieren gemessenen Werten deutlich niedriger dar. Es fällt außerdem auf, dass die interindividuellen Unterschiede bei den Messergebnissen des Milzgewebes besonders gering sind.

4.4.4. Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen in der Skelettmuskulatur, dem Herzmuskel und der Wand des Magens und des Dünndarmes

Die α -Tocopherolkonzentrationen im Skelettmuskel, im Herzmuskel, sowie in der Wand des Magens und des Dünndarmes sind in Abb.12 dargestellt.

Die Streubreite der Messergebnisse ist bei den in der Abb.12 dargestellten Geweben im Vergleich zu anderen bereits gezeigten Organen relativ groß. Der α -Tocopherol-Gehalt in den hier gezeigten Geweben der SR-BI ko-Maus I ist deutlich höher als bei den anderen Tieren. Diese Tendenz war zuvor bereits im Plasma, in der Lunge, den Nieren, im intraperitonealen Fettgewebe und in den Nebennieren zu erkennen.

Da sich zumindest die SR-BI ko-Maus J nicht von den wt-Tieren unterscheidet, sind aufgrund des kleinen Kollektivs aus dieser Abbildung für die Skelettmuskulatur und den Herzmuskel, sowie für die Wand des Magens und des Dünndarmes keine generellen Unterschiede zwischen den wt- und den SR-BI ko-Mäusen zu erkennen.

Für die in der Abb.12 dargestellten Gewebearten lagen keine Daten von Mardones et al. vor, so dass kein Vergleich mit zuvor erhobenen Ergebnissen möglich ist.

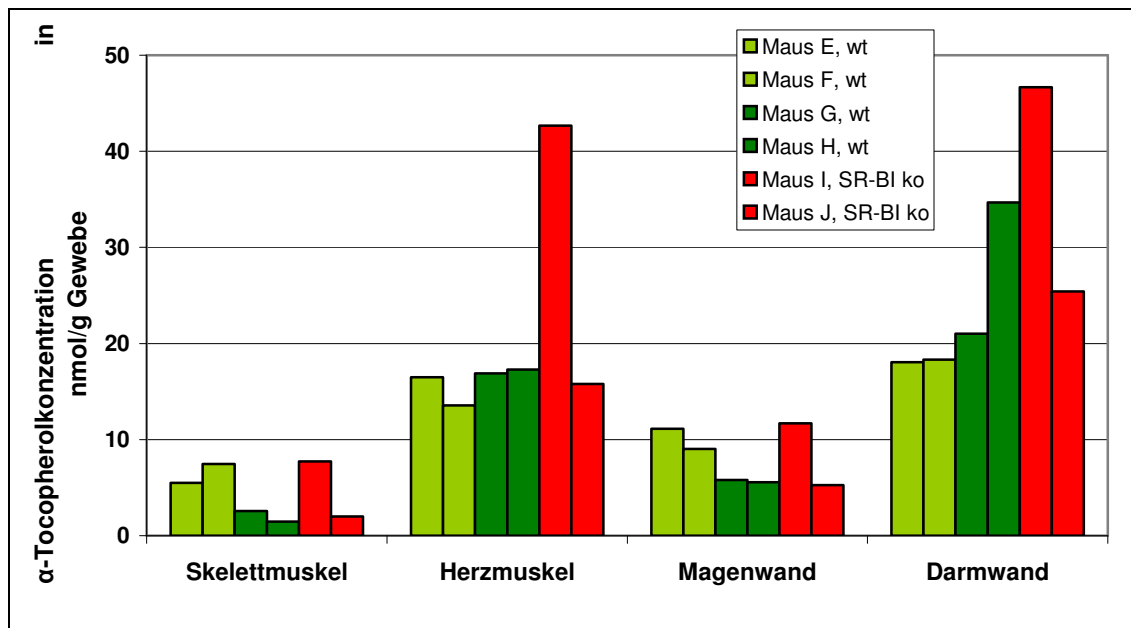


Abb.12: α -Tocopherolkonzentration in Skelettmuskel, Herzmuskel, Magen und Darm von vier wt- und zwei SR-BI ko-Mäusen dargestellt in nmol/g Gewebe Die für diese Abbildung verwendeten Werte wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Deutlich fällt auf, dass die SR-BI ko-Maus I in allen in dieser Abbildung dargestellten Gewebearten einen etwa um den Faktor 2 höheren α -Tocopherol-Gehalt zeigt als die andere SR-BI ko-Maus J und sich auch von den vier wt-Mäusen deutlich unterscheidet. Die Daten der anderen SR-BI ko-Maus J weichen hingegen nicht von denen der gleichaltrigen wt-Tiere G und H ab. Auffällig ist der höhere α -Tocopherol-Gehalt im Skelettmuskel und der Magenwand der jüngeren wt-Mäuse E und F im Vergleich zu den beiden älteren wt-Tieren G und H.

4.4.5. Zusammenfassende Erläuterung der Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen aller untersuchten Gewebearten

Die Abb.9 bis 12 zeigen, dass bei einigen Geweben die SR-BI ko-Maus I bedeutend höhere α -Tocopherolkonzentration aufweist als die übrigen Tiere. Dies gilt besonders für die Nebennieren, das Plasma, den Herz- und Skelettmuskel und für die Wand von Magen und Dünndarm.

In den meisten untersuchten Gewebearten ist aus den oben dargestellten Messergebnissen kein genereller Unterschied zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren zu erkennen.

In einigen Geweben scheint aber ein tendenzieller Unterschied im α -Tocopherol-Gehalt zwischen SR-BI ko-Mäusen und ihren wt-Vergleichstieren zu bestehen. So zeigen die SR-BI ko-Mäuse in den Organen Milz und Hirn eine niedrigere α -Tocopherolkonzentration als die wt-Tiere.

4.5. Ergebnisse der Fettsäure-Messungen

Für die Messung der Fettsäurekonzentrationen wurden dieselben Gewebeproben der zwei SR-BI ko-Mäuse I und J und der vier wt-Vergleichstiere E, F, G und H verwendet wie bei der unter 4.4. ausgeführten α -Tocopherol-Bestimmung.

Bei einigen Geweben fällt ein zum Teil beträchtlicher Unterschied zwischen den 3 Monate alten wt-Mäusen E und F und den mit 6 Monaten älteren wt-Tieren G und H auf. Deswegen können für diese Gewebearten die Ergebnisse der SR-BI ko-Mäuse I und J, die ebenfalls 6 Monate alt waren, lediglich mit den Werten der gleichaltrigen wt-Geschwistertiere G und H verglichen werden.

Im Folgenden werden die Messergebnisse für die untersuchten Gewebe jeweils einzeln beschrieben.

4.5.1. Ergebnisse der Fettsäure-Messungen im Plasma, in der Gallenflüssigkeit, in der Leber und im Hirn

Die Plasmakonzentrationen der einzelnen Fettsäuren sind in der Abb.13 dargestellt.

Im Plasma der untersuchten Mäuse werden im Vergleich der SR-BI ko-Tiere mit deren wt-Geschwistertieren kaum Unterschiede deutlich. Lediglich die Arachidonsäure ist im Plasma der SR-BI ko-Mäuse etwas höher konzentriert als im Plasma der wt-Tiere. Außerdem ist die Eicosapentaensäure im Plasma der jüngeren wt-Tiere E und F deutlich höher konzentriert als im Plasma der älteren wt-Mäuse G und H.

Die Abb.14 zeigt die gemessenen Fettsäurekonzentrationen in der Gallenflüssigkeit der SR-BI ko-Maus I in Relation zu den drei wt-Tieren E, G und H. Von den Mäusen F und J konnte keine Gallenflüssigkeit gewonnen werden.

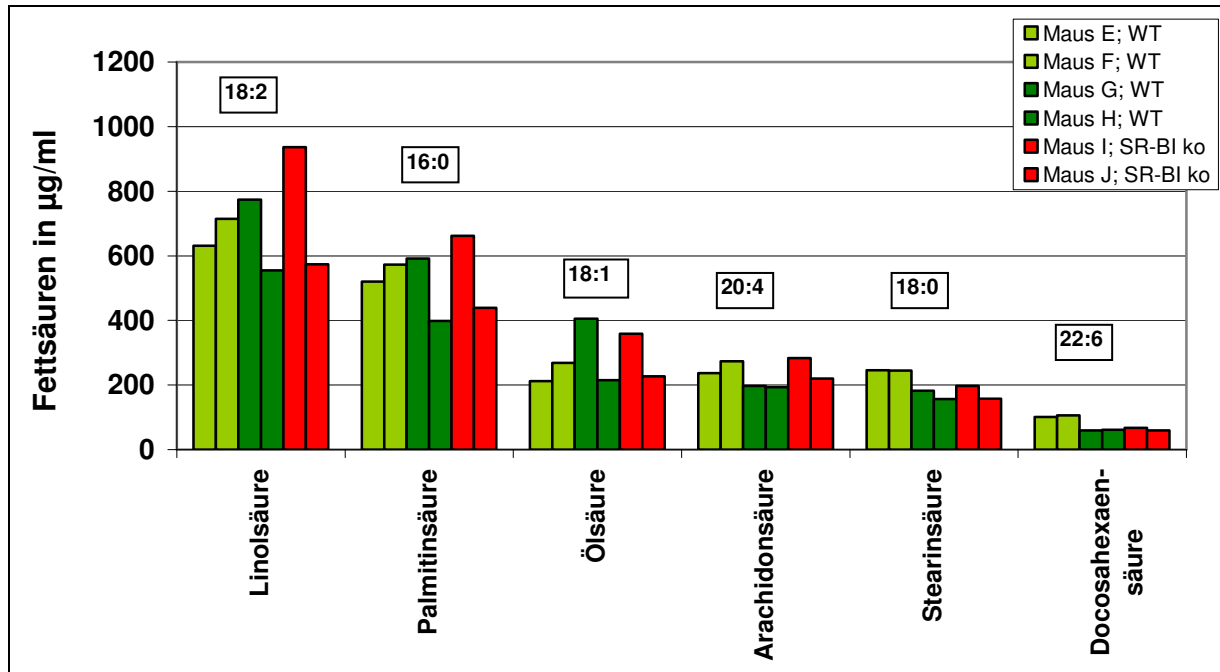


Abb.13a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Plasma von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen. Es zeigen sich keine deutlichen Unterschiede zwischen den Daten der in hohen Konzentrationen im Plasma der Mäuse vorhandenen Fettsäuren beim Vergleich der beiden Kollektive. Lediglich die Arachidonsäure erscheint im Plasma der beiden SR-BI ko-Mäuse I und J etwas höher als im Plasma der gleichaltrigen wt-Geschwisteriere G und H.

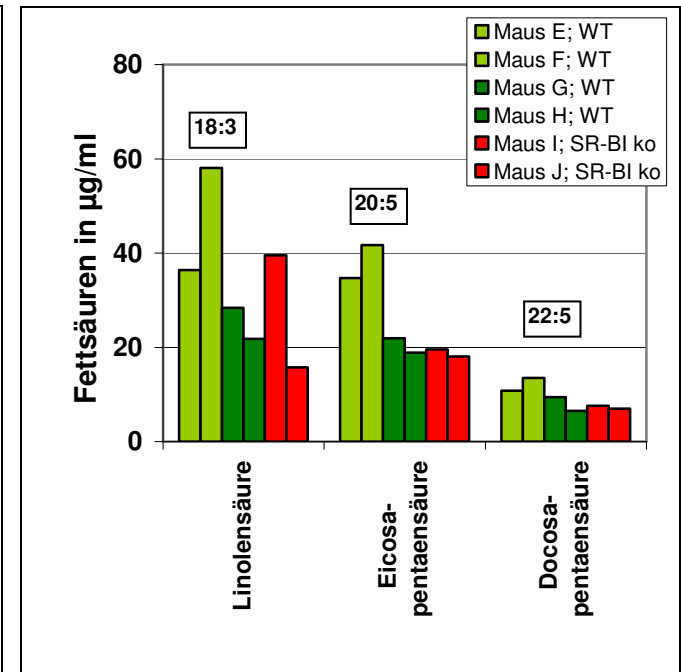


Abb.13b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Plasma von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben. Bei den in geringer Konzentration im Plasma vorkommenden Fettsäuren fällt auf, dass die Eicosapentaensäure im Plasma der jüngeren wt-Mäuse E und F deutlich höher konzentriert ist als im Plasma der älteren wt-Tiere G und H.

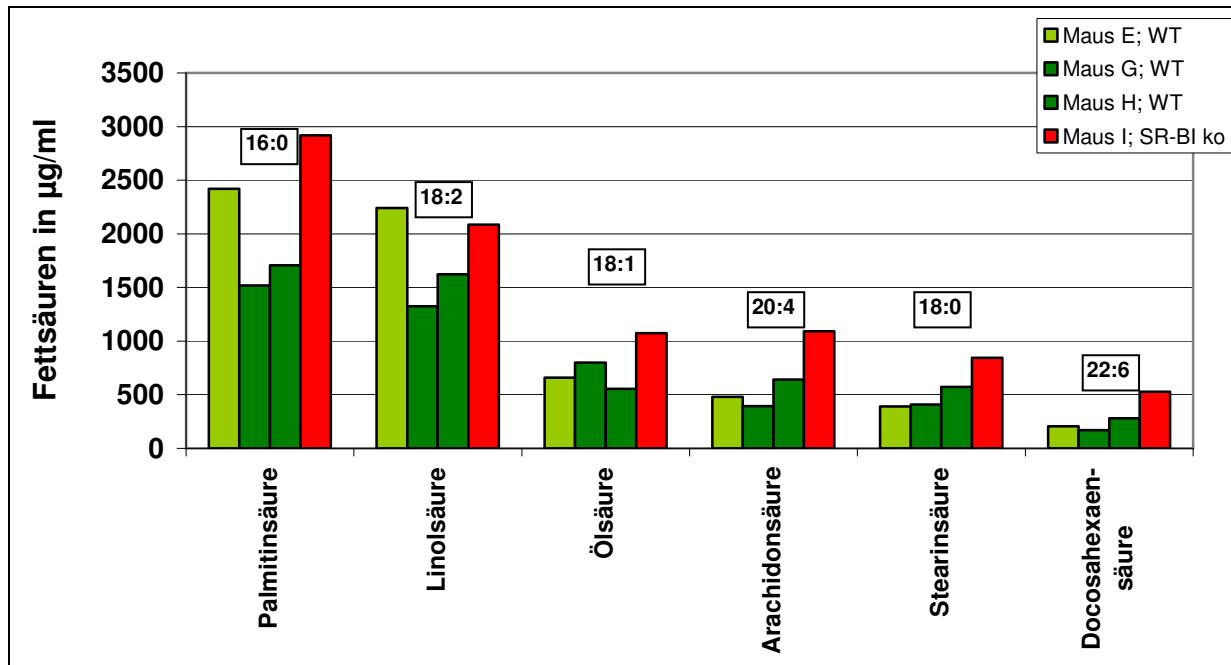


Abb.14a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Gallenflüssigkeit von drei wt-Mäusen und einer SR-BI ko-Maus

Da von zwei Versuchstieren keine und von den anderen Tieren nur eine sehr geringe Menge Gallenflüssigkeit gewonnen werden konnte, wurden die Fettsäurekonzentrationen in der Galle von nur drei wt-Tieren und einer SR-BI ko-Maus in Einfachbestimmung gemessen. Alle dargestellten Fettsäuren sind in der Gallenflüssigkeit der SR-BI ko-Maus zum Teil deutlich höher konzentriert als bei den wt-Vergleichstieren.

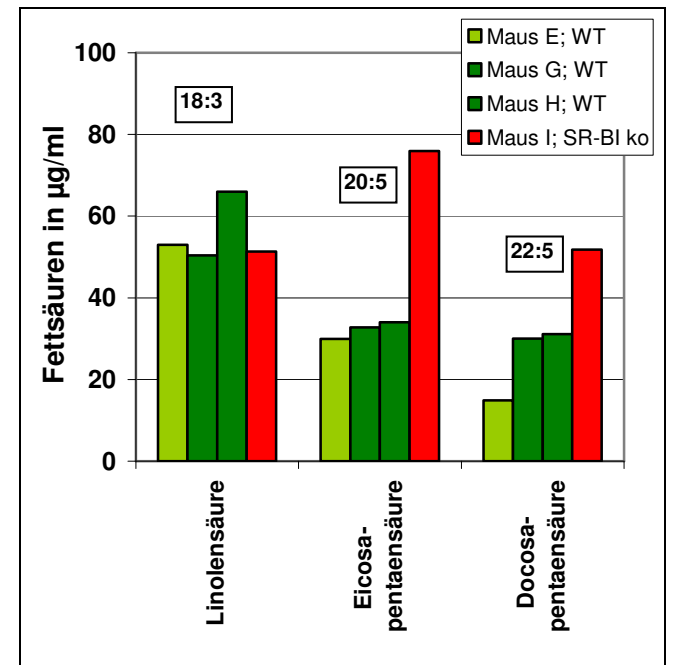


Abb.14b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Gallenflüssigkeit von drei wt-Mäusen und einer SR-BI ko-Maus Die dargestellten Ergebnisse wurden in Einfachbestimmung ermittelt.

Die Konzentration der Linolensäure zeigt keinen Unterschied zwischen der SR-BI ko-Maus und dem wt-Vergleichskollektiv. Bei der Eicosa-pentaensäure und der Docosa-pentaensäure hingegen ist der Unterschied beträchtlich. Hier liegen die Werte des SR-BI ko-Tieres etwa doppelt so hoch wie die der wt-Mäuse.

Aus der Abb.14 ist ersichtlich, dass die Konzentrationen der gemessenen Fettsäuren in der Gallenflüssigkeit der SR-BI ko-Maus teilweise bedeutend höher sind als in der Gallenflüssigkeit der wt-Tiere. Ganz besonders groß ist der relative Unterschied bei der Docosahexaensäure, bei der Eicosapentaensäure, bei der Arachidonsäure und der Docosapentaensäure, die bei der SR-BI ko-Maus I etwa doppelt so hoch konzentriert sind wie in der Gallenflüssigkeit der wt-Vergleichstiere. Ebenfalls erhöht sind die Konzentrationen der Palmitin-, der Stearin- und der Ölsäure. Im Gegensatz dazu ist der Gehalt an Linolsäure im Vergleich zu den übrigen gemessenen Fettsäuren nur leicht erhöht, während die Konzentration der Linolensäure in der Gallenflüssigkeit des SR-BI ko-Tieres sogar etwas niedriger ist als in der Galle der wt-Mäuse.

Der Abb.15 sind die Ergebnisse der Fettsäure-Messung im Lebergewebe der zwei SR-BI ko-Mäuse im Vergleich zu den im Gewebe der vier wt-Tiere gemessenen Werte zu entnehmen.

Es wird deutlich, dass die Konzentrationen der gemessenen Fettsäuren im Lebergewebe der jüngeren wt-Tiere E und F zum Teil beträchtlich höher sind als in der Leber der älteren wt-Mäuse G und H. Hingegen ist zwischen den SR-BI ko-Mäusen I und J und deren gleichaltrigen wt-Geschwistertieren G und H für keine der Fettsäuren ein deutlicher Unterschied zu erkennen.

Die Ergebnisse der Fettsäure-Analyse im Hirn der beiden SR-BI ko-Mäuse I und J und der vier wt-Mäuse E, F, G, und H sind in der Abb.16 dargestellt.

Wie die Abb.16 zeigt, sind die gemessenen Fettsäuren im Hirn der SR-BI ko-Mäuse meist in sehr ähnlichen Konzentrationen vorhanden wie im Vergleichsgewebe der wt-Tiere. Die Stearinsäure und die Linolsäure zeigen eine geringe Differenz zwischen den beiden Kollektiven.

Der Gehalt an den Fettsäuren Linol-, Linolen- und Eicosapentaensäure ist im Hirn der jüngeren wt-Mäuse E und F im Vergleich zu den älteren wt-Tieren G und H deutlich höher.

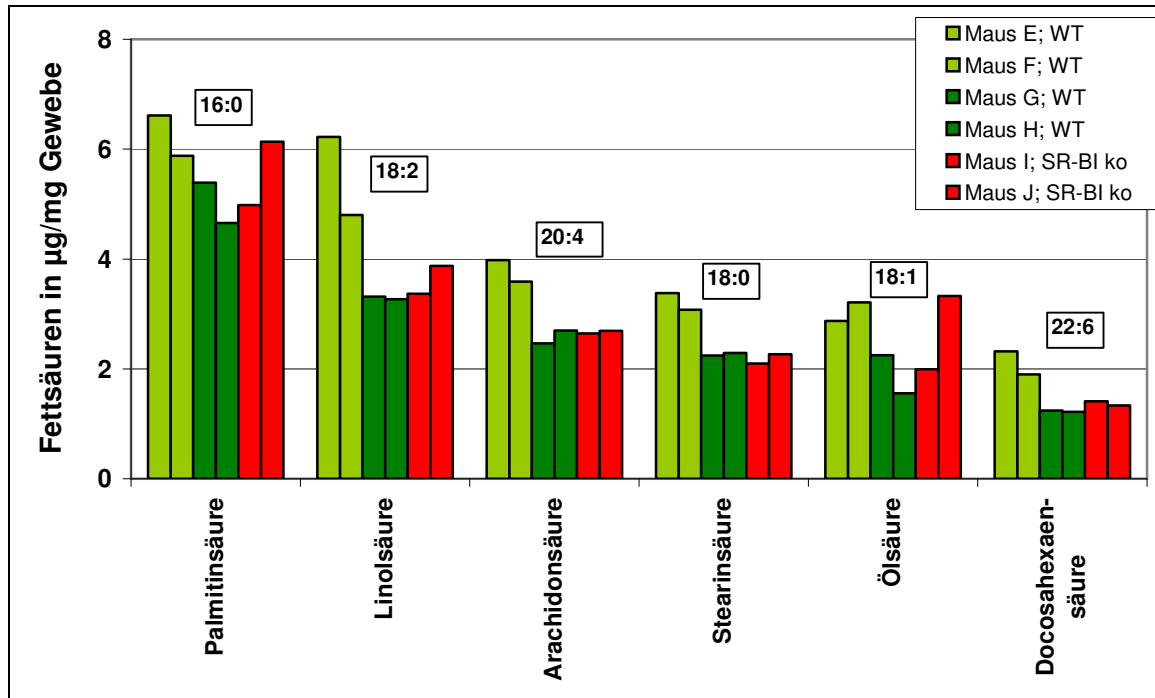


Abb.15a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Lebergewebe von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Vierfachbestimmung ermittelt.

In der Abbildung wird deutlich, dass sich die Werte der jüngeren wt-Tiere E und F zum Teil beträchtlich von denen der älteren wt-Mäuse G und H unterscheiden. Dahingegen ist zwischen den SR-BI ko-Mäusen I und J und deren gleichaltrigen wt-Geschwistertieren G und H für keine der hier dargestellten Fettsäuren ein deutlicher Unterschied zu erkennen.

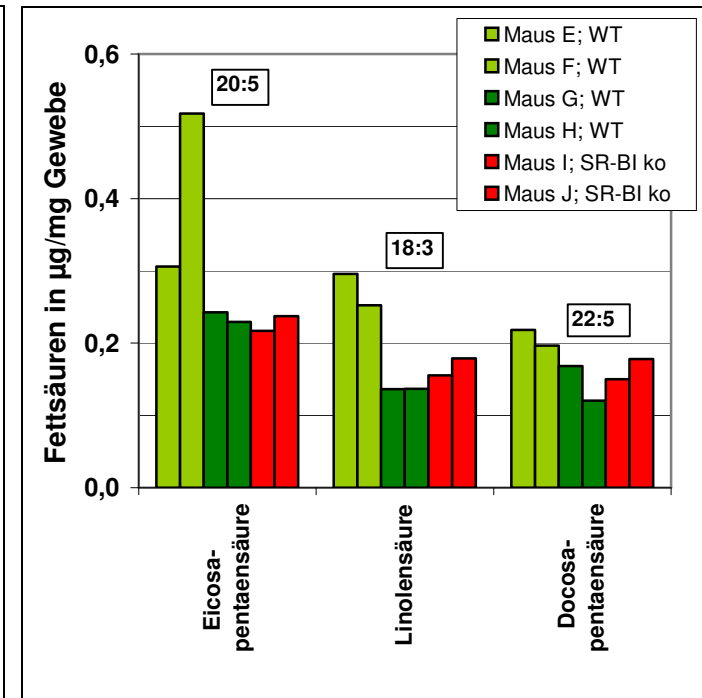


Abb.15b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Lebergewebe von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Auch für die Eicosapentaen-, die Linolen- und die Docosapentaensäure zeigt sich, dass die beiden jüngeren wt-Mäuse E und F eine höhere Konzentration dieser Fettsäuren aufweisen als die beiden älteren wt-Tiere G und H, während sich die Werte der SR-BI ko-Mäuse I und J nicht von denen ihrer gleichaltrigen wt-Geschwistertiere unterscheiden.

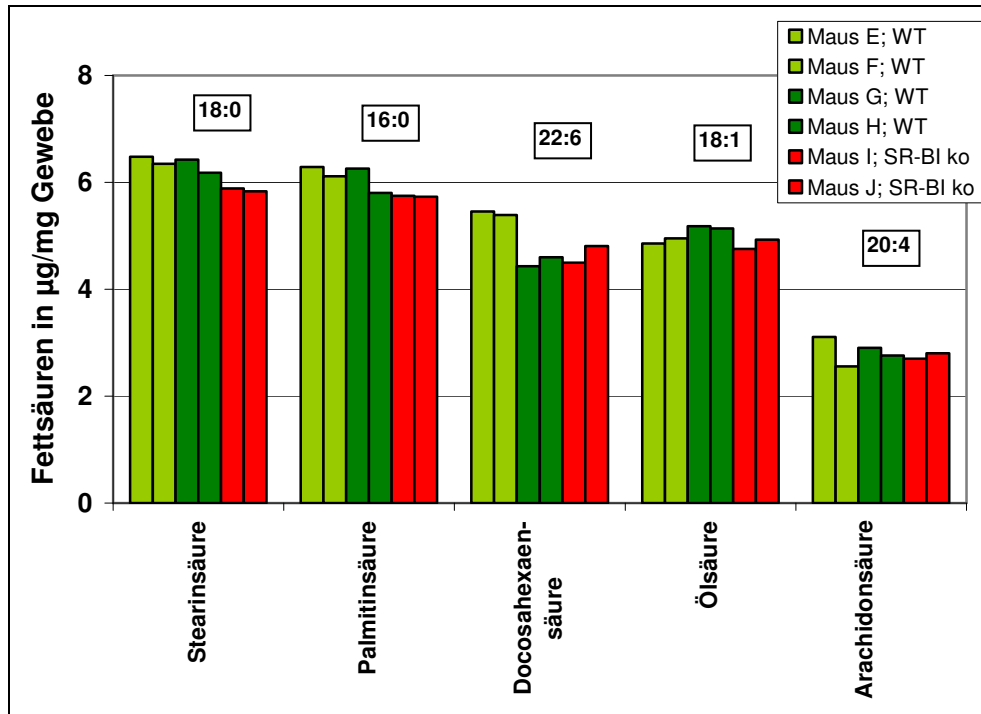


Abb.16a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Hirn von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Vierfachbestimmung gemessen. Bei den hier dargestellten Fettsäurekonzentrationen sind keine gravierenden Unterschiede zwischen den beiden SR-BI ko-Mäusen und den vier wt-Tieren erkennbar. Bei der Stearinsäure zeigt sich eine geringe Differenz zwischen den ermittelten Werten.

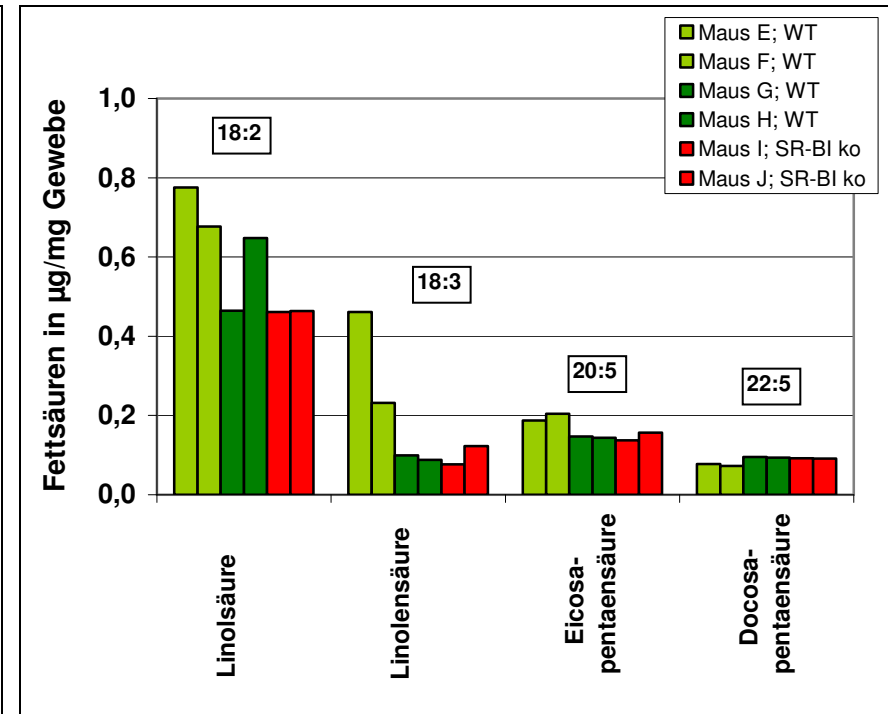


Abb.16b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Hirn von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Vierfachbestimmung ermittelt. Die Fettsäuren, die im Hirn der Mäuse nur in geringer Konzentration vorkommen, zeigen kaum Konzentrationsunterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen I und J und den gleichaltrigen wt-Geschwistertieren G und H. Der Gehalt an Linolsäure erscheint im Hirn der SR-BI ko-Tiere I und J eher geringer als im Gewebe der wt-Mäuse. Außerdem zeigt sich, dass die beiden jüngeren wt-Mäuse E und F im Hirngewebe tendenziell höhere Konzentrationen an Linol-, Linolen- und Eicosapentaensäure aufweisen als die älteren Tiere.

4.5.2. Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in den Hoden, den Nebenhoden und in den Nebennieren

Die Konzentrationen der verschiedenen gemessenen Fettsäuren im Hodengewebe der SR-BI ko-Mäuse im Vergleich zu den wt-Tieren zeigt die Abb.17.

Die meisten der gemessenen Fettsäuren kommen im Hodengewebe beider Kollektive in nahezu gleicher Konzentration vor. Es fällt allerdings auf, dass der Gehalt des Hodens der SR-BI ko-Tiere an Linolensäure deutlich geringer ist als im Hodengewebe der wt-Mäuse.

Die Ergebnisse der Fettsäure-Messungen im Nebenhoden der beiden SR-BI ko-Mäuse I und J und der vier wt-Mäuse E bis H sind in der Abb.18 dargestellt.

Wie aus der Abb.18 ersichtlich ist, sind zahlreiche Fettsäuren im Nebenhodengewebe der SR-BI ko-Mäuse in zum Teil deutlich geringerer Konzentration vorhanden, als dies in den Nebenhoden der wt-Vergleichstiere der Fall ist. So zeigen die Linol-, die Palmitin- und die Ölsäure im Vergleich zum Gewebe der vier wt-Mäuse in den Nebenhoden der beiden SR-BI ko-Tiere eine deutlich niedrigere Konzentration. Auch der Gehalt an Linolensäure ist bei den SR-BI ko-Mäusen geringer als bei den wt-Mäusen. Zusätzlich fällt auf, dass die Docosapentaensäure im Nebenhoden der jüngeren wt-Tiere E und F in geringerer, die Eicosapentaensäure hingegen in höherer Konzentration vorliegt als im Vergleichsgewebe der älteren wt-Mäuse G und H.

Die Abb.19 zeigt die Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in den Nebennieren.

Im Vergleich zu anderen untersuchten Gewebearten sind die Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren bei den Nebennieren sehr deutlich. Mit Ausnahme der beiden Fettsäuren Arachidonsäure und Eicosapentaensäure sind alle Fettsäuren im Gewebe der SR-BI ko-Mäuse zum Teil sehr viel niedriger konzentriert als im Vergleichsgewebe der wt-Tiere. Während die Konzentrationsdifferenz bei der Stearinsäure nur relativ gering ist, weisen die Palmitinsäure, die Ölsäure und die Linolsäure in ihren Konzentrationen einen deutlich größeren Unterschied zwischen den SR-BI ko- und den wt-Mäusen auf. Ebenfalls sehr viel niedriger als bei den wt-Tieren ist der Gehalt an Linolen-, Docosapentaen- und die Docosahexaensäure in den Nebennieren der SR-BI ko-Mäuse.

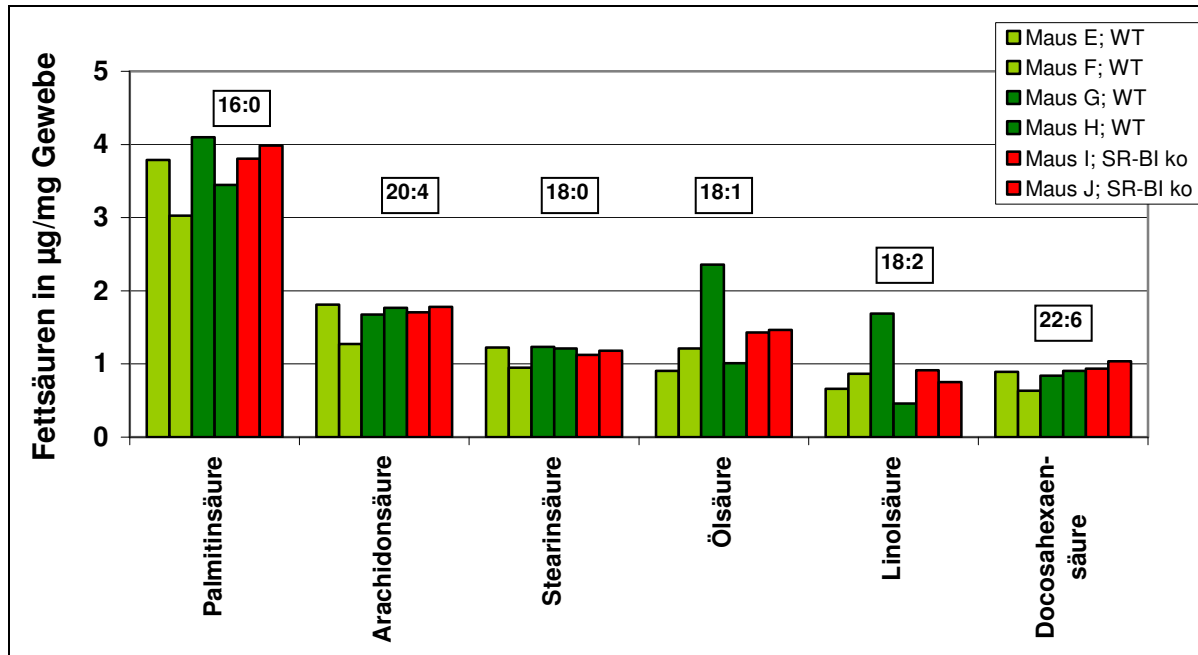


Abb.17a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Hoden von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse sind in Doppelbestimmung gemessen worden.

Aus der Abbildung ist zu ersehen, dass sich die SR-BI ko-Mäuse hinsichtlich der Konzentrationen der gehäuft im Hoden vorkommenden Fettsäuren nicht bedeutend von den wt-Vergleichstieren unterscheiden. Die wt-Maus G hebt sich von den übrigen untersuchten Tieren durch einen relativ hohen Gehalt des Hodengewebes an Ölsäure und Linolsäure ab.

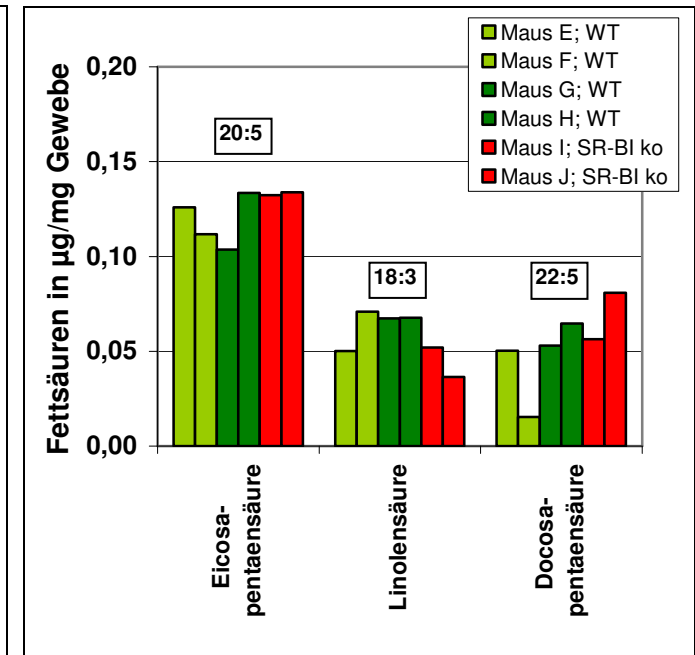


Abb.17b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Hoden von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben.

Auch in Hinblick auf die in niedrigen Konzentrationen im Hodengewebe enthaltenen Fettsäuren zeigen die Messergebnisse nur wenige gravierende Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven.

Der Gehalt des Hodens an Linolensäure ist bei den SR-BI ko-Mäusen allerdings geringer als bei den wt-Vergleichstieren.

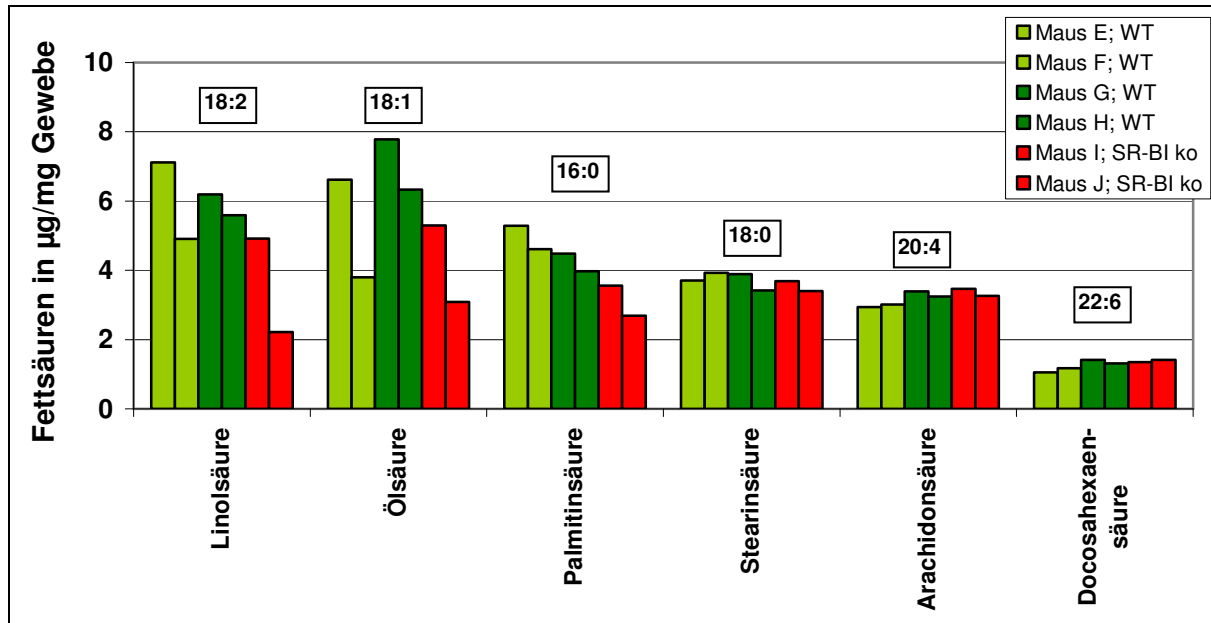


Abb.18a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Nebenhoden von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Gewebe der wt-Mäuse E und F wurden in Doppelbestimmung gemessen. Aufgrund der geringen Probenmenge wurden die übrigen Daten in Einfachbestimmung erhoben.

Es zeigt sich, dass ein Großteil der hier dargestellten Fettsäuren im Nebenhodengewebe der SR-BI ko-Mäuse eine niedrigere Konzentration aufweisen, als es bei den Nebenhoden der wt-Vergleichstiere der Fall ist. Besonders auffallend ist der Unterschied bei der Linolsäure, aber auch die Ölsäure und Palmitinsäure sind in dem Gewebe der SR-BI ko-Tiere niedriger konzentriert. Obwohl diese Tendenz für beide SR-BI ko-Mäuse zu erkennen ist, zeigt sich für die SR-BI ko-Maus J jeweils ein größerer Unterschied als für die andere SR-BI ko-Maus I.

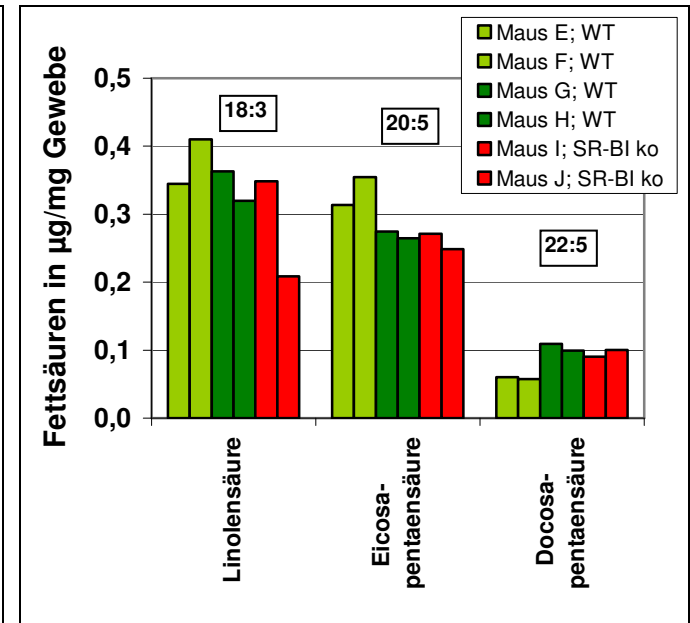


Abb.18b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Nebenhoden von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Daten der wt-Mäuse E und F wurden in Doppelbestimmung, die der übrigen Tiere in Einfachbestimmung erhoben.

Die Linolensäure ist im Gewebe der SR-BI ko-Mäuse tendenziell niedriger konzentriert als bei den wt-Tieren.

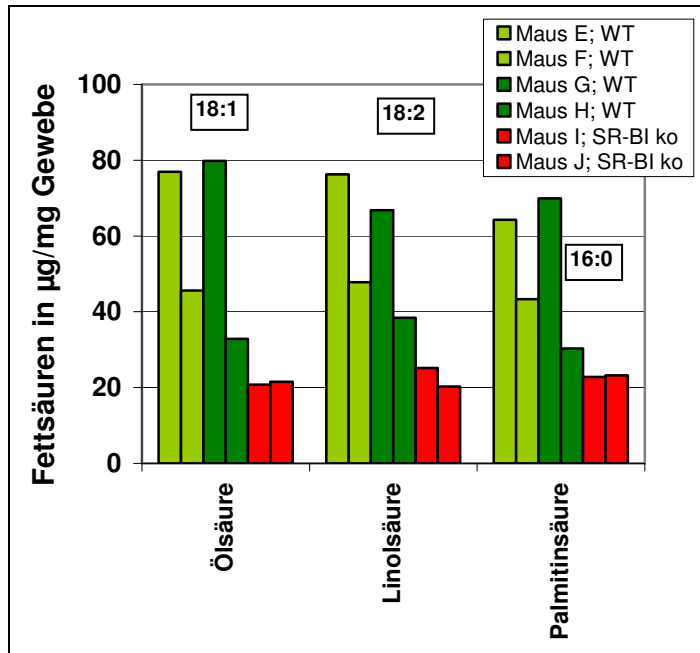


Abb.19a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in den Nebennieren von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Aufgrund der geringen Probenmenge sind die Werte in Einfachbestimmung gemessen worden.

Es zeigt sich sehr deutlich, dass die in hohen Konzentrationen in den Nebennieren vorhandenen Fettsäuren bei den SR-BI ko-Mäuse erheblich geringere Konzentrationen aufweisen als bei den wt-Vergleichstieren.

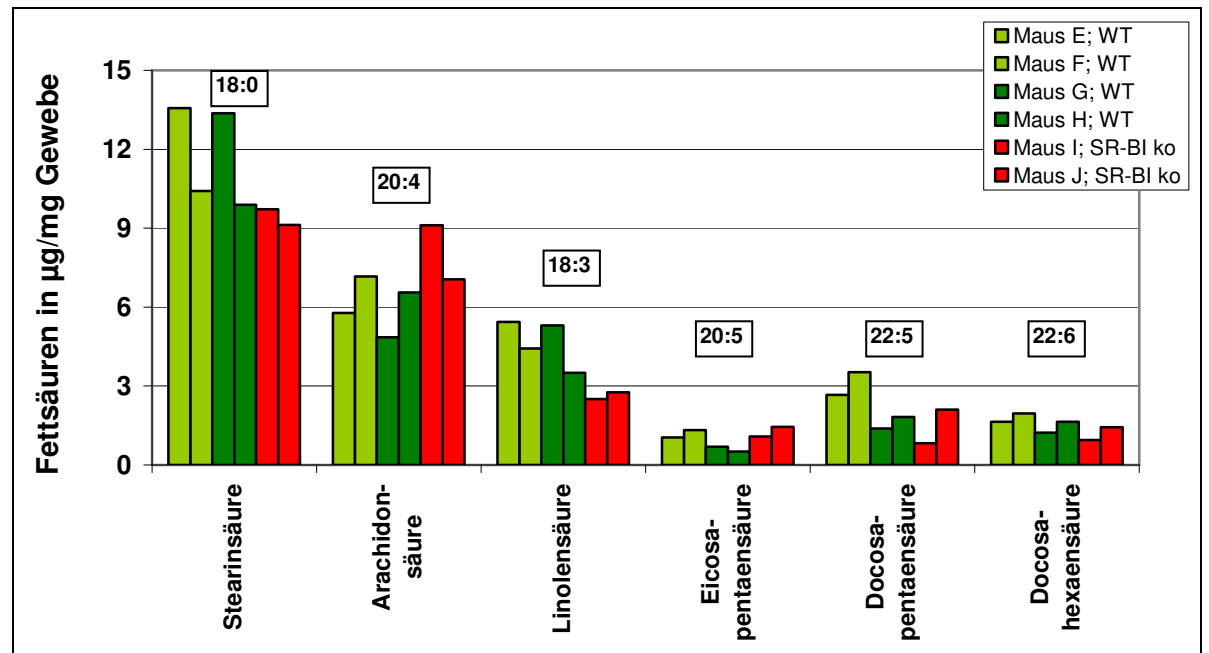


Abb.19b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in den Nebennieren von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Wegen der nur geringen Probenmenge wurden die Daten in Einfachbestimmung erhoben.

Aus der Abbildung ist zu ersehen, dass die Stearinsäure und vor allem die Linolensäure im Nebennierengewebe der beiden SR-BI ko-Mäuse in geringerer Konzentration vorhanden sind als im Vergleichsgewebe der wt-Mäuse.

Die Arachidon- und die Eicosapentaensäure weisen in den Nebennieren der SR-BI ko-Mäuse eher eine erhöhte Konzentration auf.

4.5.3. Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Lunge, den Nieren, der Milz und im weißen Fettgewebe

Der Abb.20 sind die Konzentrationen der gemessenen Fettsäuren im Lungengewebe der beiden SR-BI ko-Mäuse und der vier wt-Tiere zu entnehmen.

Im Lungengewebe sind im Gegensatz zu den eben dargestellten Ergebnissen der Nebennieren keine auffälligen Unterschiede zwischen den beiden untersuchten Kollektiven zu erkennen. Jedoch ist auch im Lungengewebe ein Großteil der gemessenen Fettsäuren bei den SR-BI ko-Tieren etwas niedriger konzentriert als bei den wt-Tieren. Dies ist allerdings hauptsächlich durch die hohen Konzentrationen dieser Fettsäuren im Lungengewebe der einen wt-Maus G bedingt.

Die Eicosapentaensäure zeigt auch unabhängig von dieser wt-Maus G einen tendenziellen Unterschied zwischen den SR-BI ko-Mäusen I und J und den übrigen drei wt-Tieren E, F und H. Insgesamt jedoch erschienen die Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren bezüglich der Fettsäurekonzentrationen im Lungengewebe gering.

Die Ergebnisse der Fettsäure-Analyse im Nierengewebe der wt- und SR-BI ko-Mäuse zeigt die Abb.21.

Es stellen sich für das Nierengewebe keine deutlichen Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven dar. In der Abb.21 ist jedoch zu erkennen, dass die beiden SR-BI ko-Mäuse I und J besonders bei den Fettsäuren Palmitin-, Öl-, Linol- und Linolensäure ein uneinheitliches Bild zeigen. Während die Konzentrationen dieser Fettsäuren bei der Maus J ganz deutlich über den Werten der wt-Tiere liegen, unterscheiden sich die Ergebnisse der anderen SR-BI ko-Maus I nur wenig oder gar nicht von den bei den wt-Mäusen gemessenen Werten. Die Eicosapentaensäure ist im Nierengewebe der SR-BI ko-Maus J hingegen niedriger konzentriert als im Vergleichsgewebe der wt-Tiere; allerdings weichen die Werte der SR-BI ko-Maus I wiederum nicht bedeutend von denen der wt-Mäuse ab.

Aufgrund des nur kleinen Kollektivs der SR-BI ko-Mäuse ist daher aus den für das Nierengewebe ermittelten Ergebnissen keine eindeutige Tendenz erkennbar.

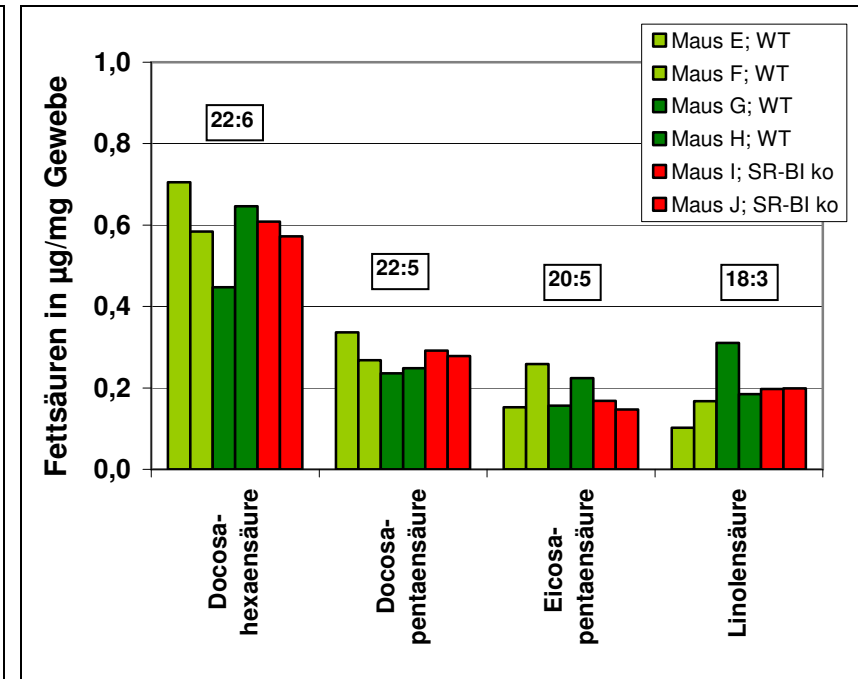
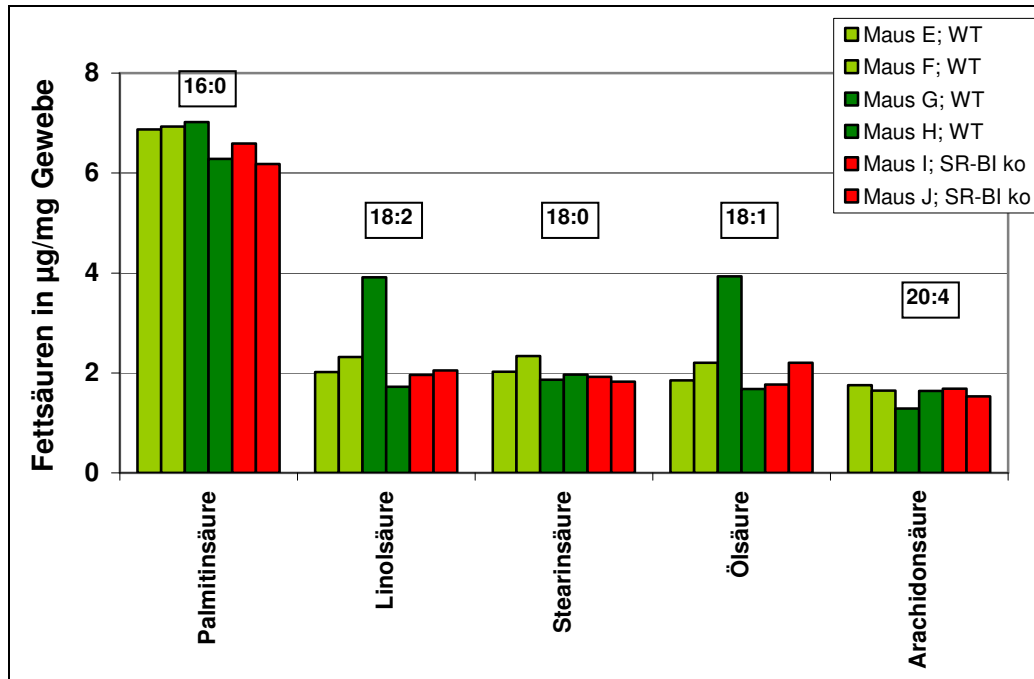


Abb.20a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Lungengewebe von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Aus der Abbildung ist zu erkennen, dass der Gehalt des Lungengewebes an Fettsäuren, die in relativ hohen Konzentrationen in diesem Gewebe vorkommen, bei den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren annähernd gleich ist. Auffällig ist jedoch die in der Lunge der wt-Maus G im Vergleich zu den übrigen Mäusen höhere Konzentration der Linolsäure und der Ölsäure.

Abb.20b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Lungengewebe von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die gezeigten Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben.

Große Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren können auch bei den in geringer Konzentration im Lungengewebe vorhandenen Fettsäuren nicht festgestellt werden. Die Eicosapentaensäure ist im Gewebe der SR-BI ko-Mäuse tendenziell niedriger konzentriert.

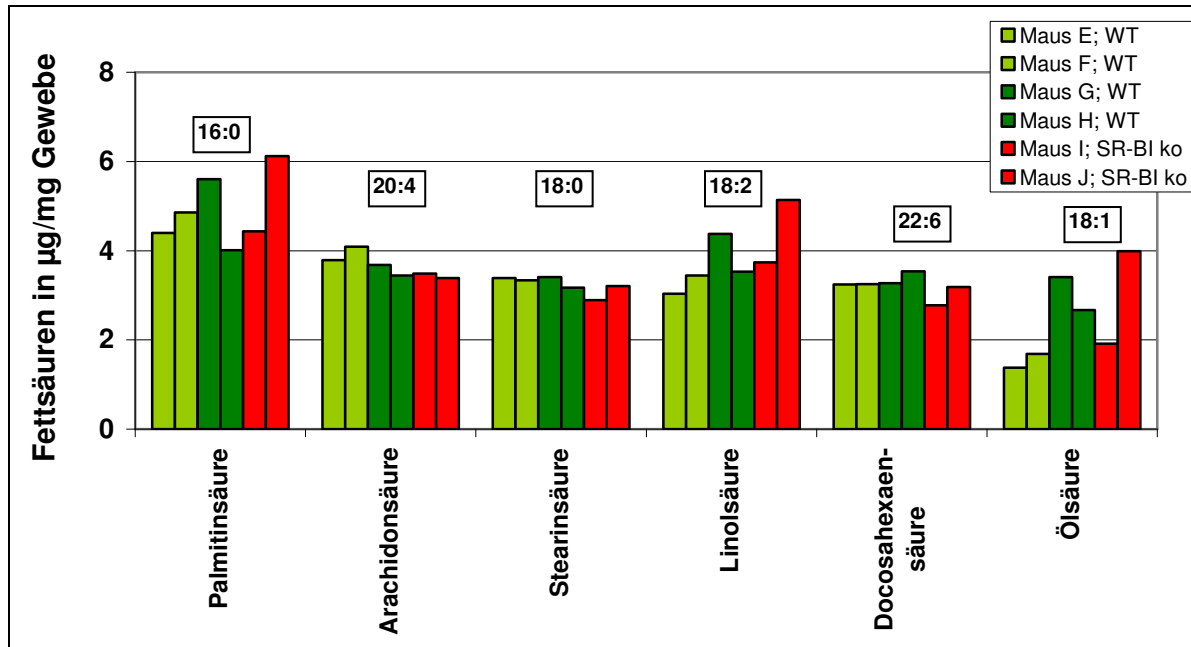


Abb.21a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Niere von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Aus der Abbildung ist zu erkennen, dass im Nierengewebe der SR-BI ko-Maus J im Vergleich zu der anderen SR-BI ko-Maus I und auch in Relation zu den wt-Tieren mehrere Fettsäuren höher konzentriert sind. Besonders gilt dies für die Palmitin-, die Linol- und für die Ölsäure. Da die Werte der beiden SR-BI ko-Mäuse dadurch recht uneinheitlich sind, können keine grundlegenden Unterschiede zwischen ihnen und den wt-Vergleichsmäusen gezeigt werden.

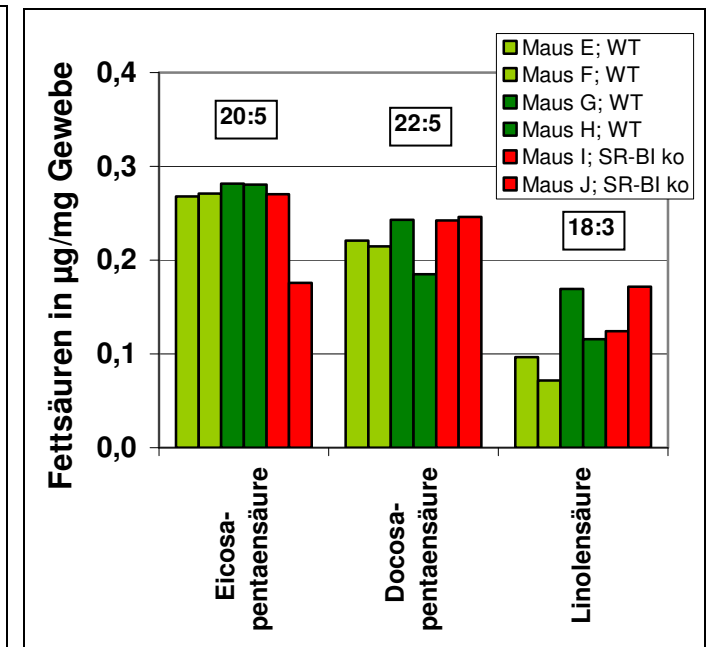


Abb.21b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Niere von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben.

Durch das uneinheitliche Bild der Ergebnisse innerhalb des SR-BI ko-Kollektivs ist auch für die in geringer Konzentration im Nierengewebe vorhandenen Fettsäuren kein genereller Unterschied zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren erkennbar.

Die Ergebnisse der Fettsäure-Messungen im Milzgewebe der untersuchten Mäuse sind in der Abb.22 dargestellt.

Die Streubreite der Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Milz ist – wie auch schon für die Ergebnisse der α -Tocopherol-Bestimmung in diesem Organ unter 4.4.3. beschrieben – im Vergleich zu den anderen untersuchten Gewebearten recht gering.

Obwohl sich bei keiner der gemessenen Fettsäuren besonders große Unterschiede zwischen den Kollektiven erkennen lassen, ist doch der Gehalt des Milzgewebes der SR-BI ko-Mäuse an vielen der gemessenen Fettsäuren etwas geringer als im Vergleichsgewebe der wt-Mäuse.

Bei der Linolensäure ist auffällig, dass die Konzentration dieser Fettsäure in der Milz der jüngeren wt-Mäuse E und F höhere Werte ist als in dem Gewebe der älteren wt-Tiere G und H.

Die Abb.23 zeigt die Ergebnisse der Fettsäure-Analyse im intraperitonealen, weißen Fettgewebe.

Der Gehalt an den einzelnen Fettsäuren ist im weißen Fettgewebe der jüngeren, drei Monate alten wt-Mäuse E und F bedeutend größer als im entsprechenden Gewebe der sechs Monate alten wt-Tiere G und H.

Die Eicosapentaensäure ist im Fettgewebe aller Tiere nur in so geringen Konzentrationen vorhanden, dass diese unterhalb der Nachweisgrenze lagen.

Die gemessenen Fettsäuren lassen keine Unterschiede zwischen dem Gewebe der beiden SR-BI ko-Mäuse I und J und deren gleichaltrigen wt-Geschwistertiere G und H erkennen.

4.5.4. Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Skelettmuskulatur, dem Herzmuskel und in der Wand des Magens und des Dünndarmes

In der Abb.24 sind die Fettsäurekonzentrationen in der Skelettmuskulatur der beiden SR-BI ko-Mäuse im Vergleich zu den in den vier wt-Tieren gemessenen Werten dargestellt.

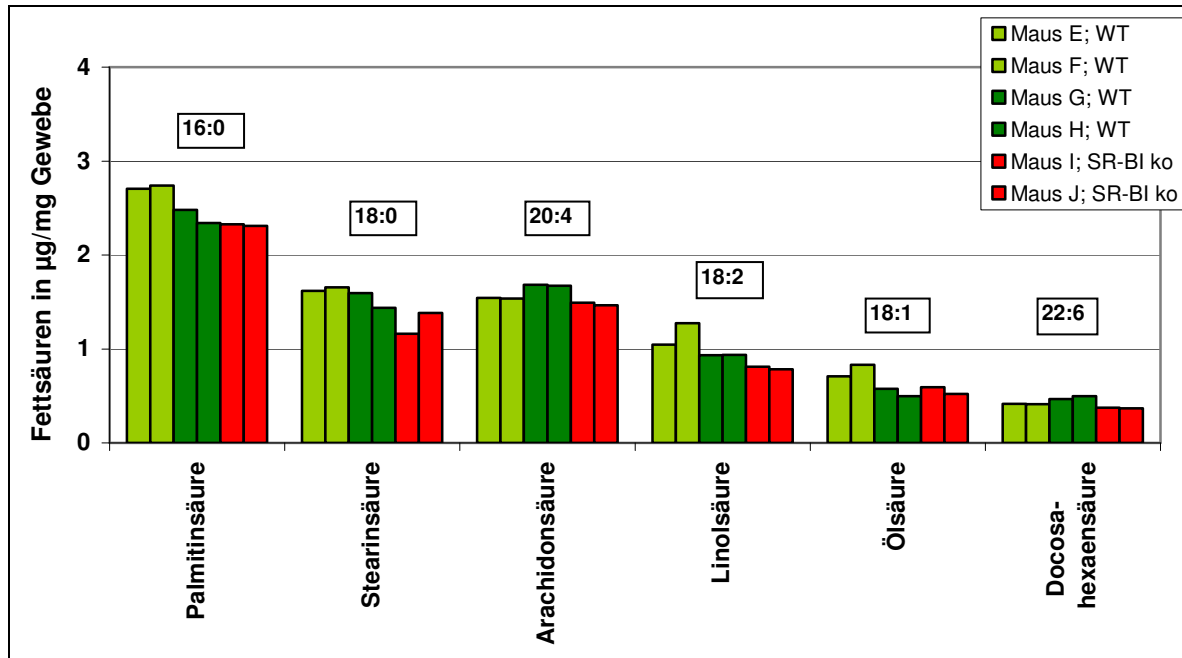


Abb.22a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Milz von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen. Obgleich die Werte der beiden SR-BI ko-Mäuse I und J bei keiner Fettsäure stark von denen der wt-Tiere abweichen, fällt doch auf, dass die SR-BI ko-Mäuse von mehreren Fettsäuren etwas geringere Konzentrationen aufweisen.

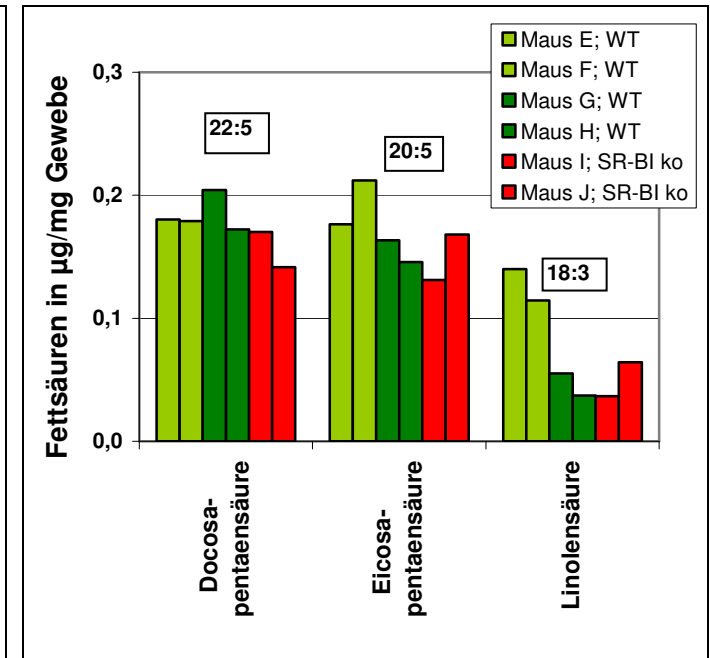


Abb.22b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Milz von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die hier gezeigten Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben. Bei der Docosapentaensäure zeigen die SR-BI ko-Mäuse tendenziell etwas geringere Konzentrationen als ihre gleichaltrigen wt-Geschwistertiere G und H. Bei der Linolensäure sind die in der Milz der jüngeren wt-Mäuse E und F höheren Konzentrationen auffällig.

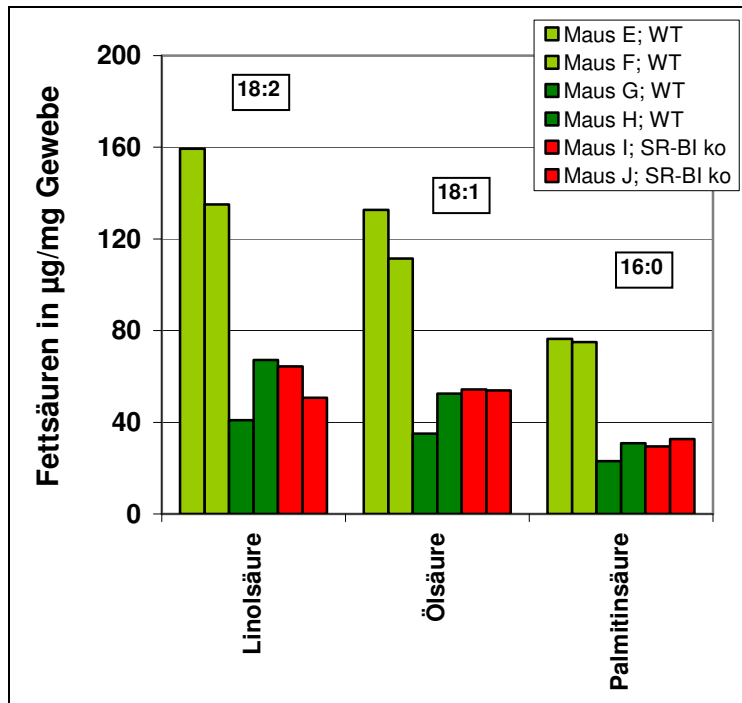


Abb.23a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im weißen, intraperitonealen Fettgewebe von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

In diesem Teil der Abbildung wird deutlich, dass die beiden jüngeren wt-Mäuse E und F einen bedeutend höheren Gehalt an allen dargestellten Fettsäuren aufweisen als die älteren wt-Tiere G und H. Zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den gleichaltrigen wt-Geschwistertieren G und H zeigt sich kein gravierender Unterschied.

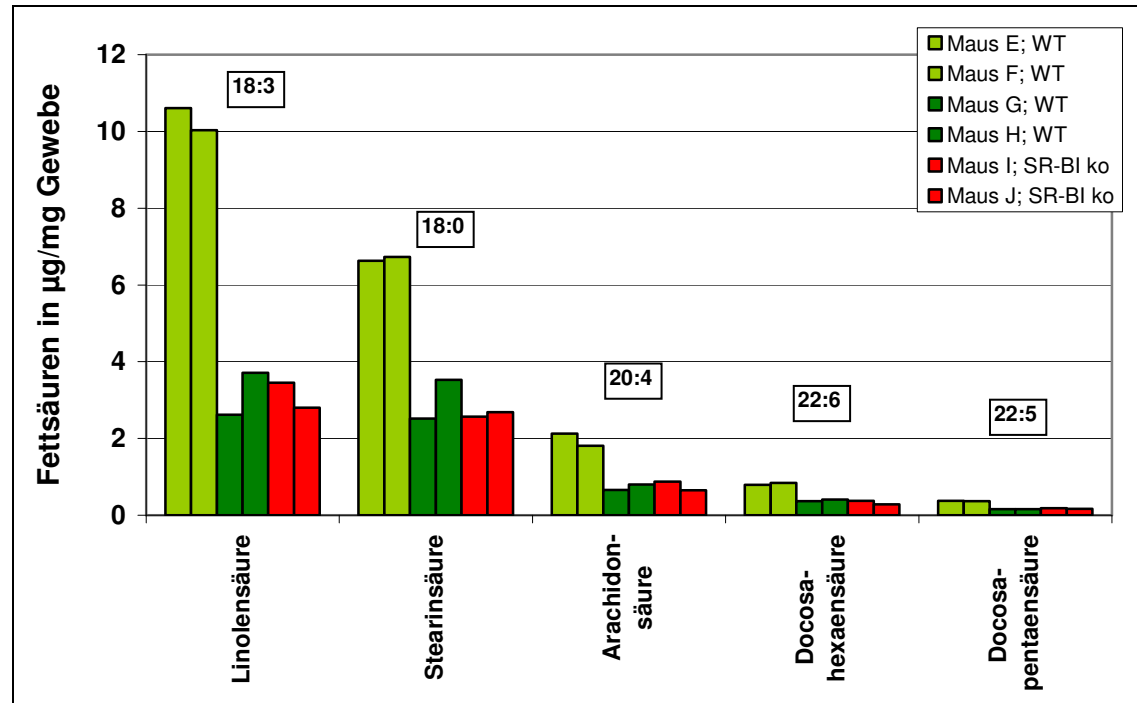


Abb.23b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im weißen, intraperitonealen Fettgewebe von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben. Der Gehalt des Gewebes an Eicosapentaensäure ist so gering, dass die Werte unterhalb der Nachweisgrenze liegen.

Auch die Konzentrationen der Fettsäuren, die in geringerer Menge in diesem Gewebe enthalten sind, zeigen deutliche Unterschiede zwischen den jüngeren wt-Mäusen E und F und den älteren wt-Mäusen G und H.

Zwischen den SR-BI ko-Tieren und deren gleichaltrigen wt-Geschwistertieren sind keine bedeutenden Differenzen zu erkennen.

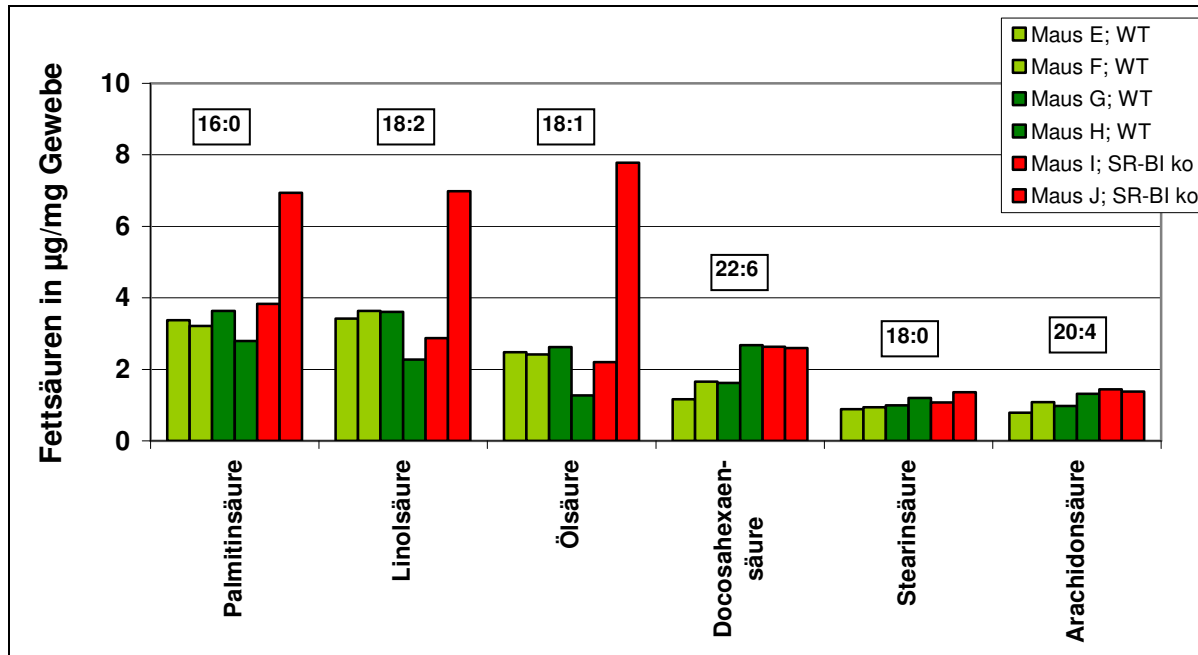


Abb.24a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Skelettmuskel von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Der Vergleich der Fettsäurekonzentrationen im Skelettmuskel der SR-BI ko-Mäuse mit denen der wt-Tiere ergibt in Relation zu anderen Gewebearten ein uneinheitliches Bild. Die Fettsäuren Palmitin-, Linol- und Ölsäure zeigen im Muskelgewebe der SR-BI ko-Maus J eine teils sehr deutlich höhere Konzentration als in dem Gewebe der übrigen untersuchten Mäuse. Die Konzentrationen dieser drei Fettsäuren im Skelettmuskel der anderen SR-BI ko-Maus I sind mit den im Gewebe der wt-Tiere gemessenen Werten nahezu identisch.

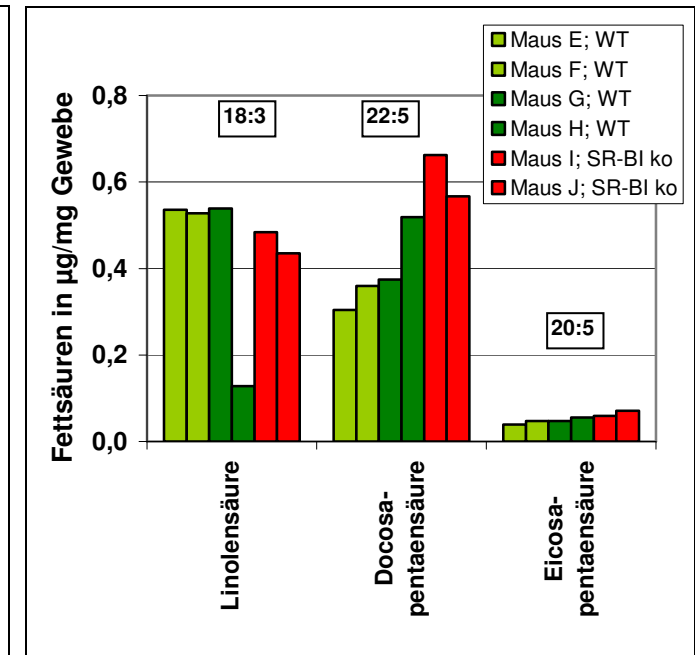


Abb.24b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Skelettmuskel von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben.

Bei den hier abgebildeten Fettsäuren zeigt sich keine so große Streubreite der Werte innerhalb des SR-BI ko-Kollektivs, wie es bei den in Abb.24a dargestellten Fettsäuren zu erkennen ist. Auffällig ist jedoch die bedeutend niedrigere Konzentration der Linolensäure im Muskelgewebe der wt-Maus H.

Insgesamt zeigt die Abb.24 ein recht uneinheitliches Bild für die Fettsäurekonzentrationen im Skelettmuskel. Wie im beschreibenden Text der Abb.24 ausgeführt, sind die Messergebnisse für drei der gemessenen Fettsäuren im Muskelgewebe im Vergleich zu anderen untersuchten Geweben besonders weit gestreut: Die Palmitin-, Öl- und Linolsäure sind im Muskelgewebe des einen SR-BI ko-Tieres J bis zu dreimal so hoch konzentriert wie im Gewebe der fünf anderen untersuchten Tiere. Für die übrigen Fettsäuren weisen die beiden SR-BI ko-Mäuse I und J nahezu gleiche Werte auf. Die Ergebnisse des Kollektivs der wt-Mäuse sind bei fast allen Säuren relativ einheitlich; die Linolensäure ist im Muskelgewebe der wt-Maus H allerdings deutlich niedriger konzentriert als bei den übrigen wt-Mäusen.

Aufgrund der nur kleinen Kollektive ist für das Muskelgewebe keine eindeutige Tendenz bezüglich der Fettsäurekonzentrationen der SR-BI ko-Mäuse zu erkennen.

Der Abb.25 sind die Konzentrationen der Fettsäuren im Herzmuskel zu entnehmen.

Im Gegensatz zu den soeben beschriebenen Ergebnissen der Fettsäure-Messungen in der Skelettmuskulatur treten für den Herzmuskel keine so großen und häufigen Schwankungen der Messergebnisse innerhalb der einzelnen Kollektive auf. Nur der Gehalt an Eicosapentaensäure ist bei den jüngeren wt-Mäusen E und F höher als bei den älteren Tieren. Die Linolensäure ist im Herzmuskel der jüngeren Tiere hingegen weniger enthalten als im Herzgewebe der älteren Mäuse.

Die gemessenen Fettsäuren sind im Herzmuskel der SR-BI ko-Mäuse I und J in einer etwa ebenso hohen Konzentration vorhanden wie im entsprechenden Gewebe der wt-Geschwistertiere G und H.

Die Abb.26 zeigt die Ergebnisse der Fettsäure-Messungen für die Magenwand.

Die Ergebnisse sind innerhalb der einzelnen Kollektive im Vergleich zu den Ergebnissen der Fettsäure-Bestimmung in anderen Geweben sehr breit gestreut. Ganz besonders gilt dies für die Konzentrationen der Fettsäuren Öl-, Palmitin-, Linol- und Linolensäure im SR-BI ko-Kollektiv: Diese zeigen in der Magenwand der Maus J bis zu fünf mal höhere Konzentrationen als bei der anderen SR-BI ko-Maus I.

Zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren sind hinsichtlich der Konzentrationen der gemessenen Fettsäuren keine einheitlichen Tendenzen erkennbar.

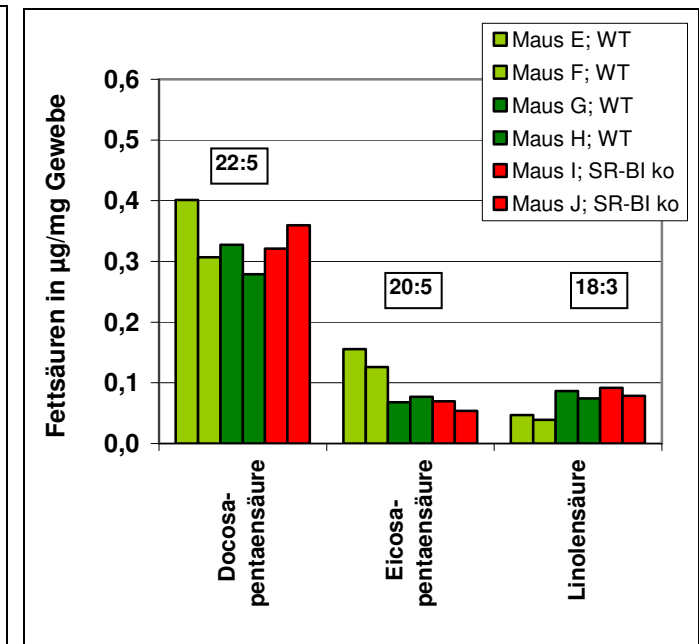
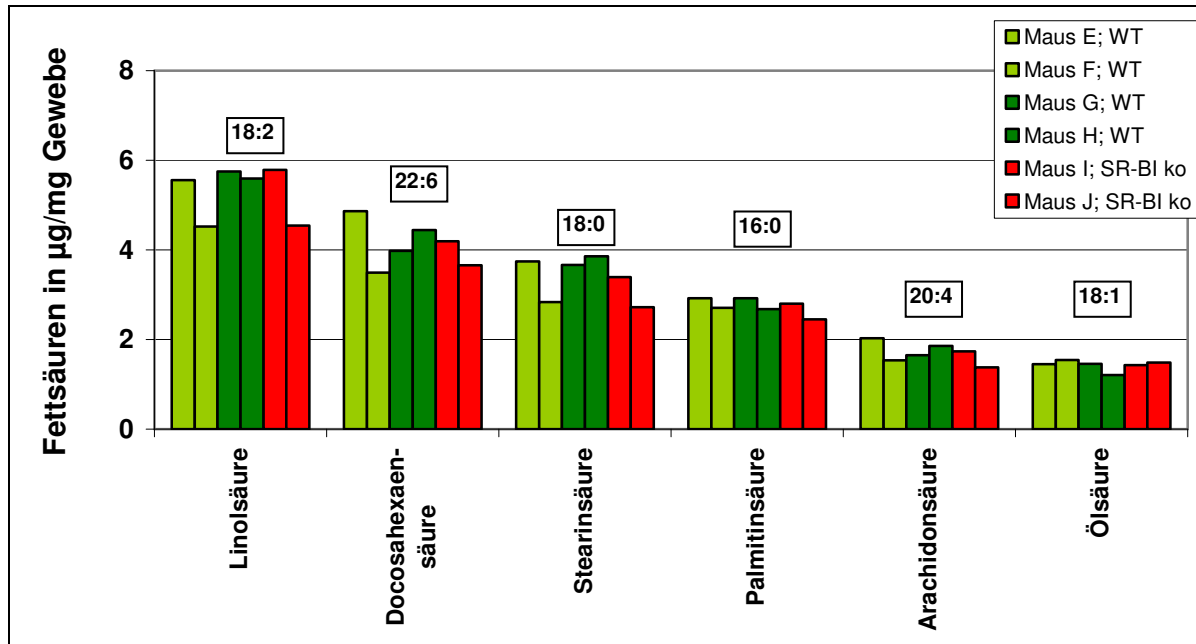


Abb.25a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Herzmuskel von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Die Konzentrationen der in dieser Abbildung dargestellten Fettsäuren zeigen keinen Unterschied zwischen den SR-BI ko-Tieren und den wt-Vergleichstieren.

Abb.25b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren im Herzmuskel von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die gezeigten Daten wurden in Doppelbestimmung erhoben.

Auch die nur in geringer Konzentration im Herzmuskel enthaltenen Fettsäuren lassen keinen Unterschied zwischen dem SR-BI ko- und dem wt-Kollektiv erkennen.

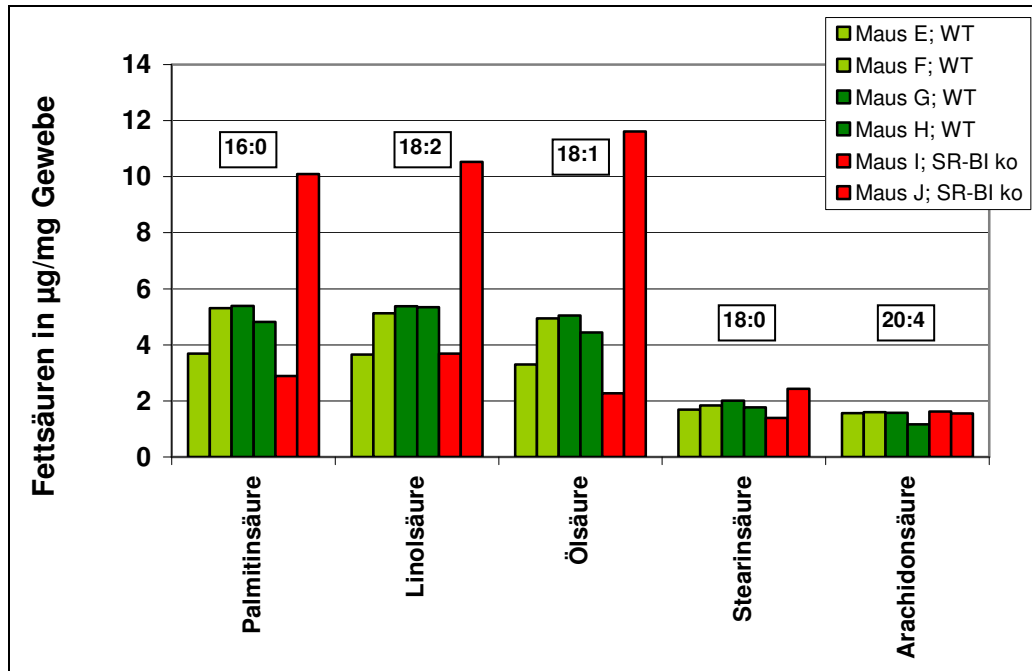


Abb.26a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Wand des Magens von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Es zeigt sich, dass die Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Magenwand der verschiedenen Mäuse eine im Vergleich zu anderen untersuchten Gewebearten sehr große Streuung aufweisen. Die SR-BI ko-Maus J weist eine deutlich höhere Konzentration der Fettsäuren Palmitin-, Linol- und Ölsäure auf als die übrigen Tiere und unterscheidet sich diesbezüglich auch deutlich von der zweiten SR-BI ko-Maus I. In der Magenwand der Maus I waren diese Fettsäuren sogar niedriger konzentriert als bei dem wt-Vergleichskollektiv.

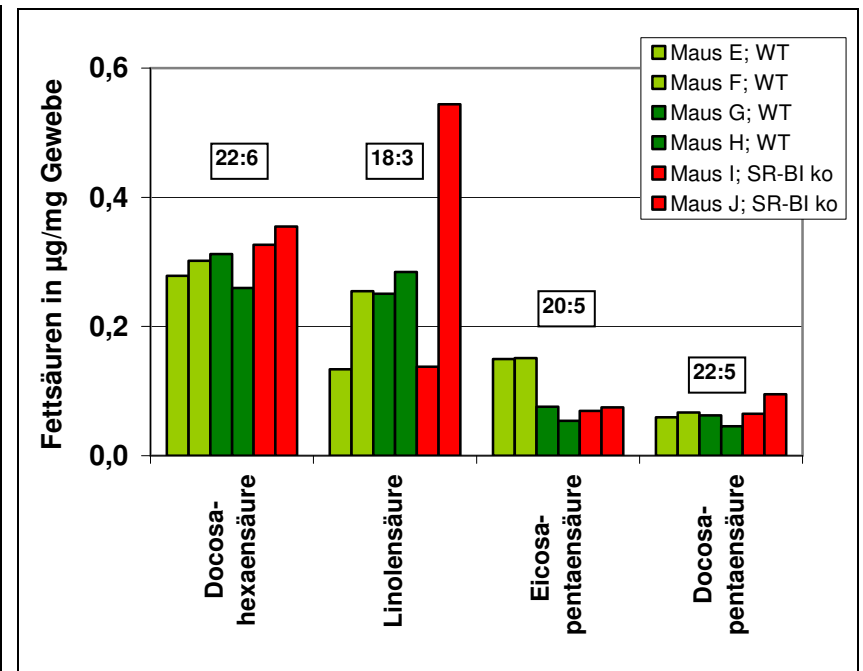


Abb.26b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Wand des Magens von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung ermittelt.

Es ist kein grundsätzlicher Unterschied in den Fettsäurekonzentrationen zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren zu erkennen. Die Magenwand der SR-BI ko-Maus J weist jedoch – neben den höheren Konzentrationen der Palmitin-, Linol- und Ölsäure, die in der Abb.26a zu erkennen sind – auch einen bedeutend höheren Gehalt an Linolensäure auf als die übrigen Mäuse.

Die Abb.27 zeigt die Fettsäurekonzentrationen in der Wand des Dünndarmes.

Auch die Ergebnisse der Fettsäure-Messungen in der Dünndarmwand stellen sich uneinheitlich dar. Die Messergebnisse der SR-BI ko-Maus J liegen wiederum über denen der anderen SR-BI ko-Maus I. Diese Inhomogenität im SR-BI ko-Kollektiv, sowie auch die Streubreite der Messergebnisse der verschiedenen wt-Tiere sind bei der Linol-, Palmitin- und Ölsäure, die alle in recht hohen Konzentrationen in der Dünndarmwand enthalten sind, beträchtlich größer als bei den übrigen bestimmten Fettsäuren.

Generelle Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren lassen die gemessenen Fettsäuren nicht erkennen.

4.5.5. Zusammenfassende Erläuterung der Ergebnisse der Fettsäure-Messungen aller untersuchten Gewebearten

Zusammengefasst lassen die Ergebnisse der Fettsäure-Analysen in den untersuchten Gewebeproben nur in wenigen Geweben Unterschiede zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren erkennen.

Dabei ist nicht generell von niedrigeren Werten bei dem SR-BI ko-Kollektiv zu sprechen. Beispielsweise in der Gallenflüssigkeit und im Blutplasma liegen die Konzentrationen einzelner oder mehrerer Fettsäuren über denen im wt-Vergleichskollektiv. In den Nebennieren, den Nebenhoden und der Milz der SR-BI ko-Mäuse hingegen sind die Konzentrationen fast aller gemessenen Fettsäuren zum Teil beträchtlich niedriger als die Werte des wt-Kollektivs. Im Hodengewebe hingegen ist ein Unterschied zwischen den beiden Kollektiven lediglich bei der Linolensäure zu erkennen.

In vielen der untersuchten Gewebearten zeigen sich in der Konzentration der gemessenen Fettsäuren keine Unterschiede zwischen den beiden SR-BI ko-Mäusen und den vier wt-Vergleichstieren.

Bemerkenswert ist, dass immer wieder Unterschiede zwischen den nur drei Monate alten wt-Mäusen E und F und den älteren, sechs Monate alten wt-Tieren G und H auffallen, wie sie auch schon bei den α -Tocopherol-Messungen in Kapitel 4.4. beschrieben worden sind. Die jüngeren Tiere zeigen besonders im weißen Fettgewebe, aber auch in der Leber und im Plasma bei vielen Fettsäuren zum Teil deutlich höhere Konzentrationen als die älteren Mäuse.

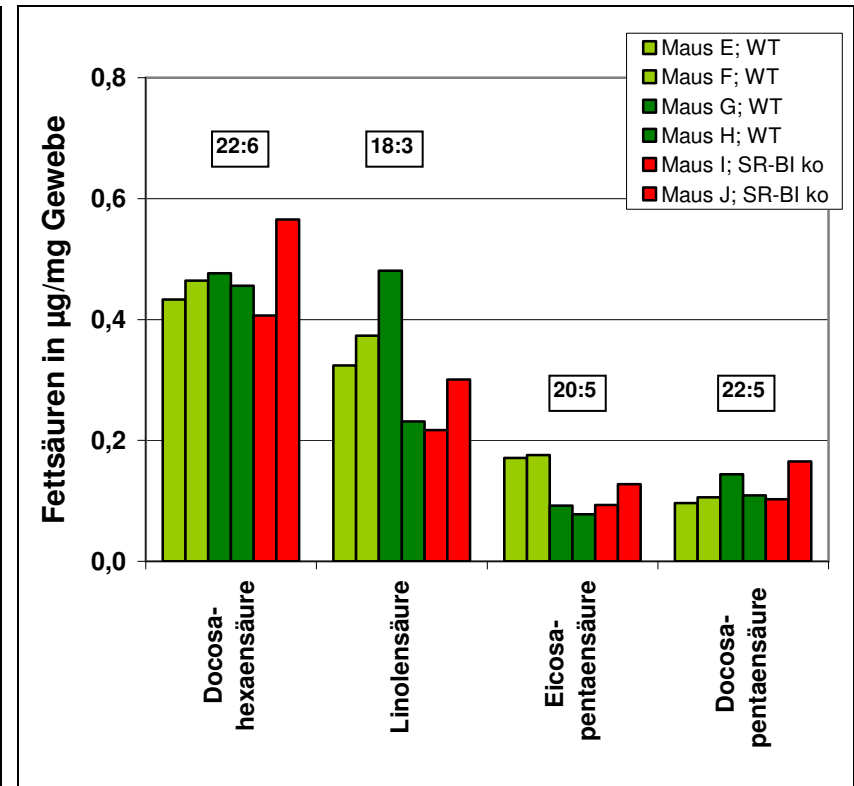
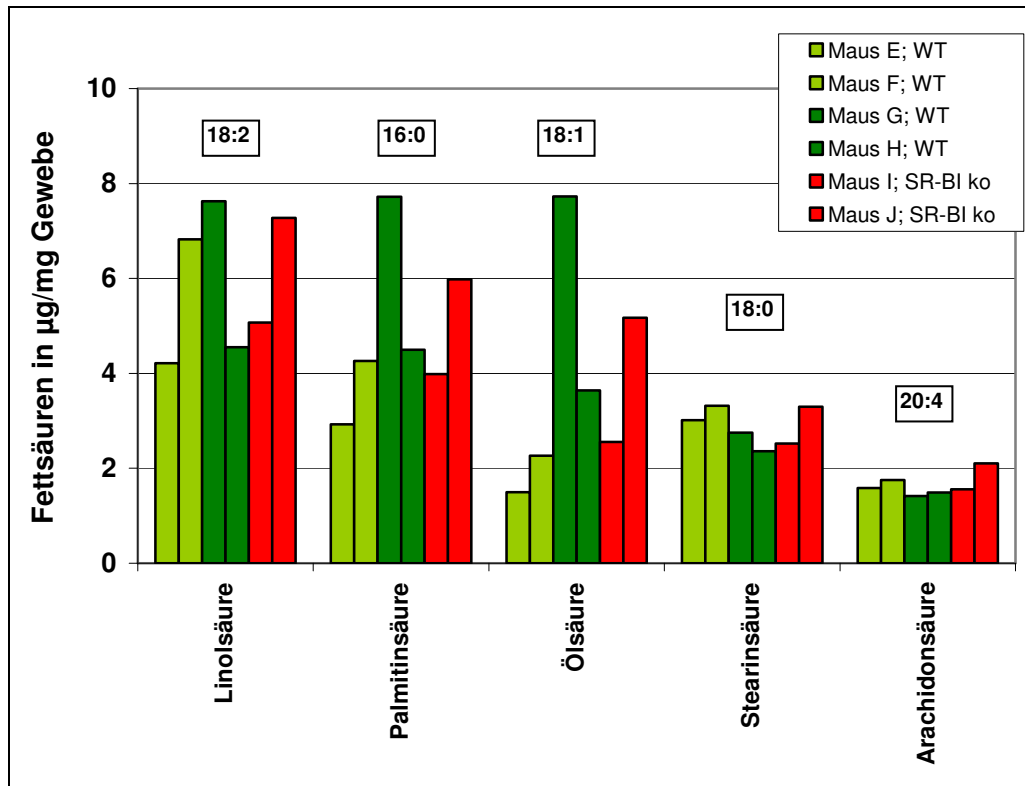


Abb.27a: In hohen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Wand des Dünndarms von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die dargestellten Ergebnisse wurden in Doppelbestimmung gemessen.

Es fällt auf, dass die Streubreite der Messergebnisse für das hier dargestellte Gewebe der Darmwand in Relation zu anderen untersuchten Gewebearten sehr groß ist. Dies gilt besonders für die Fettsäuren, die in sehr hohen Konzentrationen in der Darmwand enthalten sind. Deutliche Unterschiede zwischen dem SR-BI ko- und dem wt-Vergleichskollektiv sind hingegen nicht zu erkennen.

Abb.27b: In niedrigen Konzentrationen vorkommende Fettsäuren in der Wand des Dünndarms von vier wt-Mäusen und zwei SR-BI ko-Tieren Die Daten wurden in Doppelbestimmung ermittelt.

Auch bei den Konzentrationen der Fettsäuren, die nur wenig in der Darmwand der Mäuse enthalten sind, ist die Streubreite der Messwerte relativ groß. Unterschiede zwischen den beiden SR-BI ko-Mäusen I und J und den wt-Mäusen sind auch hier nicht zu erkennen.

5. Diskussion

In den Kapiteln 4.4. und 4.5. ist dargestellt, dass sich die Konzentrationen von α -Tocopherol und Fettsäuren in vielen der untersuchten Gewebe der SR-BI ko-Mäuse nicht von denen der wt-Tiere unterscheiden. Bei anderen Gewebearten hingegen zeigen die α -Tocopherol- und Fettsäurekonzentrationen durchaus einen Unterschied zwischen SR-BI ko- und wt-Tieren.

Für einige Organe sind die Messergebnisse innerhalb der einzelnen Kollektive homogen, so dass sich trotz der nur geringen Anzahl der Versuchstiere eine deutlich erscheinende Differenz abzeichnet. In anderen Geweben zeigt sich dagegen, obwohl die Werte einer einzelnen SR-BI ko-Maus deutlich von denen der wt-Tiere differieren, dennoch keine klare Tendenz, weil die Daten der beiden SR-BI ko-Mäuse ein zu wenig einheitliches Bild ergeben. Leider standen für diese Arbeit keine größeren Tiergruppen zur Verfügung.

Für alle untersuchten Organe und Gewebearten ist anzumerken, dass im verwendeten Tiermodell der SR-BI ko-Mäuse eine partielle Kompensation der SR-BI-Funktionen durch SR-BI-unabhängige Mechanismen nicht auszuschließen ist. Die SR-BI ko-Tiere können den Rezeptor durch einen Gendefekt nicht exprimieren [Rigotti et al., 1997]. Die m-RNA-Spleissvariante SR-BII kann dadurch ebenfalls nicht gebildet werden, so dass eine Kompensation des Verlustes des SR-BI durch SR-BII nicht möglich ist. Durch andere Rezeptoren, wie die in Kapitel 2.3. beschriebenen HDL-Rezeptoren HB2 und ABCA 1, könnte der Ausfall des SR-BI aber dennoch in einigen Bereichen kompensiert werden. So würden einige Funktionen des Rezeptors auch in dem für diese Arbeit verwendeten Tiermodell nicht deutlich.

Im Folgenden soll zunächst auf mögliche allgemeine Fehlerquellen eingegangen werden, die zu Ungenauigkeiten in den Messungen und zu Abweichungen einzelner Ergebnisse geführt haben könnten. Anschließend werden die sich aus den erhobenen Daten ergebenden Schlussfolgerungen und Hypothesen hinsichtlich der Funktion des SR-BI in den verschiedenen untersuchten Gewebearten diskutiert.

5.1. Methodische Fehlerdiskussion

Wie in den Kapiteln 4.4. und 4.5. beschrieben, ist die Streubreite der Messergebnisse sowohl der α -Tocopherol- als auch der Fettsäure-Bestimmung beim weißen, intraperitonealen Fettgewebe, bei der Skelettmuskulatur, den Nebennieren, sowie bei der Untersuchung der Wand des Magens und des Dünndarmes im Vergleich zu anderen Gewebearten sehr groß. Im Gegensatz dazu liegen die jeweiligen Messwerte von Milz, Hirn, Lebergewebe, Hoden, Nebenhoden und Gallenflüssigkeit innerhalb der einzelnen Kollektive relativ eng beieinander.

Es ist bemerkenswert, dass sich bei den erstgenannten Geweben häufig die Messergebnisse nur eines Tieres sehr deutlich von allen übrigen Werten unterscheiden. Besonders oft ist dies für die SR-BI ko-Maus I zu beobachten, deren α -Tocopherol-Werte in fast allen Geweben größer sind, als die der zweiten SR-BI ko-Maus J, und so die Werte aller anderen Tiere vor allem in den Nebennieren um ein Vielfaches übertreffen. Für die Ergebnisse der Fettsäure-Analysen stellt sich das Verhältnis der beiden SR-BI ko-Tiere eher andersherum dar. Die SR-BI ko-Maus J hat in vielen der untersuchten Gewebe etwas höhere Fettsäurekonzentrationen als die SR-BI ko-Maus I. Auch unter den vier wt-Tieren treten immer wieder solche Abweichungen einzelner Messergebnisse auf, sie zeigen jedoch für keines der Tiere E bis H eine so auffallende Regelmäßigkeit.

Ein Hinweis auf äußere Faktoren wie Ernährung oder andere Haltungs-Bedingungen, durch die solcherlei Differenzen hervorgerufen würden, konnte nicht gefunden werden. Da in dieser Arbeit lediglich vier wt-Mäuse und zwei SR-BI ko-Mäuse untersucht werden konnten, wobei zwei der wt-Tiere jünger waren und nicht demselben Wurf entstammten wie die übrigen Tiere, ermöglichen die Messergebnisse bei vielen Gewebearten keine klare Aussage. Dies gilt besonders für die bei den SR-BI ko-Mäusen höher erscheinenden α -Tocopherol-Werte in den Nebennieren, im Herzmuskel, in der Skelettmuskulatur, in der Wand von Magen und Darm, sowie im Blutplasma. Ebenso verhält es sich mit den im SR-BI ko-Kollektiv höheren Fettsäurekonzentrationen in der Muskulatur, den Nieren, im Plasma, in der Wand des Magens sowie des Dünndarmes. Um für diese Gewebe sichere Erkenntnisse bezüglich eventuell unterschiedlichen α -Tocopherol- und Fettsäurekonzentrationen bei wt- und SR-BI ko-Mäusen zu erlangen, bedarf es daher zukünftiger Messungen an größeren Tiergruppen, die mir im Rahmen dieser Arbeit nicht zur Verfügung standen.

Es gibt keine Hinweise darauf, dass der Grund für die in dieser Weise beobachteten Schwankungen in der Ungenauigkeit der Extraktions- und Messmethode liegt, da eine Korrelation zwischen der Streubreite der bestimmten Doppelwerte und dem Ausmaß der beschriebenen Abweichung des Ergebnisses eines Tieres von dem übrigen Kollektiv nicht erkennbar ist. Die apparative Bestimmung der α -Tocopherol- und Fettsäurekonzentrationen in den einzelnen Proben mithilfe des HPLC beziehungsweise des Gaschromatographen ist sehr zuverlässig. Die Ergebnisse der doppelten Injektionen und damit doppelten Messungen jeder Probe weichen nur marginal voneinander ab.

Speziell bei den Ergebnissen aus den α -Tocopherol- und Fettsäure-Messungen in der Wand des Magens und des Dünndarmes kommt als Fehlerquelle vor allen Dingen eine Verunreinigung der Gewebeproben mit Nahrungsresten in Betracht. Um diese Verunreinigung so gering wie möglich zu halten, wurden Magen und Darm nach der Präparation gründlich mit PBS gespült. Es ist jedoch nicht auszuschließen, dass Reste des zuvor enthaltenen Speisebreis auch nach der Säuberung in den Proben verblieben sind. Besonders in den Ergebnissen der Fettsäureanalyse könnten Spuren von Nahrung große Unregelmäßigkeiten hervorrufen.

Als Ursprung möglicher Ungenauigkeiten in den Messergebnissen muss auch die Präparation der Gewebeproben diskutiert werden. Wiederum gilt dies unter anderem für die Wand des Dünndarms, die nach ihrer Entnahme von dem intestinalen weißen Fettgewebe befreit werden musste, da dieses physiologischerweise mit der äußersten Wandschicht des Darmes verwachsen ist. Aber auch bei der Entnahme und Säuberung der Nebennieren kommen die präparatorischen Grenzen zum Tragen, da diese Organe zum einen sehr klein und zum anderen in das Fettgewebe des oberen Nierenpoles eingebettet sind. Das weiße Fettgewebe ist aufgrund der darin gespeicherten Triacylglyceride sehr reich an den verschiedenen Fettsäuren und weist zusätzlich eine im Vergleich zu anderen Gewebearten sehr hohe α -Tocopherolkonzentration auf (siehe Abb.11 und Abb.23 in den Kapiteln 4.4. und 4.5.). So könnten sich bereits kleinere Verunreinigungen der Gewebeproben in den Ergebnissen von α -Tocopherol- und Fettsäure-Messungen widerspiegeln. Gerade wegen dieser Schwierigkeiten wurde bei der Präparation der Organe besonders genau gearbeitet und diese Fehlerquelle dadurch so gering wie möglich gehalten.

Auch die vor der Organentnahme durchgeführte Perfusion der Versuchstiere muss bei der Fehleranalyse mit berücksichtigt werden. Der Erfolg der Perfusion – die Gewebe

von den Blutbestandteilen zu befreien - hängt unter anderem von der Art der Blutversorgung des jeweiligen Organs ab: Während das Blut aus großen Gefäßen nahezu vollständig herausgewaschen werden kann, stößt die Perfusion bei stark durchbluteten, kapillarreichen Organen an ihre Grenzen, da sich in den feinen Gefäßen der Endstrombahn aufgrund der dort sehr geringen Fließgeschwindigkeit des Blutes leicht Mikrothromben bilden, die nicht mehr aus dem Gewebe herauszuspülen sind. Insbesondere gilt dies für die Milz, deren Parenchym physiologischerweise zu großen Teilen von verschiedenen Blutzellen gebildet wird. Um den Erfolg der Perfusion zu maximieren, wurde darauf geachtet, die Tiere möglichst nicht durch die zuvor durchgeführte Narkose zu töten, damit die physiologische Blutzirkulation, die *in vivo* eine Thrombenbildung verhindert, erst unmittelbar durch die Perfusion unterbrochen wird.

5.2. Die Rolle des SR-BI in Bezug auf die Gewebe-Physiologie

Im Folgenden werden die Ergebnisse aller untersuchten Organe im Hinblick darauf diskutiert, welche funktionelle Aufgabe der SR-BI in diesen Geweben physiologischerweise übernimmt. Die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten werden hierzu mit den bisher gesammelten Erkenntnissen aus der Literatur verglichen und auf ihre physiologische Bedeutung hin beleuchtet.

5.2.1. Plasma, Gallenflüssigkeit, Leber und Hirn

Plasma und Gallenflüssigkeit

Die Messergebnisse der Plasma- und Gallenflüssigkeitsproben werden hier gemeinsam diskutiert, da sie einen Eindruck über die systemische Homöostase der untersuchten Parameter vermitteln, während die untersuchten Gewebeproben eher die Situation in den einzelnen Organen beleuchten. Des Weiteren wird anhand des Plasmas und der Gallenflüssigkeit auch ein mögliches Versagen der Regulationsmechanismen des Organismus deutlich; die Gallenflüssigkeit stellt die wichtigste Ausscheidungsmöglichkeit für lipophile Substanzen dar. Die Plasma-Konzentration dieser Stoffe ist als Stellgröße anzusehen, die zum einen über die Resorption aus dem Darm und zum anderen durch die Sekretion über die Galle und den Verbrauch im Gewebe reguliert wird. Dadurch stehen die Lipid-Konzentrationen in diesen beiden Körperflüssigkeiten in einem engen Zusammenhang.

Die in der Tab.2 (Kapitel 4.2.), in der Abb.9 (Kapitel 4.4.1.) und in der Abb.13 (Kapitel 4.5.1.) dargestellten Ergebnisse der α -Tocopherol-, Fettsäure-, Cholesterin- und Triglycerid-Messungen im Plasma lassen in der untersuchten Tiergruppe keine einheitlichen Unterschiede zwischen SR-BI ko- und wt-Mäusen erkennen. Die SR-BI ko-Maus I zeigt jedoch deutlich höhere Cholesterin-, Fettsäure- und α -Tocopherol-Werte im Plasma als die wt-Tiere.

Frühere Studien haben gezeigt, dass der Cholesterin-Gehalt des Plasmas von SR-BI ko-Mäusen beträchtlich höher ist als die Referenzwerte von wt-Mäusen [A. Rigotti et al., 1997]. Dahingegen ist die Plasma-Cholesterin-Konzentration in genetisch veränderten Mäusen, die nach einer Behandlung mit rekombinanten Adenoviren den SR-BI im

Lebergewebe in deutlich stärkerem Maße exprimieren, beträchtlich niedriger als in nicht genetisch veränderten Tieren [K. F. Kozarsky et al., 1997]. Entsprechend verhält es sich auch mit dem Gehalt des Plasmas an α -Tocopherol, der ebenfalls bei den SR-BI ko-Mäusen deutlich oberhalb der Werte der wt-Tiere liegt [P. Mardones et al., 2002].

Der höhere Gehalt des Plasmas an α -Tocopherol und Cholesterin lässt sich auf abnorm große und sehr uneinheitlich geformte HDL-Partikel im Plasma der SR-BI ko-Mäuse zurückführen, die einen übermäßigen Gehalt an Cholesterin und α -Tocopherol aufweisen [A. Rigotti et al., 1997; Mardones et al., 2002; H. E. Miettinen et al., 2001].

Zur Abhängigkeit der Fettsäure- oder Triacylglycerid-Konzentrationen von der Expression des SR-BI sind in der Literatur bislang keine Angaben gemacht. Die in der Tab.2 und in der Abb.13 dargestellten Ergebnisse lassen keinen generellen Unterschied zwischen dem SR-BI ko- und dem wt-Kollektiv erkennen.

Da die Gallenflüssigkeit nicht von allen sechs Versuchstieren, sondern nur von drei wt-Mäusen und einem SR-BI ko-Tier gewonnen werden konnte, haben die in den Kapiteln 4.4.1. und 4.5.1. in den Abb.9 und 14 dargestellten Ergebnisse nur eine sehr eingeschränkte Aussagekraft. Die Analyse der Fettsäuren in der Galle der SR-BI ko-Maus ergibt jedoch so deutlich von den Werten der wt-Tiere abweichende Ergebnisse, dass das Gesamtbild der Messergebnisse durchaus auf eine Bedeutung des SR-BI im systemischen Stoffwechsel der Fettsäuren hindeutet. Besonders groß sind die Differenzen der Fettsäurekonzentrationen bei den langkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie der Eicosapentaensäure und der Docosapentaensäure.

Zwar wird in den in der Abb.9 dargestellten Ergebnissen der α -Tocopherol-Messungen kein bedeutender Unterschied zwischen der SR-BI ko-Maus und den wt-Tieren deutlich, P. Mardones hat jedoch in vorangegangenen Studien in der Gallenflüssigkeit von SR-BI ko-Mäusen deutlich niedrigere α -Tocopherolkonzentrationen im Vergleich zu wt-Tieren nachgewiesen [P. Mardones et al., 2002]. Der Widerspruch zwischen den Ergebnissen der Arbeitsgruppe um P. Mardones und den im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Messdaten kann - wie bereits erläutert - unter anderem darin begründet sein, dass die Versuchstiere von P. Mardones vor der Gewinnung der Gallenflüssigkeits-, Plasma- und Gewebe-Proben eine mit α -Tocopherol angereicherte Nahrung erhielten, während bei den jetzt untersuchten Mäusen eine vergleichbare Vorbereitung nicht möglich war.

Auch der Gehalt an Cholesterin ist in der Gallenflüssigkeit von SR-BI ko-Mäusen beträchtlich niedriger als in der Galle von wt-Tieren [Y. Ji et al., 1999; P. Mardones et al., 2001; B. Trigatti et al., 1999], während sowohl die Sekretion der Gallensäuren, als

auch die der Phospholipide unverändert sind [P. Mardones et al., 2001]. Die Gesamtmenge der pro Zeiteinheit produzierten Galle ist mit ca. 55 % der bei wt-Mäusen üblichen Sekretionsrate beträchtlich erniedrigt [P. Mardones et al., 2001].

Dies alles weist darauf hin, dass sowohl die Sekretion von nicht benötigtem α -Tocopherol, als auch die des überschüssigen Cholesterins in die Gallenflüssigkeit durch die Hepatozyten physiologischerweise über einen SR-BI-abhängigen Transport gewährleistet wird, der in den SR-BI ko-Mäusen durch alternative Wege nicht in vollem Umfang ersetzt werden kann. Untermuert wird diese Annahme auch durch die Erkenntnis, dass die HDL-Partikel von allen Lipoproteinen die wichtigsten Cholesterin-Donatoren im Hinblick auf die Produktion der Gallenflüssigkeit darstellen [P. Mardones et al., 2001]. Hingegen scheinen die Synthese und Ausscheidung der Gallensäuren sowie die Sekretion von Phospholipiden unabhängig von SR-BI in physiologischem Umfang möglich zu sein [P. Mardones et al., 2001].

Zum Gehalt der Gallenflüssigkeit an mehrfach ungesättigten Fettsäuren sind keine Angaben in der Literatur zu finden. Die in der Galle der SR-BI ko-Maus besonders deutlich erhöhten Konzentrationen der langkettigen, ungesättigten Fettsäuren lässt sich zunächst schwer mit den geschilderten Erkenntnissen zur gestörten Sekretion anderer Lipide in die Gallenflüssigkeit in Einklang bringen. Denkbar ist, dass die mehrfach ungesättigten Fettsäuren, die von den extrahepatischen Geweben ohne SR-BI nicht in physiologischen Mengen aufgenommen und verstoffwechselt werden können, über einen SR-BI-unabhängigen Mechanismus mit der Gallenflüssigkeit ausgeschieden werden.

Um beurteilen zu können, ob dieser Ansatz mit den realen Verhältnissen im Organismus übereinstimmt, bedarf es sicherlich weiterer Versuchsreihen an größeren Kollektiven, um die in den Ergebnissen dieser Arbeit erkennbare Tendenz zu überprüfen.

Gemeinsam mit den der Literatur zu entnehmenden Erkenntnissen, weisen die Ergebnisse der im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen von Plasma und Gallenflüssigkeit somit darauf hin, dass durch die Abwesenheit des SR-BI in den extrahepatischen Geweben α -Tocopherol nicht in normalem Umfang aus dem Blutplasma aufgenommen, und gleichzeitig durch eine gestörte Gallen-Produktion nicht in physiologischen Mengen von den Hepatozyten in die Gallenflüssigkeit sezerniert werden kann. Gleiches trifft auch auf das Cholesterin zu, wobei hier dem Lebergewebe im Vergleich zu den extrahepatischen Geweben die bedeutend größere Rolle zugeschrieben werden muss, da die Hepatozyten – bedingt durch den Mangel an SR-BI

– ihre physiologische Aufgabe, überschüssiges Cholesterin aus dem Plasma zu eliminieren, anscheinend nicht mehr erfüllen können. Wie genau die Sekretion der unterschiedlichen Lipide in die Galle von SR-BI abhängig ist, wird erst in weiteren Studien geklärt werden können.

Leber

Die Leber ist das wichtigste Organ im systemischen Metabolismus der verschiedenen Lipide. Dies liegt zum einen an der Größe dieses Stoffwechselorgans und zum anderen daran, dass die einzelnen Hepatozyten eine sehr hohe Aktivität im Lipidstoffwechsel besitzen.

In der Leber findet sich die größte Menge an SR-BI [W. Witt et al., 2000; A. Rigotti et al., 2003]. Dies spiegelt sich unter anderem in den Ergebnissen des immunologischen Nachweises des SR-BI mithilfe des Western Blots wider, der für das Lebergewebe ein deutlich positives Signal des SR-BI erkennen lässt. Allerdings besitzen die Hepatozyten neben SR-BI noch zahlreiche weitere Lipoprotein-Rezeptoren, so dass auch in Abwesenheit von SR-BI viele Funktionen nahezu unverändert aufrechterhalten werden können.

Dies zeigen auch die in Kapitel 4.4.1. (Abb.9) und in Kapitel 4.5.1. (Abb.15) geschilderten Ergebnissen, die für die Leber weder hinsichtlich der α -Tocopherolkonzentration noch im Hinblick auf den Gehalt an den verschiedenen Fettsäuren bedeutende Unterschiede zwischen den untersuchten SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren erkennen lassen.

Ein Grund hierfür liegt wohl darin, dass der Hauptaufnahmeweg für Lipide in die Hepatozyten in der rezeptorvermittelten Endozytose der Chylomikronen-Remnants und der LDL-Partikel besteht, die unabhängig von SR-BI vonstatten geht.

In Zellkulturen konnte gezeigt werden, dass unabhängig von SR-BI auch die Hepatische Lipase (HL) eine vermehrte Aufnahme von HDL-assoziierten Cholesterinestern in die Zellen ermöglicht [M. Brundert et al., 2003]. *In vivo*-Experimente haben aber gezeigt, dass eine selektive Aufnahme von HDL-assoziierten Cholesterinestern in Hepatozyten in Abwesenheit des SR-BI nicht möglich ist [M. Brundert et al., 2005].

Der SR-BI wird in hohem Ausmaß im Leberparenchym exprimiert, was in dem durchgeführten Western-Blot (Abb.5 in Kapitel 4.3.1.) und in den in der Abb.6 (Kapitel 4.3.2.) dargestellten immunhistologischen Aufnahmen erkennbar ist. Dabei sind es nicht nur die Hepatozyten selbst, sondern auch die Endothelzellen der Lebersinusoiden und die Kupffer'schen Sternzellen, die den Rezeptor auf ihrer Oberfläche exprimieren [K.

Fluiter et al., 1998; L. Malerod et al., 2001]. Im Lebergewebe ist SR-BI zum einen an der selektiven Lipid- und besonders der Cholesterin-Aufnahme aus HDL in die Zellen beteiligt. Zum anderen ermöglicht er auf der Plasmamembran der Kupffer'schen Sternzellen, die von den Monozyten des Blutes abstammen und damit zur Phagozytose befähigt sind, die Endozytose apoptotischen Zellmaterials [L. Malerod et al., 2001].

Die Expressionsrate des SR-BI im Lebergewebe unterliegt der Regulation zahlreicher Faktoren. Im Hamster stimuliert die Zufuhr mehrfach ungesättigter Fettsäuren die Expression des Rezeptors in der Leber um ca. 50 % und dadurch die selektive Aufnahme von Cholesterin aus dem Blut [D. K. Spady et al., 1999]. In einer humanen Hepatozyten-Zell-Linie wurde nachgewiesen, dass die Expression des SR-BI zusätzlich negativ mit dem zellulären α -Tocopherol-Gehalt korreliert und dadurch von der Menge des mit der Nahrung aufgenommenen Vitamin E abhängig ist [W. Witt et al., 2000]. Auch scheinen Steroidhormone wie beispielsweise das Estrogen einen hemmenden Einfluss auf die Expressionsrate des SR-BI in den Leberzellen zu haben [W. Witt et al., 2000; B. Trigatti et al., 2000 b]. Experimente mit Hamstern und Mäusen haben bisher keinen Hinweis darauf gegeben, dass die Expression des SR-BI im Lebergewebe und im Zusammenhang damit auch der Transport von Cholesterin in die Leberzellen durch mit der Nahrung zugeführtes Cholesterin beeinflusst würde [L. A. Woollett et al., 1997; P. Mardones et al., 2001; A. Rigotti et al., 2003].

Zusammenfassend lassen sich für das Lebergewebe somit bedeutende Aufgaben des SR-BI im Cholesterin- und Lipid-Metabolismus des Organismus, sowie in der Beseitigung apoptotischen Materials aus dem Blutkreislauf erkennen. SR-BI scheint jedoch für den zellulären Lipid-Stoffwechsel der Hepatozyten nicht unentbehrlich zu sein. Allerdings weisen die erhöhten Cholesterin- und α -Tocopherolkonzentrationen im Blutplasma von SR-BI ko-Mäusen ebenso wie der geringere Gehalt dieser Stoffe in der Gallenflüssigkeit der Tiere darauf hin, dass die hepatische Ausscheidung bestimmter Lipide über die Galle bei SR-BI ko-Mäusen eingeschränkt ist [unter anderem A. Rigotti et al., 1997; P. Mardones et al., 2002].

Da die Leber eine so übergeordnete Rolle im Lipid-Stoffwechsel und besonders in der Homöostase des Cholesterin-Spiegels des gesamten Organismus spielt, wird die Erforschung des genauen Aufgabenspektrums und der verschiedenen Regulationsmechanismen des SR-BI in der Leber sicherlich auch in Zukunft fortgeführt werden.

Hirn

Das Gehirn nimmt bezüglich der Versorgung mit Nährstoffen eine Sonderrolle im Organismus ein, da das Blut in den Gefäßen weniger direkt mit dem Gewebe in Kontakt kommt, als dies in anderen Organen der Fall ist. Zum einen ist das Endothel der Hirnkapillaren im Gegensatz zu vielen anderen Kapillarendothelien nicht gefenstert, was bedeutet, dass die einzelnen Endothelzellen in direktem Kontakt zueinander stehen und durch die Ausbildung besonders vieler Tight Junctions und Desmosomen eine für viele Stoffe undurchlässige Barriere bilden [N. J. Abbott, 2002]. Wie alle Epithelien besitzt auch das Kapillarendothel eine Basalmembran, welche zusätzlich die freie Diffusion im Blut gelöster Stoffe in das Hirn unterbindet. In diese Basalmembran sind schmale Zellen eingelagert – die sogenannten Perizyten. Die als „Blut-Hirn-Schranke“ bezeichnete Barriere hat zur Folge, dass, abgesehen von wenigen sehr kleinen Molekülen, alle Substanzen durch mehr oder weniger spezifische Transportsysteme in das Hirn hinein oder aus ihm heraus transportiert werden müssen. Dadurch ist die Aufrechterhaltung eines konstanten extra- und intrazellulären Milieus möglich, welches sich in zahlreichen Parametern – und auch in der Lipid- und Lipoprotein-Zusammensetzung – von dem Milieu des Blutes unterscheidet [S. Koch et al., 2001; N. J. Abbott, 2002]. Rezeptoren wie der SR-BI, die den Transport lipophiler Moleküle aus dem Blut in zahlreiche Zellen und Gewebe ermöglichen, sind daher gerade für die Versorgung des Gehirns mit den dort benötigten Substanzen von großer Bedeutung.

Das Hirn enthält besonders viele lipophile Substanzen; 50 bis 60 % des Trockengewichtes dieses Organs wird von Lipiden gebildet, wovon wiederum mehrfach ungesättigte Fettsäuren wie die Arachidonsäure und die Docosahexaensäure, die in ihrer Synthese auf die essentiellen Fettsäuren Linol- und Linolensäure zurückgehen, ca. 35 % ausmachen [M. Haag, 2003]. Für die Synthese und Anreicherung dieser langkettigen Fettsäuren sind die Astrozyten des Hirns verantwortlich [N. Bernoud et al., 1998; S. M. Innis und R. A. Dyer, 2002].

Die unter 4.4.1. und 4.5.1. in den Abb.9 und 16 dargestellten Ergebnisse der α -Tocopherol- und Fettsäure-Messungen im Hirn zeigen im Vergleich zu anderen untersuchten Gewebearten eine relativ geringe Schwankungsbreite der Messwerte innerhalb der jeweiligen Kollektive. Für die gemessenen Fettsäuren ist keine deutliche Veränderung im Hirn der SR-BI ko-Mäuse zu erkennen. Der Gehalt des Hirns der SR-BI ko-Mäuse an α -Tocopherol erscheint tendenziell geringer als die entsprechenden Werte der wt-Tiere, was darauf hindeutet, dass der Verlust von SR-BI von anderen Transportwegen bezüglich des α -Tocopherol-Transfers nicht vollständig kompensiert

werden kann. Auch einige in der Literatur beschriebene Experimente geben Hinweise darauf, dass der SR-BI bei der Aufnahme von α -Tocopherol in das Hirn eine tragende Rolle spielt [D. Goti et al., 2001; P. Mardones et al., 2002]. Zudem scheint die selektive Aufnahme von Cholesterin-Estern in das Gehirn von Mäusen nur in Anwesenheit des SR-BI möglich [M. Brundert et al., 2005].

Dennoch konnte der SR-BI im Hirn weder in der immunhistologischen Färbung der Kryoschnitte, noch im Western-Blot der Membranproteine nachgewiesen werden (siehe unter 4.3.). Dies mag darauf zurückzuführen sein, dass der Rezeptor im Hirn eventuell nicht in allen Bereichen und nur in so geringen Mengen exprimiert wird, dass dies unterhalb der für die hier durchgeführten immunologischen Verfahren geltenden Nachweisgrenze liegt. Die Tatsache, dass der SR-BI sowohl im Lebergewebe (Immunhistologie und Western-Blot), als auch in der Nebenniere (Immunhistologie) dargestellt werden konnte, zeigt aber, dass der SR-BI mit dem verwendeten Antikörper generell detektierbar ist.

Die für das Hirn der SR-BI ko-Mäuse gezeigte Veränderung der Konzentration des α -Tocopherols, das von den Zellen des Gehirns nicht selbst synthetisiert, sondern obligat aus dem Blut aufgenommen werden muss, spricht für eine große Bedeutung des SR-BI in der Versorgung des Hirns mit bestimmten Lipiden.

In der Literatur ist eine Expression des SR-BI im Hirn beschrieben [unter anderem R. A. K. Srivastava und J. C. Jain, 2002; R. A. K. Srivastava, 2003]. Jedoch scheinen nicht alle im Hirn vorkommenden Zellarten den Rezeptor zu bilden. Der SR-BI konnte in den zur Versorgung der Neurone unerlässlichen Astrozyten und auch in den Endothelzellen, sowie den glatten Muskelzellen der Hirn-Kapillaren nachgewiesen werden [D. Goti et al., 2001; J. Husemann et al., 2002]. Von den verschiedenen im Hirn vorhandenen Gliazellen exprimieren neben den Astrozyten auch die Mikroglia-Zellen den SR-BI, jedoch nicht im adulten, sondern lediglich im neonatalen Hirn [J. Husemann und S. C. Silverstein, 2001; J. Husemann et al., 2002].

Es wurde gezeigt, dass SR-BI sowohl in der Versorgung des Hirns mit essentiellen Substanzen wie beispielsweise α -Tocopherol, als auch im reversen Cholesterin-Transport über die Blut-Hirn-Schranke zur Elimination überzähligen Cholesterins aus dem Hirn eine entscheidende Rolle spielt, was die bedeutende Rolle des SR-BI auf den Kapillarendothel-Zellen unterstreicht [D. Goti et al., 2001; P. Mardones et al., 2002; U. Panzenboeck et al., 2002]. Sicherlich ist auch die Expression des SR-BI in den Astrozyten von großer Bedeutung, da diese dem Glia-Gewebe angehörenden Zellen

entscheidend an der Aufrechterhaltung eines konstanten extrazellulären Milieus und an der Ernährung der Neuronen beteiligt sind. Zusätzlich sind die Astrozyten für die regelrechte Ausbildung der Blut-Hirn-Schranke bedeutsam [N. J. Abbott, 2002].

Neben SR-BI exprimieren die Zellen der Blut-Hirn-Schranke aber auch andere Rezeptoren für Lipoproteine und lipophile Substanzen. Hierzu gehören weitere Scavenger Receptors wie der SR A, aber auch der LDL-Rezeptor, das HDL-bindende Protein HB2 [D. Goti et al., 2001], sowie einige Fettsäure bindende Proteine, welche die Aufnahme freier Fettsäuren ermöglichen [K. Qi et al., 2002]. Es ist daher wahrscheinlich, dass ein Teil des Lipid-Transfers, der unter physiologischen Bedingungen mithilfe des SR-BI abläuft, im SR-BI ko-Tiermodell von anderen Rezeptoren und Transportsystemen kompensatorisch übernommen wird, wodurch die Auswirkungen des SR-BI-Verlustes auf den Stoffwechsel und die Lipid-Zusammensetzung des Hirns verringert werden.

5.2.2. Hodengewebe, Nebenhoden und Nebennieren

Hoden

Es wird angenommen, dass die α -Tocopherol-Aufnahme in die Zellen des Hodengewebes in Abhängigkeit des SR-BI stattfindet, da eine Veränderung des α -Tocopherol-Gehaltes in den Hoden von SR-BI ko-Mäusen im Vergleich zu wt-Tieren beschrieben worden ist [P. Mardones et al., 2002]. In dieser Arbeit zeigen sich hingegen keine Unterschiede zwischen den beiden Kollektiven hinsichtlich der α -Tocopherol-konzentration (Abb.10; Kapitel 4.4.2.).

Die Konzentrationen der meisten gemessenen Fettsäuren zeigen, wie in der Abb.17 in Kapitel 4.5.2. dargestellt, für das Hodengewebe der SR-BI ko-Mäuse kein von den Werten der wt-Tiere abweichendes Bild. Es fällt aber die bei den SR-BI ko-Mäusen deutlich niedrigere Konzentration einer essentiellen Fettsäure – der Linolensäure – auf. Diese Ergebnisse weisen auf eine wichtige Rolle des SR-BI bezüglich der Versorgung des Hodengewebes mit lipophilen Substanzen wie der essentiellen Fettsäure Linolensäure und α -Tocopherol hin. In der Literatur finden sich mehrere Hinweise darauf, dass SR-BI im Hodengewebe exprimiert wird und an der Aufnahme lipophiler Moleküle in die Zellen des Hodens beteiligt ist [K. Landschultz et al., 1996; E. Reaven et al., 2000]. Während zumeist das Cholesterin im Vordergrund dieser Betrachtungen

steht, werden zu α -Tocopherol und besonders zu den essentiellen Fettsäuren kaum Aussagen gemacht.

Der Hoden hat neben der Spermien-Produktion und der Ermöglichung der Spermien-Reifung die Aufgabe, Steroidhormone wie das Testosteron zu synthetisieren. Für die Produktion der Steroidhormone ist besonders eine bestimmte Zellpopulation von Bedeutung – die Leydig-Zellen – die in kleinen Grüppchen zwischen den Samenkanälchen des Hodengewebes liegen. Die Leydig-Zellen benötigen für die Hormonsynthese große Mengen Cholesterin, welches sie vornehmlich aus den HDL-Partikeln beziehen. Diese Leydig-Zellen weisen innerhalb des Hodens den größten Gehalt an SR-BI auf, was mit der Annahme einer SR-BI-abhängigen Cholesterin-Aufnahme von HDL in diese Zellen harmonisiert [K. Landschultz et al., 1996].

Allerdings ist der Rezeptor im Hodengewebe unter Ruhebedingungen mit der Immunhistochemie und mit Western Blots nur schwer detektierbar, was mit einer sehr geringen selektiven Aufnahme von HDL-Cholesterin in die Leydig-Zellen im Ruhezustand korreliert [E. Reaven et al., 2000]. Es wird vermutet, dass die Leydig-Zellen zur normalen Steroid-Hormon-Produktion nicht auf exogenes Cholesterin angewiesen sind [Rigotti et al., 2003; E. Reaven et al., 2000]. Dagegen wird die SR-BI-Expression durch exogene Zufuhr des gonadotropen Hormons hCG (humanes Chorion-Gonadotropin) in Leydig-Zellen so stark stimuliert, dass eine vermehrte selektive Aufnahme von Cholesterin aus HDL-Partikeln in die Leydig-Zellen ermöglicht wird, damit größere Mengen der Steroid-Hormone synthetisiert werden können [K. Landschultz et al., 1996; A. Rigotti et al., 2003; E. Reaven et al., 2000].

Auch die Sertoli-Zellen, denen eine entscheidende Rolle in der Ernährung sowie im Reifeprozess der Spermien zukommt, exprimieren den SR-BI in geringen Mengen, wobei diskutiert wird, ob SR-BI hier die Phagozytose apoptotischer Spermien initiiert [A. Shiratsuchi et al., 1999].

Obgleich die Expression des SR-BI im Hoden nachgewiesen ist und obwohl verschiedene Daten sicherlich zu der Annahme berechtigen, dass der Rezeptor wichtige Funktionen in den verschiedenen Zellen dieses Organs erfüllt, wurden bei männlichen SR-BI ko-Tieren bisher keinerlei Beeinträchtigung der Fertilität beobachtet [A. Rigotti et al., 1997]. Aus dieser Tatsache muss geschlossen werden, dass SR-BI weder für die adäquate Steroid-Hormon-Synthese der Leydig-Zellen, noch für andere im Reifungsprozess der produzierten Spermien essentiellen Vorgänge beispielsweise in den Sertoli-Zellen unerlässlich sein kann [A. Rigotti et al., 2003].

Nebenhoden

Deutliche Unterschiede in den Konzentrationen der Fettsäuren Palmitin-, Öl-, Linol- und Linolensäure sind zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren, wie in der Abb.18 in Kapitel 4.5.2. dargestellt, im Nebenhodengewebe zu erkennen. Dies deutet darauf hin, dass der Transport verschiedener Fettsäuren in die Zellen des Nebenhodens in Abhängigkeit des SR-BI stattfindet. Die Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen geben hingegen keinen Anlass zu der Annahme, dass die Aufnahme von α -Tocopherol in die Zellen des Nebenhodens bei den SR-BI ko-Mäusen eingeschränkt sei.

Die Menge aller in humanem Nebenhoden enthaltenen Lipide macht ca. 1,25 % des Gesamtgewichts des Organs aus [D. S. Sheriff, 1980], woraus zu ersehen ist, wie wichtig Lipide für die Funktionen des Nebenhodens sind.

Der Nebenhoden spielt als Organ des männlichen Genitaltraktes neben dem Hoden die wichtigste Rolle im Reifungsprozess der Spermien. Das Organ besteht im Wesentlichen aus einem langen und stark gewundenen Gangsystem, bei dessen Passage die reifenden Spermien wichtige Veränderungen durchmachen. Während die Spermien beim Übergang vom Hoden in den Nebenhoden ihre endgültige Form noch nicht erreicht haben und auch noch nicht zur selbstständigen Fortbewegung befähigt sind, entwickeln sie sich im Nebenhodengang zu voll beweglichen, reifen Spermien [G. Haidl und C. Opper, 1997; F. Tramer et al., 1998].

Wie genau dieser Reifungsprozess vonstatten geht und welche Interaktionen zwischen Gangepithel und Spermien hierbei von Bedeutung sind, ist noch nicht vollständig geklärt. Als sicher gilt, dass neben anderen Faktoren auch die Lipid-Zusammensetzung der Plasmamembran bei dieser Reifung eine wichtige Rolle spielt [R. A. Schlegel et al., 1986; P. S. James et al., 1999]. Bei der Reifung der Spermien verändert sich sowohl die Zusammensetzung der Plasmamembran, als auch die der Akrosomenmembran [P. S. James et al., 1999]. Das Akrosom des Spermiums ist ein aus dem Golgi-Apparat entstandenes cytoplasmatisch gelegenes Vesikel, welches in der Akrosomenreaktion das Eindringen der DNS des Spermiums in die weibliche Eizelle einleitet und damit von ganz entscheidender Bedeutung für die Funktion des gesamten Spermiums ist. Die Akrosomenreaktion wird unter anderem dadurch ermöglicht, dass die Akrosomenmembran einen hohen Grad an Instabilität aufweist [F. Tramer et al., 1998], wodurch ein Verschmelzen von Akrosomenmembran und Eihülle begünstigt wird. Es ist bekannt, dass der Gehalt an Phospholipiden und mehrfach ungesättigten Fettsäuren in der Membran der Spermien im Vergleich mit anderen Zellen des Körpers besonders hoch ist [A. Lenzi et al., 1996]. Im Verlauf der Spermienreifung nimmt die Konzentration der

mehrfach ungesättigten Fettsäuren, insbesondere die der Docosahexaensäure, immer weiter ab [M. Ollero et al., 2001; A. Lenzi et al., 1996], während die Phospholipidkonzentration weiter ansteigt [G. Haidl und C. Opper, 1997]. Zudem wird während der Maturation der Spermien Cholesterin aus cytoplasmatischen Vesikeln in die Plasmamembran integriert [P. S. James et al., 1999].

Wie empfindlich das Gleichgewicht zwischen den verschiedenen Lipiden im Nebenhoden und in der Membran der Spermien ist, lässt sich erahnen, wenn man beachtet, dass beispielsweise die Substitution von Corticosteroiden, durch die auch der Sexualhormonhaushalt beeinflusst wird, zu dramatischen Veränderungen in der Lipid-Zusammensetzung des Nebenhodengewebes führen, und dadurch eventuell die Fertilität eingeschränkt werden kann [K. Balasubramanian et al., 1987].

Ogleich das Lipid-Gleichgewicht in der Plasma- und Akrosomenmembran der Spermien sehr labil zu sein scheint, muss die Reifung der Spermien auch in Abwesenheit des SR-BI möglich sein, da Gegenteiliges nicht mit der uneingeschränkten Fertilität der männlichen SR-BI ko-Mäuse in Einklang zu bringen wäre.

Zwar geben die im Rahmen dieser Arbeit gewonnenen Erkenntnisse Hinweise darauf, dass SR-BI für die Anreicherung mehrerer Fettsäuren im Nebenhodengewebe von großer Bedeutung zu sein scheint und damit auch mit der hier ablaufenden Spermienreifung in Zusammenhang stehen könnte. Die genauen Mechanismen der Spermienreifung und die Rolle der Lipide und deren Rezeptoren innerhalb dieses Prozesses werden aber erst in späteren Versuchsreihen geklärt werden können.

Angaben zum Gehalt antioxidativer Substanzen, welche die Lipide der Spermienmembran sowie deren Erbmaterial vor oxidativen Schäden bewahren, finden sich nur wenig in der Literatur. Jedoch wird beschrieben, dass der Gehalt an Vitamin E in den reifen Spermien der Cauda epididymidis geringer ist als die Menge des in den unreifen Spermien des Nebenhodenkopfes enthaltenen Vitamins. Allerdings scheinen von dem jeweils vorhandenen α -Tocopherol von den reifen Spermien größere Anteile verwendet zu werden als von den unreifen Zellen [F. Tramer et al., 1998]. Da jedoch die unter 4.4.2. in der Abb.10 dargestellten Messergebnisse keinen Hinweis auf eine essentielle Funktion des SR-BI für die Versorgung des Nebenhodengewebes mit α -Tocopherol geben, ist davon auszugehen, dass SR-BI-unabhängige Transport- und Aufnahmewege für α -Tocopherol existieren. Über welche Rezeptoren diese Vorgänge vermittelt werden, ist jedoch noch nicht vollständig verstanden.

Nebennieren

Die im Verlauf dieser Arbeit erhobenen Daten geben zum Teil sehr deutliche Hinweise auf eine wichtige Funktion des SR-BI im Lipid-Metabolismus der Nebennieren. Zwar ist über die Abhängigkeit des α -Tocopherol-Transportes aufgrund sehr uneinheitlicher Messwerte bei den SR-BI ko-Mäusen keine Aussage möglich (Abb.10 in Kapitel 4.4.2.). Mithilfe der Immunhistologie gelang jedoch der Nachweis des Rezeptors in den Steroid-produzierenden Zellen der Nebennierenrinde. Des weiteren geben die unter 4.5.2. in der Abb.19 dargestellten Ergebnissen der Fettsäure-Analysen sehr deutliche Hinweise darauf, dass SR-BI eine entscheidende Rolle bei der Versorgung der Zellen des Nebennierengewebes mit verschiedenen Fettsäuren spielt, da die meisten der gemessenen Fettsäuren in den Nebennieren der SR-BI ko-Mäuse zum Teil deutlich niedriger konzentriert sind als im Vergleichsgewebe der wt-Tiere. Lediglich für die Arachidon- und die Eicosapentaensäure stellen sich die Konzentrationen anders herum dar. Der Gehalt dieser beiden Säuren ist jedoch im Gewebe der Nebennieren im Vergleich zu anderen Fettsäuren wie beispielsweise der Palmitin-, der Öl- und der Linolsäure insgesamt nur sehr gering, so dass hier auch kleine Messungenauigkeiten gegebenenfalls relativ große Auswirkungen gezeigt haben könnten.

Die in der Abb.7 im Kapitel 4.3.2. gezeigte immunhistologische Darstellung des SR-BI in der Nebenniere, die den Rezeptor in den Zellen der Zona fasciculata der Nebennierenrinde vermuten lässt, bekräftigt die Annahme, dass der SR-BI in den Nebennieren für die Versorgung des Gewebes mit Lipiden eine Bedeutung hat.

In ihrer Gesamtheit deuten die Ergebnisse dieser Arbeit auf eine Beteiligung des SR-BI an der Anreicherung verschiedener Fettsäuren in den Zellen der Nebennieren hin.

In der Literatur sind zahlreiche Angaben zur Expression des SR-BI in den Nebennieren zu finden [R. E. Temel et al., 1997; W. V. Rodriguez et al., 1999; D. L. Williams et al., 2002], wobei der Rezeptor in besonders hohen Konzentrationen in den Zellen der Zona fasciculata und der Zona reticularis der Nebennierenrinde nachzuweisen ist [K. L. Landschulz et al., 1996; A. Rigotti et al., 2003]. Während die Abb.7 im Kapitel 4.2. eher eine intrazelluläre Lokalisation des SR-BI nahe legt, wurde der Rezeptor in der Literatur auf den Zelloberflächen beschrieben [K. L. Landschulz et al., 1996; A. Rigotti et al., 2003]. Eindeutig ließe sich der SR-BI im Zellverband der Nebennierenrinde jedoch nur mithilfe elektronenmikroskopischer Aufnahmen lokalisieren.

Da die Zona fasciculata und die Zona reticularis diejenigen Zellen enthalten, die in besonders hohem Maße Gluco- und Mineralocorticoide synthetisieren und in den Blutkreislauf sezernieren, ist eine Korrelation zwischen hohem Cholesterin-Bedarf für

die Hormon-Produktion und SR-BI-Expression zu erkennen. Die Hauptquelle exogenen Cholesterins stellt die selektive Aufnahme von an HDL gebundenem Cholesterin dar [A. Rigotti et al., 2003], bei welcher – wie in Kapitel 2.3.1. ausgeführt – der SR-BI von besonderer Bedeutung ist. Wie schon bei anderen Organen war aus diesem Grund auch bei den Nebennieren fast ausschließlich der Cholesterin-Transport in die Steroidproduzierenden Zellen Inhalt bisheriger Forschungsprojekte, und so gibt die Literatur in erster Linie hierüber Auskunft. Es konnte gezeigt werden, dass bei Mäusen die selektive Aufnahme von Cholesterin-Estern in die Nebennieren in Abwesenheit von SR-BI nicht möglich ist [M. Brundert et al., 2005].

Hinsichtlich der Rolle des SR-BI im Cholesterin-Metabolismus der Nebennierenrindenzellen war unter anderem die Regulation der SR-BI-Expression durch endogen produzierte oder exogen zugeführte Steroide, sowie durch den intrazellulären Cholesterin-Gehalt von Interesse. Diesbezüglich konnte festgestellt werden, dass hohe Dosen Estrogen [K. T. Landschulz et al., 1996], ebenso wie hohe Glucocorticoid-Gaben [A. Rigotti et al., 1996] die Expression von SR-BI in den Zellen der Nebennierenrinde vermindern. Beide Hormone senken als Mitglieder der Familie der Steroide durch einen negativen Feedback-Mechanismus den Spiegel des ACTH (Adrenocorticotropes Hormon) im Blut. Eine erhöhte ACTH-Ausschüttung hingegen, durch die eine vermehrte Synthese der Steroid-Hormone durch die Nebennierenrindenzellen induziert wird, verstärkt deren SR-BI-Expression [Y. Sun et al., 1999; A. Rigotti et al., 1996; D. L. Williams et al., 2000].

Im Gegensatz zum ACTH, welches hauptsächlich die Synthese der Glucocorticoide Cortison und Cortisol in der Zona fasciculata der Nebennierenrinde reguliert, stimuliert ein weiteres Hormon – das Angiotensin II – in erster Linie die Produktion des Mineralocorticoids Aldosteron in der Zona glomerulosa. Auch durch Angiotensin II wird die Expression des SR-BI auf den Zellen der Nebennierenrinde verstärkt [N. Cherradi et al., 2001; A. Pilon et al., 2003].

Als ein weiterer Faktor, der in der Regulation der SR-BI-Expression auf den Zellen der Nebennierenrinde eine Rolle spielt, wurde der intrazelluläre Cholesterin-Pool der Zellen identifiziert [Y. Sun et al., 1999]. Obwohl bei hohem Cholesterin-Gehalt der Zellen die SR-BI-vermittelte selektive Cholesterin-Aufnahme *in vitro* unabhängig von ACTH gehemmt wird, kommt diesem Mechanismus *in vivo* bei hohem ACTH-Spiegel im Blut nur eine untergeordnete Rolle zu, da der stimulierende Effekt des ACTH überwiegt [Y. Sun et al., 1999; G. Cao et al., 1999].

Wäre jedoch der SR-BI unerlässlich für die Versorgung des Nebennierengewebes mit ausreichenden Mengen Cholesterins, stünde hierzu die phänotypische Unauffälligkeit der SR-BI ko-Tiere im Widerspruch. Vielmehr gilt auch für die Nebennieren, was für das Hodengewebe bereits ausgeführt worden ist: Unter den normalen, physiologischen Bedingungen, reicht die endogene Cholesterin-Produktion in den Zellen der Nebennierenrinde aus, um eine adäquate Hormon-Synthese zu gewährleisten [A. Rigotti et al., 2003]. Dadurch ist auch in Abwesenheit des SR-BI die Produktion der lebenswichtigen Hormone Cortison und Aldosteron nicht gravierend eingeschränkt. Die Cholesterin-Speicher der Steroid-produzierenden Zellen der Nebennierenrinde sind in den Organen von SR-BI ko-Mäusen allerdings deutlich weniger gefüllt als in denen von wt-Tieren [A. Rigotti et al., 1997].

Gemeinsam zeigen die im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten und die in der Literatur gemachten Angaben, dass dem SR-BI eine wichtige Funktion bei der Anreicherung lipophiler Moleküle in den Steroid-produzierenden Zellen der Nebennierenrinde zukommt. Allerdings ist aus den in der Abb. 10 unter 4.4.2. dargestellten Messergebnisse keine klare Aussage hinsichtlich eines eventuell veränderten α -Tocopherol-Metabolismus bei SR-BI ko-Mäusen zu treffen, so dass unter anderem diese Frage im Interesse weiterer Forschungsarbeiten stehen wird. Auch wäre es interessant, anhand eines größeren Kollektivs von Versuchstieren zu eruieren, ob eine Einschränkung des Fettsäure-Transportes in die Nebennierenzellen für essentielle und nicht-essentielle Fettsäuren in gleicher Weise zu beobachten ist, oder ob nicht der Gehalt an essentiellen Fettsäuren im Nebennierengewebe der SR-BI ko-Tiere stärker von den in wt-Tieren erhobenen Werten abweicht, als die Konzentration der nicht-essentiellen Fettsäuren, die von den Zellen auch endogen synthetisiert werden können.

5.2.3. Lunge, Nieren, Milz und weißes Fettgewebe

Lungengewebe

Für das Lungengewebe zeigen die α -Tocopherol-Messungen und Fettsäure-Analysen keine bedeutenden Differenzen zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Tieren.

Die in der Literatur zu findenden Angaben weisen darauf hin, dass die α -Tocopherol-konzentration im Lungengewebe von SR-BI ko-Mäusen signifikant niedriger ist als im Vergleichsgewebe der wt-Tiere [Mardones et al., 2002]. Wie bereits in Kapitel 4.4.3.

erläutert, wurde die Nahrung der Versuchstiere von Mardones et al. mit α -Tocopherol angereichert und den Tieren in der Nacht vor der Organentnahme entzogen, so dass sehr konstante Bedingungen erzeugt und Unterschiede zwischen SR-BI ko- und wt-Tieren zum Teil verdeutlicht werden konnten.

SR-BI wird im Lungengewebe in erster Linie von den Typ II Pneumozyten exprimiert [I. Kolleck et al., 1999]. In diesen besonderen Zellen des Alveolarepithels findet die Produktion des Surfactants statt, einem Gemisch aus Cholesterin, mit mehrfach ungesättigten Fettsäuren angereicherten Phospholipiden und Phosphatidylcholin [I. Kolleck et al. 2002]. Das Surfactant setzt die Oberflächenspannung der Alveolen soweit herab, dass ein Kollabieren der Alveolen verhindert wird. Zusätzlich hat das Surfactant die Aufgabe, die Alveolarzellen vor den in großer Zahl in der Atemluft vorhandenen Oxidanzien zu schützen. Um dieser Aufgabe gerecht zu werden, muss das Surfactant während seiner Synthese in den Typ II Pneumozyten mit Vitamin E – vornehmlich mit α -Tocopherol – angereichert werden [B. Rüstow et al., 1993; I. Kolleck et al., 1999].

Es wurde gezeigt, dass α -Tocopherol den Pneumozyten II hauptsächlich durch die HDL-Partikel zur Verfügung gestellt und über einen SR-BI-abhängigen Mechanismus in die Zellen aufgenommen wird [A. Rigotti et al., 2003; Mardones et al., 2002; I. Kolleck et al., 1999]. Neben dem SR-BI ermöglichen auch eine membrangebundene Dipeptidase und das HDL-bindende Protein HB2 eine selektive Aufnahme von α -Tocopherol aus HDL in die Typ II Pneumozyten [B. Rüstow et al., 1993].

Die Expression des SR-BI im Lungengewebe wird unter anderem durch die mit der Nahrung aufgenommene α -Tocopherol-Menge vermutlich über posttranskriptionelle Regulationsmechanismen beeinflusst [I. Kolleck et al., 2000].

Von besonderem Interesse ist zudem, dass SR-BI in der Lunge erst zu einem späten Zeitpunkt der Embryonal-Entwicklung exprimiert wird: Erst einen Tag vor der Geburt kann SR-BI in den Typ II Pneumozyten nachgewiesen werden. Nach der Geburt nimmt die Expressionrate des Rezeptors in diesen Zellen zunächst stark zu [I. Kolleck et al., 2000; A. Rigotti et al., 2003]. Dies mag eine Erklärung dafür sein, dass das Leben Frühgeborener aufgrund nicht vollständig entwickelter und insuffizienter Surfactant-Produktion oft durch ein Kollabieren der Lungenalveolen gefährdet ist.

Die Bedeutung des SR-BI in Typ II Pneumozyten für den Metabolismus anderer Lipide als der Tocopherole bleibt in der Literatur noch ungeklärt. Den im Rahmen dieser Arbeit erhobenen Daten ist kein Hinweis auf eine unumgängliche Funktion von SR-BI bei der Versorgung des Lungengewebes mit den verschiedenen essentiellen Fettsäuren zu entnehmen.

Niere

Da die Schwankungsbreite der Messergebnisse bei der α -Tocopherol-Bestimmung und in geringerem Ausmaß auch bei der Fettsäure-Analyse für das Nierengewebe relativ groß ist, bedarf es zunächst noch weiterführender Versuchsreihen, bevor eine zufrieden stellende Aussage über die Bedeutung des SR-BI für dieses Organ gemacht werden kann. Ähnliches gilt für die später besprochenen Gewebe Herzmuskel, weißes Fettgewebe, sowie für die Wand von Magen und Dünndarm.

Zwar ergeben die in dieser Arbeit durchgeführten Messungen keine klaren Erkenntnisse bezüglich einer Abhängigkeit der α -Tocopherol-Aufnahme in die einzelnen Zellen des Nierengewebes, in der Literatur finden sich jedoch Hinweise darauf, dass SR-BI in der α -Tocopherol-Versorgung der Niere nicht unerlässlich ist, da in früheren Experimenten im Gewebe von SR-BI ko-Mäusen gleiche α -Tocopherolkonzentrationen gefunden wurden wie im Gewebe von wt-Tieren. [P. Mardones et al., 2002].

Milz

Eines der Organe, in denen zwischen den SR-BI ko-Mäusen und den wt-Vergleichstieren in dieser Arbeit ein Unterschied sowohl im α -Tocopherol-Gehalt als auch in den Konzentrationen der verschiedenen Fettsäuren festgestellt werden konnte, ist die Milz (siehe Abb.11, Kapitel 4.4.3. und Abb.22, Kapitel 4.5.3.). Die Arbeitsgruppe um P. Mardones hatte im Gegensatz dazu im α -Tocopherol-Gehalt keine signifikanten Differenzen zwischen dem wt- und dem SR-BI ko-Kollektiv erkennen können [P. Mardones et al., 2002]. Ein Grund für diese voneinander abweichenden Ergebnisse kann darin liegen, dass die im Rahmen dieser Arbeit verwendeten Versuchstiere vor der Organentnahme perfundiert wurden. Dadurch wurde zumindest ein Großteil des Blutplasmas aus dem Milzgewebe entfernt. Da das Plasma der SR-BI ko-Mäuse deutlich höhere α -Tocopherol-Werte aufweist als das Plasma der wt-Tiere [P. Mardones et al., 2002], könnte bei den Messungen von P. Mardones et al. ein im Milzgewebe der SR-BI ko-Mäuse niedrigerer α -Tocopherol-Gehalt zumindest teilweise von im Gewebe enthaltenem Blutplasma überdeckt und „ausgeglichen“ worden sein.

Die Milz besitzt physiologischerweise nur wenig „eigenes“, organspezifisches Parenchym; die Masse des Milzgewebes wird stattdessen zum größten Teil von verschiedenen Blutzellen gebildet. Zum einen ist das Milzgewebe sehr stark durchblutet und dadurch sehr reich an Erythrozyten. Zum anderen kommt der Milz eine wichtige Aufgabe in der Abwehr schädlicher Keime und im Abbau überalterter Blutzellen zu.

Daher wird das Parenchym der Milz hauptsächlich von Leukozyten gebildet, wobei die Lymphozyten den mit Abstand größten Anteil ausmachen.

Da das Plasma und die Erythrozyten zum größten Teil durch die der Organentnahme vorausgegangene Perfusion der Versuchstiere aus dem Milzgewebe herausgespült worden sind, stehen die unterschiedlichen in der Milz vorhandenen Leukozyten, wie Lymphozyten, Makrophagen und Granulozyten, als mengenmäßiger Hauptbestandteil des Milzparenchyms im Vordergrund der Betrachtung.

Allerdings wurde eine Bedeutung des SR-BI auch für die Erythrozyten nachgewiesen: Bei SR-BI ko-Mäusen ist die Reifung der Erythrozyten gestört, so dass die Tiere leicht anämisch sind. Die vorhandenen Erythrozyten sind zum Teil fehlgebildet und auch die Vorläuferzellen der Erythrozyten im Blut, die Retikulozyten, sind nicht physiologisch entwickelt [Rigotti et al., 2003].

Für Makrophagen, die als wichtiger Bestandteil des Monozytären Phagozytose-Systems auch in der Milz vorkommen und deren Hauptaufgabe in der Phagozytose und im anschließenden Abbau infizierter oder apoptotischer Zellen, überalterter Blutzellen oder potentiell pathogener Keime liegt, ist die Expression von Scavenger Receptors wie dem SR-BI bereits mehrfach in der Literatur beschrieben [K. Hirano et al., 1999; A. Rigotti et al., 2003]. Der SR-BI hat als Oberflächenrezeptor auf den Makrophagen unter anderem die Aufgabe, an Zelldetritus und apoptotische Zellen [M. Fukasawa et al., 1996], aber auch an einige Bakterien zu binden und dadurch deren Phagozytose durch die Makrophagen zu ermöglichen [A. Rigotti et al., 2003]. Wichtig ist der SR-BI auf der Oberfläche der Makrophagen auch für das Binden und die Endozytose oxidativ veränderter oder acetylierter Lipoproteine [M. Fukasawa et al., 1996; J. M. Zingg et al., 2000; X. Gu et al., 2000]. So wird bereits seit längerem eine wichtige Funktion des SR-BI im Zusammenhang mit immunologischen Reaktionen sowie mit atherosklerotischen Veränderungen angenommen [M. W. Freeman, 1997], wobei SR-BI zum einen die Phagozytose modifizierter Lipoproteine einleitet, auf der anderen Seite jedoch auch eine antiatherogene Aktivität besitzt [B. L. Trigatti et al., 2003], indem durch SR-BI der erste Schritt des Rücktransportes von Cholesterin aus der Arterienwand zur Leber ermöglicht wird.

Auch auf humanen Thrombozyten gelang der Nachweis von SR-BI [H. Imachi et al., 2003]. Die Expression des Rezeptors auf den Thrombozyten steht dabei in einer negativen Korrelation zu deren Aggregation im Verlauf der Blutgerinnung sowie zum Cholesterin-Gehalt der Zellen. Des Weiteren wurde beobachtet, dass Thrombozyten von

Patienten, die an Atherosklerose leiden, geringere Expressionsraten des Rezeptors aufweisen [H. Imachi et al., 2003].

Für Lymphozyten konnten in der Literatur keine Angaben zur Expression von SR-BI gefunden werden. In Anbetracht der deutlichen Unterschiede zwischen SR-BI ko- und wt-Mäusen in einem Organ, dessen Parenchym zu einem großen Teil von Lymphozyten gebildet wird, erscheint diese jedoch sehr wahrscheinlich.

Da Versuchsreihen anderer Arbeitgruppen darauf hindeuten, dass die selektive Aufnahme von Cholesterin-Estern in das Milzgewebe von SR-BI abhängig sei [M. Brundert et al., 2005], wäre es von großem Interesse, in späteren Versuchsreihen direkt die verschiedenen Leukozytenarten hinsichtlich einer eventuellen Expression des SR-BI zu untersuchen und dessen genauere Funktion in diesen Zellen zu eruieren.

Fettgewebe

Die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen des Fettgewebes lassen keinen Anhaltspunkt für eine Abhängigkeit des α -Tocopherol- und Fettsäure-Transportes von SR-BI erkennen. Jedoch sind die Messergebnisse weniger einheitlich als dies bei anderen Gewebearten der Fall gewesen ist.

Auch in der Literatur ist kaum ein Hinweis auf die Expression oder die Funktion des SR-BI in den Adipozyten des weißen Fettgewebes zu finden. Im Fettgewebe spielt statt dessen die endotheliale Lipoproteinlipase eine sehr große Rolle, durch welche Fettsäuren aus den unter anderem in VLDL oder Chylomikronen enthaltenen Triacylglyceriden abgespalten werden [T. Seo et al., 2000]. Da in Adipozyten hauptsächlich Triacylglyceride gespeichert werden, haben diese Zellen keinen sehr hohen Bedarf an Cholesterin, womit auch ein stark ausgeprägter selektiver Transport von Cholesterin über die Plasmamembran als nicht wahrscheinlich anzusehen ist. Um eine sichere Aussage über eine mögliche Expression und Aufgabe des SR-BI in Adipozyten machen zu können, sind jedoch weitere Experimente sinnvoll.

Für das weiße Fettgewebe zeigen die Messergebnisse innerhalb des wt-Kollektivs eine Besonderheit, wie sie sich in dieser Ausprägung sonst bei keiner der untersuchten Gewebearten darstellt (siehe Abb.23 in Kapitel 4.5.3.). Während für die mit einem Lebensalter von sechs Monaten älteren Mäuse G und H sehr ähnliche Fettsäure-Werte gemessen wurden wie für die gleichaltrigen SR-BI ko-Tiere, sind die Konzentrationen der einzelnen Säuren im Fettgewebe der jüngeren, 3 Monate alten wt-Tiere E und F deutlich höher. Erstaunlich ist zudem, dass sich der α -Tocopherol-Gehalt gegenläufig zu dieser Tendenz darstellt: Hier weisen die Älteren wt-Mäuse tendenziell höhere Werte

auf als die jüngeren Tiere (siehe Abb.11 in Kapitel 4.4.3.). Eine mögliche Erklärung für diese großen Differenzen vor allem in den Konzentrationen der gemessenen Fettsäuren liegt im unterschiedlichen Alter der Versuchstiere. Es konnten in der Literatur jedoch keine Angaben über eine altersabhängige Veränderung der Lipidkonzentration im Fettgewebe von Mäusen gefunden werden.

Des Weiteren könnte die Extraktion der lipophilen Substanzen aus dem Fettgewebe aufgrund des dort sehr hohen Lipidgehaltes weniger erfolgreich sein als bei anderen Geweben. Zum einen würden durch eine daraus resultierende unvollständige Extraktion der Fettsäuren und des α -Tocopherols insgesamt niedrigere Konzentrationen gemessen, als in Wirklichkeit im Gewebe vorhanden waren. Zum anderen könnte auch die Reproduzierbarkeit der Messungen unter einer unvollständigen Extraktion leiden, so dass zu verschiedenen Zeitpunkten ein unterschiedlich großer Teil der tatsächlich enthaltenen Lipide extrahiert und damit der Bestimmung zugeführt würde. Letzteres wäre eine mögliche Erklärung für die oben geschilderten Unterschiede zwischen den jüngeren wt-Mäusen und den übrigen vier Tieren, da die Messungen der Gewebe der jüngeren und älteren Tiere nicht zeitgleich stattfanden.

Ein deutlich geringerer aber dennoch erkennbarer Unterschied zwischen den wt-Mäusen verschiedenen Alters ist auch bei einigen anderen Gewebearten festzustellen. Weder treten hier jedoch die Unterschiede so gravierend, noch so konstant sowohl bei α -Tocopherol als auch bei fast allen gemessenen Fettsäuren auf.

5.2.4. Skelettmuskulatur, Herzmuskel, Wand des Magens und des Dünndarmes

Skelettmuskulatur und Herzmuskel

Die Ergebnisse bezüglich der Skelettmuskulatur und des Herzmuskels werden im Folgenden gemeinsam diskutiert, da es sich bei beiden Geweben um quergestreifte Muskulatur handelt, so dass die Stoffwechseleigenschaften in vielerlei Hinsicht vergleichbar sind.

Wie bereits unter 5.1. dargestellt, unterscheidet sich bei einigen der untersuchten Gewebearten das Messergebnis einer einzelnen Maus zum Teil sehr deutlich von denen der anderen Tiere. Oft ergeben besonders die Messungen der Gewebe der SR-BI ko-Maus I entschieden höhere α -Tocopherol-Werte als bei den übrigen Tieren. Sehr ausgeprägt ist dies zum einen bei den Nebennieren, zum anderen aber auch im

Herzmuskel und in der Skelettmuskulatur (Messergebnisse unter 4.4. beschrieben; Abb.10 und 12). Angesichts des nur kleinen SR-BI ko-Kollektivs ist daher nicht zu entscheiden, welcher der bei den beiden SR-BI ko-Tieren gemessenen Werte die „wahren“ Verhältnisse im jeweiligen Gewebe am ehesten wiedergibt.

Ähnlich wie für das weiße Fettgewebe, gilt auch für die quergestreifte Muskulatur, dass für den zellulären Lipidstoffwechsel hauptsächlich der LDL-Rezeptor und die endotheliale Lipoproteinlipase von Bedeutung sind. Über diese wird die Versorgung der Muskelzellen sowohl mit in Triacylglyceriden veresterten Fettsäuren als auch mit Cholesterin als Bestandteil der zellulären Membranen gewährleistet.

In vitro- Experimente haben gezeigt, dass die Lipoproteinlipase hierbei eine besonders wichtige Rolle spielt, da dieses Enzym nicht nur die Hydrolyse von Triacylglyceriden katalysiert, sondern zusätzlich die Aufnahme von Lipoproteinen in die Zellen [T. Seo et al., 2000], und einen selektiven Transport von Cholesterin-Estern aus den Lipoproteinen ermöglicht [F. Rinninger et al., 2001]. Diese selektive Aufnahme von Cholesterin erfolgt in Abhängigkeit von Proteoglykanen auf der Zelloberfläche, ist jedoch unabhängig von SR-BI [T. Seo et al., 2000; F. Rinninger et al., 2001].

Über die Rolle des SR-BI im Lipid-Metabolismus der quergestreiften Muskulatur konnten leider durch die im Rahmen dieser Arbeit durchgeführten Messungen keine sicheren Erkenntnisse gewonnen werden, weswegen die Frage nach SR-BI-vermittelten Lipid-Transportwegen in quergestreiften Muskelzellen bis auf weiteres offen bleibt.

Magen-Darm-Trakt

Die ermittelten Messwerte von der Wand des Magens und des Dünndarmes sind ebenfalls wenig aussagekräftig, da auch hier relativ großen Schwankungen innerhalb der Kollektive auftreten.

Es finden sich in der Literatur Angaben zur Expression des SR-BI im Intestinum, wobei der Rezeptor hauptsächlich apikal auf dem den Magen-Darm-Trakt auskleidenden Epithel nachgewiesen wurde [S. F. Cai et al., 2001; P. J. Voshol et al., 2001]. Die Expression des Rezeptors ist nicht in allen Bereichen des Darmes gleich stark ausgeprägt: Sie nimmt nach aboral hin ab und ist im Duodenum am stärksten [H. Hauser et al., 1998; P. J. Voshol et al., 2001]. Das Duodenum ist derjenige Darmabschnitt, der für die intestinale Cholesterin-Absorption am bedeutendsten ist, was eine wichtige Rolle des SR-BI für die Aufnahme von Cholesterin nahelegt. Bemerkenswert ist zudem, dass SR-BI im mittleren Dünndarmabschnitt – dem Jejunum – weniger in der luminalen Zellmembran der Enterozyten lokalisiert ist, und damit

sicherlich eine geringere Rolle im Cholesterin-Transport über die apikale Membran spielt. Stattdessen ist der Rezeptor im Jejunum vermehrt in den basolateralen Anteilen der Enterozytenmembran nachweisbar [S. F. Cai et al., 2001], was eine Rolle des SR-BI im intestinalen Lipoproteinmetabolismus wahrscheinlich macht.

Der Rezeptor kann jedoch für die intestinale Lipid-Absorption nicht unerlässlich sein, da sich die SR-BI ko-Mäuse hinsichtlich der intestinalen Cholesterin-Aufnahme nicht von den wt-Tieren unterscheiden [P. Mardones et al., 2001; S. W. Altmann et al., 2002]. Es scheinen daher zusätzlich SR-BI-unabhängige Mechanismen zu existieren, die auch in Abwesenheit des SR-BI einen suffizienten Transport des Cholesterins aus dem Darmlumen gewährleisten.

6. Zusammenfassung

Die vermutete Differenz zwischen den α -Tocopherol- und Fettsäure-Gewebespiegeln der SR-BI-ko-Mäuse und denen der wt-Tiere konnte in den meisten der untersuchten Gewebearten nicht bestätigt werden.

In einigen Organen der SR-BI ko-Mäuse unterscheiden sich die Konzentrationen von Fettsäuren und α -Tocopherol jedoch zum Teil deutlich von denen der wt-Tiere. Dies gilt für die Nebennieren, die Hoden, die Nebenhoden, die Milz, das Gehirn, sowie für die Gallenflüssigkeit.

In den Nebennieren der SR-BI ko-Tiere liegen die Konzentrationen fast aller gemessenen Fettsäuren erheblich unterhalb der Vergleichswerte des wt-Kollektivs. In den Nebenhoden sind die Differenzen zwar weniger ausgeprägt, aber immer noch auffällig. Im Milzgewebe der SR-BI ko-Mäuse weichen die Fettsäure-Werte nur gering von denen der wt-Tiere ab, die α -Tocopherolkonzentration ist hier jedoch deutlich erniedrigt. In den Hoden fällt der bei den SR-BI ko-Tieren geringere Gehalt an Linolensäure auf. Im Gehirn der SR-BI ko-Mäuse ist das α -Tocopherol in niedrigerer Konzentration enthalten als bei den wt-Vergleichstieren. In der Gallenflüssigkeit weist die SR-BI ko-Maus beträchtlich höhere Fettsäurekonzentrationen als die wt-Mäuse auf. Im Gegensatz dazu differiert der α -Tocopherol- und Fettsäure-Gehalt beispielsweise im Lebergewebe der SR-BI ko-Mäuse nicht von den im Vergleichsgewebe der wt-Tiere gemessenen Werten.

Für einige der untersuchten Gewebe kann die Frage nach der Abhängigkeit der α -Tocopherol- und Fettsäure-Versorgung von SR-BI-vermittelten Transportwegen in dieser Arbeit nicht beantwortet werden, da hier die Ergebnisse innerhalb der einzelnen Kollektive zu uneinheitlich waren.

Um die Bedeutung des SR-BI in den verschiedenen Organen noch genauer zu untersuchen, sind zukünftige Versuchsreihen an größeren Tier-Kollektiven vonnöten, welche mir im Rahmen dieser Arbeit leider nicht zur Verfügung standen.

7. Abkürzungsverzeichnis

ABCA 1	ATP-binding cassette transporter class A 1
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
Apo	Apolipoprotein
α TTP	α -Tocopherol-Transfer-Protein
BSA	bovines Serum Albumin
DAPI	4',6-diamidino-2-phenylindole
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
HB	HDL-bindendes Protein
HDL	high density lipoprotein
HL	Hepatische Lipase
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
IDL	intermediate density lipoprotein
IS	interner Standard
ko	knock-out
LDL	low density lipoprotein
Lp	Lipoprotein
LpL	Lipoproteinlipase
LOX	lecitin-like oxidized LDL receptor
LRP	LDL-Receptor related protein
MARCO	macrophage receptor with a collagenous structure
PBS	Phosphatgepufferte Kachsalzlösung
PO	Peroxidase
PPD	1,2-Phenyldiamin
SDS	Sodium- (Natrium-) dodecylsulfat
SR	Scavenger Receptor
SR-BI	scavenger receptor class B type I
TBS	Tris-buffered saline
TEMED	N,N,N',N'-Tetramethyldiamin
TocH	α -Tocopherol
Tris	Tris-hydroxymethylaminomethan
VLDL	very low density lipoprotein
wt	Wildtyp-Tiere

8. Anhang

Im Folgenden sind die Daten tabellarisch dargestellt, die für die im Ergebnisteil gezeigten Abbildungen verwendet wurden.

Einige der Fettsäure-Messungen des Gaschromatographen waren aufgrund von Verunreinigungen der aufbereiteten Proben nicht sinnvoll auszuwerten. Die Daten dieser Messungen wurden verworfen, um ein Verfälschen des Gesamtergebnisses zu verhindern (im Tabellen-Anhang sind die entsprechenden Stellen mit ₁₎ markiert).

8.1. Genauigkeit der Fettsäure-Messung bei verschiedenen Einwaage-Mengen

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	Einwaage- Menge ca. 25 mg		Differenz der Doppel- werte bei 25mg Einwaage	Einwaage- Menge ca. 10 mg		Differenz der Doppelwerte bei 10mg Einwaage	Einwaage- Menge ca. 5 mg		Differenz der Doppelwerte bei 5mg Einwaage
Palmitin- säure	9,73	9,79	0,06	12,0	10,7	1,32	13,8	11,2	2,57
Stearin- säure	5,68	5,70	0,02	7,53	6,78	0,74	8,85	7,95	0,89
Ölsäure	4,89	4,87	0,03	5,71	5,14	0,58	6,46	4,87	1,58
Linolsäure	5,53	5,53	0,01	6,44	5,78	0,66	7,18	5,31	1,86
Linolen- säure	0,24	0,24	0,00	0,39	0,37	0,02	0,57	0,56	0,01
Arachidon- säure	6,32	6,28	0,04	7,27	6,55	0,72	7,84	5,96	1,88
Eicosa- pentaen- säure	0,43	0,42	0,04	0,69	0,65	0,04	0,90	0,94	0,04
Docosa- pentaen- säure	0,46	0,46	0,01	0,56	0,49	0,06	0,59	0,43	0,16
Docosa- hexaen- säure	5,02	5,01	0,01	5,78	5,18	0,60	6,24	4,39	1,85

8.2. Ergebnisse der α -Tocopherol-Messungen

α-Tocopherol- konzentration in nmol/g Gewebe	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
Plasma [μmol/l]	5,5	²⁾	5,5	6,6		6,6	9,9	8,5	9,2	11,0	10,9	10,9	19,9	16,2	18,1	8,2	7,9	8,0
Leber	24,0	24,0	24,2	24,6	25,5	22,0	24,4	24,9	24,7	28,5	28,3	28,4	26,7	28,2	27,4	28,5	28,3	28,4
	23,9	24,8		16,3	21,7		²⁾	²⁾		²⁾	²⁾		²⁾	²⁾		²⁾	²⁾	
Galle [μmol/l]	4,4	²⁾	4,4	²⁾	²⁾	²⁾	7,6	²⁾	7,6	8,7	²⁾	8,7	7,6	²⁾	7,6	²⁾	²⁾	²⁾
Gehirn	13,8	12,9	13,4	15,0	13,3	14,0	11,5	11,3	9,9	10,7	10,0	8,8	6,0	5,4	4,8	8,9	8,5	8,4
	13,0	13,9		13,8	13,7		8,0	8,7		7,7	6,9		4,1	3,7		7,8	8,5	
Hoden	9,4	15,2	12,3	19,2	16,9	18,0	14,6	13,9	14,3	11,9	12,4	12,2	8,1	8,4	8,3	14,5	15,5	15,0
Nebenhoden	19,0	25,3	22,1	28,1	23,5	25,8	28,6	²⁾	28,6	22,6	²⁾	22,6	27,5	²⁾	27,5	21,6	²⁾	21,6
Nebennieren	57,1	²⁾	57,1	38,8	²⁾	38,8	38,4	²⁾	38,4	27,9	²⁾	27,9	397,0	²⁾	397,0	39,7	²⁾	39,7
Lunge	23,6	22,3	22,9	17,7	20,5	19,1	9,5	11,0	10,2	15,6	15,8	15,7	25,2	25,8	25,5	15,9	14,4	15,2
Niere	20,8	19,7	20,2	17,5	19,2	18,3	7,9	15,5	11,7	11,8	10,7	11,2	16,6	20,9	18,8	7,9	10,1	9,0
Milz	25,7	26,9	26,3	18,2	20,7	19,5	27,8	18,1	23,0	21,8	21,1	21,5	15,1	11,5	13,3	15,3	15,2	15,3
Fettgewebe	35,2	29,4	32,3	19,7	23,7	21,7	60,7	63,8	62,3	68,8	99,2	84,0	100,2	78,8	89,5	31,2	29,4	30,3
Muskel	6,4	4,7	5,5	8,6	6,3	7,4	2,6	2,6	2,6	1,5	1,5	1,5	7,2	8,3	7,7	2,1	1,9	2,0
Herz	15,0	18,0	16,5	11,4	15,8	13,6	18,6	15,2	16,9	18,5	16,1	17,3	45,0	40,4	42,7	15,3	16,3	15,8
Magen	9,6	12,7	11,1	8,4	9,7	9,0	5,1	6,5	5,8	4,7	6,4	5,6	12,3	11,1	11,7	5,9	4,6	5,3
Darm	18,6	17,5	18,1	17,5	19,2	18,3	23,3	18,7	21,0	38,1	31,2	34,7	48,5	44,9	46,7	32,3	18,5	25,4

2) Es stand kein Probenmaterial zur Verfügung.

8.3. Ergebnisse der Fettsäure-Messungen

Plasma

Fettsäuren [µg/ml]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Linolsäure	631,4	1) 1)	631,4	765,5	664,3	714,9	779,4	769,3	774,4	581,2	528,4	554,8	1130,8	742,5	936,7	597,2	550,7
Palmitinsäure	520,5	1) 1)	520,5	608,9	535,7	572,3	596,8	586,8	591,8	416,6	379,6	398,1	790,0	534,4	662,2	446,5	430,5	438,5
Ölsäure	211,8	1) 1)	211,8	325,6	212,1	268,9	456,9	353,5	405,2	225,8	203,4	214,6	428,5	288,9	358,7	231,9	222,3	227,1
Arachidonsäure	236,4	1) 1)	236,4	293,4	253,4	273,4	198,0	195,7	196,8	202,3	183,2	192,8	346,6	219,5	283,1	229,7	209,7	219,7
Stearinsäure	245,4	1) 1)	245,4	257,0	233,1	245,0	185,2	180,4	182,8	163,6	148,9	156,2	235,3	159,9	197,6	162,4	152,8	157,6
Docosahexaen- säure	100,6	1) 1)	100,6	113,1	98,7	105,9	59,6	60,1	59,9	64,6	57,8	61,2	101,0	34,1	67,5	62,4	57,3	59,9
Linolensäure	36,4	1) 1)	36,4	60,5	55,7	58,1	28,3	28,4	28,4	18,6	25,0	21,8	46,8	32,2	39,5	16,1	15,5	15,8
Eicosapentaen- säure	34,7	1) 1)	34,7	43,9	39,5	41,7	22,3	21,6	21,9	19,8	17,9	18,8	22,5	16,6	19,6	18,5	17,6	18,1
Docosapentaen- säure	10,8	1) 1)	10,8	14,5	12,5	13,5	9,3	9,6	9,4	6,7	6,3	6,5	11,8	3,5	7,6	6,9	7,1	7,0

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Gallenflüssigkeit

Fettsäuren [µg/ml]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
Palmitinsäure	2419,0	2)	2419,0	2)	2)	2)	1519,8	2)	1519,8	1708,0	2)	1708,0	2917,0	2)	2917,0	2)	2)	2)
Linolsäure	2241,7	2)	2241,7	2)	2)	2)	1324,6	2)	1324,6	1623,8	2)	1623,8	2084,6	2)	2084,6	2)	2)	2)
Ölsäure	659,0	2)	659,0	2)	2)	2)	799,3	2)	799,3	555,9	2)	555,9	1074,5	2)	1074,5	2)	2)	2)
Arachidonsäure	479,9	2)	479,9	2)	2)	2)	392,5	2)	392,5	641,4	2)	641,4	1091,6	2)	1091,6	2)	2)	2)
Stearinsäure	392,2	2)	392,2	2)	2)	2)	409,6	2)	409,6	571,7	2)	571,7	844,0	2)	844,0	2)	2)	2)
Docosahexaen- säure	206,9	2)	206,9	2)	2)	2)	169,1	2)	169,1	279,2	2)	279,2	528,3	2)	528,3	2)	2)	2)
Linolensäure	53,0	2)	53,0	2)	2)	2)	50,4	2)	50,4	66,0	2)	66,0	51,3	2)	51,3	2)	2)	2)
Eicosapentaen- säure	29,9	2)	29,9	2)	2)	2)	32,7	2)	32,7	34,0	2)	34,0	75,9	2)	75,9	2)	2)	2)
Docosapentaen- säure	14,9	2)	14,9	2)	2)	2)	30,0	2)	30,0	31,1	2)	31,1	51,8	2)	51,8	2)	2)	2)

2) Es stand kein Probenmaterial zur Verfügung.

Leber

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt				Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt				Maus F Mittel
Palmitinsäure	7,15	6,75	6,45	6,10	6,61	5,71	6,09	5,78	5,92	5,88
Linolsäure	6,87	6,56	5,96	5,49	6,22	4,59	4,79	4,61	5,21	4,80
Arachidonsäure	4,29	4,22	3,79	3,61	3,98	3,91	3,63	3,34	3,47	3,59
Stearinsäure	3,60	3,54	3,27	3,10	3,38	3,03	3,02	2,84	3,43	3,08
Ölsäure	3,12	3,10	2,74	2,53	2,87	3,31	3,25	2,87	3,41	3,21
Docosahexaen- säure	2,66	2,47	2,13	2,00	2,32	1,95	1,92	1,82	1,91	1,90
Eicosapentaen- säure	0,32	0,31	0,30	0,29	0,31	0,48	0,32	0,30	0,97	0,52
Linolensäure	0,28	0,26	0,33	0,31	0,30	0,17	0,20	0,29	0,36	0,25
Docosapentaen- säure	0,27	0,23	0,19	0,18	0,22	0,18	0,20	0,20	0,20	0,20

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus G 6 Monate alt				Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt				Maus H Mittel
Palmitinsäure	5,37	5,45	5,35		5,39	4,81	4,57	4,58		4,65
Linolsäure	3,49	3,40	3,06		3,31	3,32	3,28	3,21		3,27
Arachidonsäure	2,82	2,45	2,13		2,47	2,95	2,58	2,55		2,70
Stearinsäure	2,43	2,25	2,05		2,24	2,47	2,19	2,21		2,29
Ölsäure	2,22	2,33	2,18		2,25	1,46	1,78	1,43		1,55
Docosahexaen- säure	1,53	1,19	1,01		1,24	1,39	1,15	1,12		1,22
Eicosapentaen- säure	0,31	0,22	0,19		0,24	0,27	0,19	0,22		0,23
Linolensäure	0,22	0,10	0,09		0,14	0,23	0,09	0,09		0,14
Docosapentaen- säure	0,20	0,16	0,14		0,17	0,14	0,11	0,11		0,12

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	SR-BI ko-Maus I 6 Monate alt				Maus I Mittel	SR-BI ko-Maus J 6 Monate alt				Maus J Mittel
Linolsäure	4,83	4,92	5,08	5,09	4,98	6,67	6,34	5,78	5,75	6,13
Palmitinsäure	3,30	3,33	3,33	3,52	3,37	4,43	3,95	3,51	3,61	3,87
Ölsäure	2,79	2,80	2,48	2,52	2,65	3,12	2,92	2,37	2,37	2,69
Arachidonsäure	2,17	2,21	2,01	1,99	2,10	2,55	2,36	2,08	2,09	2,27
Stearinsäure	1,83	1,85	1,97	2,31	1,99	3,83	3,59	2,95	2,95	3,33
Docosahexaen- säure	1,64	1,63	1,19	1,18	1,41	1,66	1,47	1,10	1,12	1,34
Linolensäure	0,25	0,27	0,16	0,18	0,22	0,31	0,28	0,18	0,18	0,24
Eicosapentaen- säure	0,21	0,21	0,09	0,11	0,16	0,26	0,24	0,11	0,11	0,18
Docosapentaen- säure	0,17	0,17	0,13	0,13	0,15	0,22	0,20	0,15	0,15	0,18

Hirn

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt				Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt				Maus F Mittel
Stearinsäure	6,78	6,60	6,05	6,48	6,48	6,29	6,18	6,58	1)	6,35
Palmitinsäure	6,49	6,29	6,01	6,38	6,29	6,23	6,07	6,04	1)	6,11
Docosahexaen- säure	5,62	5,60	5,08	5,52	5,46	5,33	5,18	5,66	1)	5,39
Ölsäure	5,18	5,15	4,36	4,73	4,85	5,10	5,03	4,74	1)	4,95
Arachidonsäure	3,10	3,02	3,09	3,23	3,11	2,93	1,59	3,14	1)	2,56
Linolsäure	0,99	1,11	0,51	0,49	0,78	0,66	0,54	0,83	1)	0,68
Linolensäure	0,79	0,79	0,13	0,14	0,46	0,23	0,26	0,21	1)	0,23
Eicosa- pentaensäure	0,20	0,18	0,19	0,18	0,19	0,21	0,19	0,21	1)	0,20
Docosa- pentaensäure	0,08	0,07	0,08	0,08	0,08	0,08	0,08	0,06	1)	0,07

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus G 6 Monate alt				Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt				Maus H Mittel
Stearinsäure	6,46	6,19	6,40	6,65	6,43	5,84	6,32	6,48	6,09	6,18
Palmitinsäure	6,18	5,88	6,58	6,38	6,25	5,57	5,63	6,09	5,90	5,80
Docosahexaen- säure	4,53	4,64	4,17	4,38	4,43	4,91	5,15	4,15	4,18	4,60
Ölsäure	5,11	4,71	5,52	5,37	5,18	4,49	5,05	5,74	5,26	5,14
Arachidonsäure	3,03	2,91	2,81	2,87	2,91	2,76	2,81	2,86	2,61	2,76
Linolsäure	0,45	0,44	0,49	0,48	0,46	0,87	0,75	0,48	0,50	0,65
Linolensäure	0,16	0,14	0,05	0,05	0,10	0,14	0,10	0,05	0,06	0,09
Eicosa- pentaensäure	0,18	0,18	0,11	0,11	0,15	0,18	0,17	0,11	0,11	0,14
Docosa- pentaensäure	0,10	0,10	0,09	0,10	0,10	0,10	0,10	0,08	0,08	0,09

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	SR-BI ko-Maus I 6 Monate alt				Maus I Mittel	SR-BI ko-Maus J 6 Monate alt				Maus J Mittel
Stearinsäure	5,67	5,58	6,09	6,22	5,89	5,93	5,27	6,31	1)	5,83
Palmitinsäure	5,46	5,23	6,29	6,01	5,75	5,65	5,27	6,27	1)	5,73
Docosahexaen- säure	4,89	4,76	4,20	4,14	4,50	4,97	4,53	4,93	1)	4,81
Ölsäure	4,77	4,23	4,81	5,21	4,75	5,29	4,45	5,05	1)	4,93
Arachidonsäure	2,78	2,66	2,71	2,66	2,70	2,90	2,61	2,91	1)	2,80
Linolsäure	0,64	0,38	0,40	0,43	0,46	0,47	0,41	0,52	1)	0,46
Linolensäure	0,08	0,13	0,05	0,05	0,08	0,15	0,13	0,08	1)	0,12
Eicosa- pentaensäure	0,17	0,17	0,11	0,11	0,14	0,18	0,17	0,11	1)	0,16
Docosa- pentaensäure	0,11	0,08	0,09	0,09	0,09	0,09	0,09	0,10	1)	0,09

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Hoden

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
Palmitinsäure	3,78	3,80	3,79	3,03		3,03	4,42	3,78	4,10	3,54	3,35	3,45	3,70	3,91	3,81	3,99		3,99
Arachidonsäure	1,81	1,82	1,81	1,27		1,27	1,66	1,70	1,68	1,76	1,77	1,77	1,70	1,72	1,71	1,78		1,78
Stearinsäure	1,26	1,19	1,22	0,95		0,95	1,26	1,22	1,24	1,22	1,20	1,21	1,06	1,19	1,12	1,18		1,18
Ölsäure	0,74	1,07	0,90	1,21		1,21	2,69	2,03	2,36	1,02	1,00	1,01	1,12	1,75	1,43	1,47		1,47
Linolsäure	0,91	0,41	0,66	0,86		0,86	2,02	1,35	1,69	0,46	0,46	0,46	0,50	1,33	0,92	0,75		0,75
Docosahexaen- säure	0,87	0,91	0,89	0,63		0,63	0,82	0,86	0,84	0,91	0,90	0,91	0,93	0,95	0,94	1,04		1,04
Eicosa- pentaensäure	0,12	0,13	0,13	0,11		0,11	0,14	0,07	0,10	0,13	0,14	0,13	0,13	0,13	0,13	0,13		0,13
Linolensäure	0,06	0,04	0,05	0,07		0,07	0,08	0,05	0,07	0,06	0,08	0,07	0,06	0,05	0,05	0,04		0,04
Docosa- pentaensäure	0,05	0,05	0,05	0,02		0,02	0,05	0,06	0,05	0,06	0,07	0,06	0,04	0,07	0,06	0,08		0,08

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Nebenhoden

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Linolsäure	10,57	3,67	7,12	2,77	7,05	4,91	6,19		6,19	5,59		5,59	4,92		4,92	2,22	
Ölsäure	9,15	4,08	6,62	3,33	4,27	3,80	7,78		7,78	6,33		6,33	5,30		5,30	3,08		3,08
Palmitinsäure	6,90	3,68	5,29	3,56	5,66	4,61	4,48		4,48	3,98		3,98	3,56		3,56	2,69		2,69
Stearinsäure	3,85	3,56	3,71	3,79	4,06	3,93	3,89		3,89	3,42		3,42	3,69		3,69	3,40		3,40
Arachidonsäure	3,06	2,82	2,94	2,90	3,13	3,01	3,39		3,39	3,25		3,25	3,47		3,47	3,26		3,26
Docosahexaen- säure	1,06	1,05	1,05	1,14	1,21	1,17	1,42		1,42	1,32		1,32	1,35		1,35	1,41		1,41
Linolensäure	0,45	0,24	0,34	0,24	0,58	0,41	0,36		0,36	0,32		0,32	0,35		0,35	0,21		0,21
Eicosa- pentaensäure	0,32	0,31	0,31	0,34	0,37	0,35	0,27		0,27	0,26		0,26	0,27		0,27	0,25		0,25
Docosa- pentaensäure	0,07	0,05	0,06	0,06	0,05	0,06	0,11		0,11	0,10		0,10	0,09		0,09	0,10		0,10

2) Es stand kein Probenmaterial zur Verfügung.

Nebennieren

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Ölsäure	76,92	²⁾	76,92	45,65	²⁾	45,65	79,82	²⁾	79,82	32,82	²⁾	32,82	20,78	²⁾	20,78	21,57	²⁾
Linolsäure	76,29	²⁾	76,29	47,81	²⁾	47,81	66,80	²⁾	66,80	38,46	²⁾	38,46	25,16	²⁾	25,16	20,30	²⁾	20,30
Palmitinsäure	64,30	²⁾	64,30	43,32	²⁾	43,32	69,90	²⁾	69,90	30,35	²⁾	30,35	22,81	²⁾	22,81	23,25	²⁾	23,25
Stearinsäure	13,57	²⁾	13,57	10,41	²⁾	10,41	13,36	²⁾	13,36	9,89	²⁾	9,89	9,72	²⁾	9,72	9,13	²⁾	9,13
Arachidonsäure	5,78	²⁾	5,78	7,17	²⁾	7,17	4,85	²⁾	4,85	6,56	²⁾	6,56	9,12	²⁾	9,12	7,06	²⁾	7,06
Linolensäure	5,44	²⁾	5,44	4,43	²⁾	4,43	5,30	²⁾	5,30	3,50	²⁾	3,50	2,51	²⁾	2,51	2,76	²⁾	2,76
Eicosa- pentaensäure	1,05	²⁾	1,05	1,32	²⁾	1,32	0,70	²⁾	0,70	0,51	²⁾	0,51	1,08	²⁾	1,08	1,44	²⁾	1,44
Docosa- pentaensäure	2,66	²⁾	2,66	3,53	²⁾	3,53	1,39	²⁾	1,39	1,82	²⁾	1,82	0,83	²⁾	0,83	2,10	²⁾	2,10
Docosa- hexaensäure	1,64	²⁾	1,64	1,96	²⁾	1,96	1,23	²⁾	1,23	1,64	²⁾	1,64	0,95	²⁾	0,95	1,43	²⁾	1,43

2) Es stand kein Probenmaterial zur Verfügung.

Lunge

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Palmitinsäure	6,94	6,80	6,87	6,63	7,23	6,93	7,02	1)	7,02	6,24	6,33	6,28	6,60	6,58	6,59	6,24	6,13
Linolsäure	2,14	1,89	2,02	2,36	2,28	2,32	3,92	1)	3,92	1,52	1,93	1,73	1,83	2,10	1,96	2,17	1,93	2,05
Stearinsäure	2,04	2,00	2,02	2,19	2,49	2,34	1,86	1)	1,86	1,88	2,06	1,97	1,96	1,89	1,92	1,82	1,83	1,83
Ölsäure	1,96	1,75	1,85	2,21	2,19	2,20	3,93	1)	3,93	1,28	2,07	1,68	1,61	1,93	1,77	2,38	2,02	2,20
Arachidonsäure	1,74	1,77	1,75	1,60	1,70	1,65	1,29	1)	1,29	1,54	1,74	1,64	1,67	1,70	1,69	1,54	1,52	1,53
Docosa- hexaensäure	0,72	0,69	0,71	0,60	0,57	0,58	0,45	1)	0,45	0,62	0,67	0,65	0,61	0,61	0,61	0,53	0,61	0,57
Docosa- pentaensäure	0,33	0,35	0,34	0,26	0,28	0,27	0,24	1)	0,24	0,24	0,25	0,25	0,29	0,29	0,29	0,26	0,30	0,28
Eicosa- pentaensäure	0,16	0,15	0,15	0,22	0,30	0,26	0,16	1)	0,16	0,15	0,30	0,22	0,17	0,16	0,17	0,15	0,15	0,15
Linolensäure	0,11	0,10	0,10	0,16	0,18	0,17	0,31	1)	0,31	0,17	0,20	0,18	0,20	0,19	0,20	0,21	0,19	0,20

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Niere

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Palmitinsäure	4,42	4,38	4,40	4,97	4,75	4,86	6,71	4,50	5,61	4,05	3,97	4,01	4,34	4,52	4,43	5,68	6,55
Arachidonsäure	3,72	3,85	3,79	4,11	4,08	4,09	3,64	3,72	3,68	3,49	3,40	3,44	3,44	3,54	3,49	3,35	3,43	3,39
Stearinsäure	3,35	3,42	3,38	3,37	3,30	3,34	3,36	3,45	3,41	3,27	3,06	3,17	2,84	2,94	2,89	2,98	3,42	3,20
Linolsäure	2,90	3,17	3,03	3,51	3,38	3,44	5,30	3,46	4,38	3,75	3,32	3,53	3,65	3,83	3,74	4,55	5,73	5,14
Docosahexaen- säure	3,19	3,30	3,25	3,23	3,26	3,25	3,22	3,32	3,27	3,60	3,47	3,53	2,80	2,76	2,78	3,09	3,28	3,18
Ölsäure	1,41	1,35	1,38	1,71	1,66	1,69	3,65	3,16	3,41	3,53	1,81	2,67	1,85	1,97	1,91	3,46	4,52	3,99
Eicosa- pentaensäure	0,27	0,27	0,27	0,26	0,28	0,27	0,26	0,31	0,28	0,30	0,26	0,28	0,26	0,28	0,27	0,18	0,17	0,18
Docosa- pentaensäure	0,22	0,22	0,22	0,22	0,21	0,21	0,25	0,24	0,24	0,19	0,18	0,19	0,24	0,25	0,24	0,23	0,26	0,25
Linolensäure	0,08	0,11	0,10	0,07	0,08	0,07	0,25	0,09	0,17	0,13	0,10	0,12	0,12	0,13	0,12	0,18	0,16	0,17

Milz

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Palmitinsäure	2,71	1)	2,71	2,74	1)	2,74	2,56	2,40	2,48	2,34	1)	2,34	2,33	1)	2,33	2,31	1)
Stearinsäure	1,62	1)	1,62	1,65	1)	1,65	1,64	1,55	1,59	1,44	1)	1,44	1,16	1)	1,16	1,38	1)	1,38
Arachidonsäure	1,54	1)	1,54	1,54	1)	1,54	1,74	1,62	1,68	1,67	1)	1,67	1,49	1)	1,49	1,46	1)	1,46
Linolsäure	1,05	1)	1,05	1,27	1)	1,27	0,97	0,90	0,93	0,94	1)	0,94	0,81	1)	0,81	0,78	1)	0,78
Ölsäure	0,71	1)	0,71	0,83	1)	0,83	0,60	0,55	0,58	0,50	1)	0,50	0,59	1)	0,59	0,52	1)	0,52
Docosa- hexaensäure	0,42	1)	0,42	0,41	1)	0,41	0,49	0,45	0,47	0,50	1)	0,50	0,38	1)	0,38	0,37	1)	0,37
Docosa- pentaensäure	0,18	1)	0,18	0,18	1)	0,18	0,21	0,19	0,20	0,17	1)	0,17	0,17	1)	0,17	0,14	1)	0,14
Eicosa- pentaensäure	0,18	1)	0,18	0,21	1)	0,21	0,16	0,17	0,16	0,15	1)	0,15	0,13	1)	0,13	0,17	1)	0,17
Linolensäure	0,14	1)	0,14	0,11	1)	0,11	0,06	0,05	0,06	0,04	1)	0,04	0,04	1)	0,04	0,06	1)	0,06

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

weißes Fettgewebe

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Linolsäure	151,1	167,7	159,4	151,2	118,8	135,0	36,1	45,8	41,0	74,7	59,7	67,2	67,2	61,7	64,4	48,9	52,6
Ölsäure	129,4	136,0	132,7	127,4	95,4	111,4	30,3	39,8	35,1	57,8	47,2	52,5	57,0	51,6	54,3	51,9	55,8	53,9
Palmitinsäure	71,3	81,6	76,4	83,1	66,9	75,0	21,0	25,0	23,0	32,3	29,3	30,8	31,7	27,1	29,4	31,7	33,6	32,6
Linolensäure	10,2	11,0	10,6	11,3	8,8	10,0	2,4	2,9	2,6	4,1	3,3	3,7	3,6	3,3	3,5	2,7	2,9	2,8
Stearinsäure	6,1	7,1	6,6	7,5	6,0	6,7	2,4	2,7	2,5	3,7	3,3	3,5	2,8	2,3	2,6	2,6	2,8	2,7
Arachidonsäure	2,1	2,1	2,1	1,9	1,7	1,8	0,6	0,7	0,7	0,9	0,7	0,8	0,9	0,9	0,9	0,6	0,7	0,7
Docosa- hexaensäure	0,8	0,7	0,8	0,9	0,7	0,8	0,3	0,4	0,4	0,5	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,2	0,3	0,3
Docosa- pentaensäure	0,4	0,3	0,4	0,4	0,3	0,4	0,1	0,2	0,2	0,2	0,1	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Eicosapentaen- säure	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)	3)

3) Die Fettsäure war nicht in einer für die Messung ausreichenden Menge im Gewebe enthalten.

Skelettmuskel

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Palmitinsäure	3,14	3,61	3,37	3,55	2,87	3,21	3,63	3,71	3,63	2,72	2,85	2,79	3,83		3,83	6,49	7,40
Linolsäure	2,95	3,88	3,42	4,48	2,78	3,63	3,61	3,40	3,61	2,27	2,27	2,27	2,88		2,88	6,61	7,35	6,98
Ölsäure	2,23	2,72	2,48	3,11	1,73	2,42	2,62	2,31	2,62	1,31	1,24	1,27	2,21		2,21	7,25	8,31	7,78
Docosahexaen- säure	1,15	1,17	1,16	1,45	1,85	1,65	1,62	2,73	1,62	2,43	2,93	2,68	2,63		2,63	2,74	2,45	2,59
Stearinsäure	0,87	0,90	0,89	0,87	1,01	0,94	0,99	1,40	0,99	1,11	1,29	1,20	1,08		1,08	1,33	1,40	1,36
Arachidonsäure	0,63	0,96	0,79	1,06	1,10	1,08	0,98	1,20	0,98	1,30	1,34	1,32	1,45		1,45	1,41	1,35	1,38
Linolensäure	0,53	0,54	0,54	0,62	0,44	0,53	0,54	0,53	0,54	0,12	0,13	0,13	0,48		0,48	0,42	0,45	0,44
Docosa- pentaensäure	0,30	0,31	0,30	0,35	0,37	0,36	0,37	0,63	0,37	0,46	0,57	0,52	0,66		0,66	0,58	0,55	0,57
Eicosa- pentaensäure	0,04	0,04	0,04	0,04	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,06	0,05	0,06	0,06		0,06	0,07	0,07	0,07

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Herzmuskel

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Linolsäure	4,40	6,71	5,56	4,79	4,26	4,52	5,63	5,87	5,75	5,69	5,50	5,60	6,09	5,48	5,78	4,54	
Docosahexaen- säure	3,84	5,88	4,86	3,51	3,48	3,49	4,00	3,97	3,98	4,56	4,32	4,44	4,40	3,98	4,19	3,66	1)	3,66
Stearinsäure	3,05	4,44	3,74	2,91	2,77	2,84	3,65	3,67	3,66	3,92	3,80	3,86	3,55	3,24	3,40	2,72	1)	2,72
Palmitinsäure	2,34	3,50	2,92	2,92	2,50	2,71	2,83	3,01	2,92	2,68	2,68	2,68	2,92	2,69	2,80	2,45	1)	2,45
Arachidonsäure	1,65	2,41	2,03	1,58	1,48	1,53	1,64	1,65	1,65	1,88	1,83	1,85	1,81	1,66	1,74	1,38	1)	1,38
Ölsäure	1,20	1,70	1,45	1,79	1,29	1,54	1,35	1,56	1,46	1,21	1,21	1,21	1,47	1,38	1,43	1,49	1)	1,49
Docosa- pentaensäure	0,32	0,49	0,40	0,31	0,30	0,31	0,33	0,33	0,33	0,29	0,27	0,28	0,34	0,31	0,32	0,36	1)	0,36
Eicosa- pentaensäure	0,14	0,18	0,16	0,12	0,14	0,13	0,07	0,07	0,07	0,08	0,08	0,08	0,07	0,07	0,07	0,05	1)	0,05
Linolensäure	0,04	0,05	0,05	0,03	0,04	0,04	0,08	0,10	0,09	0,07	0,08	0,07	0,09	0,09	0,09	0,08	1)	0,08

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Magen

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
Palmitinsäure	3,66	3,73	3,69	5,48	5,13	5,31	5,39		5,39	4,82		4,82	2,88		2,88	7,82	10,09	10,09
Linolsäure	3,56	3,74	3,65	5,23	5,01	5,12	5,38		5,38	5,35		5,35	3,69		3,69	8,04	10,53	10,53
Ölsäure	3,06	3,54	3,30	5,04	4,86	4,95	5,05		5,05	4,44		4,44	2,28		2,28	8,64	11,61	11,61
Stearinsäure	1,61	1,77	1,69	1,86	1,82	1,84	2,00		2,00	1,76		1,76	1,40		1,40	2,08	2,43	2,43
Arachidonsäure	1,57	1,56	1,57	1,63	1,58	1,60	1,58		1,58	1,16		1,16	1,62		1,62	1,64	1,55	1,55
Docosa- hexaensäure	0,28	0,27	0,28	0,31	0,30	0,30	0,31		0,31	0,26		0,26	0,33		0,33	0,39	0,35	0,35
Linolensäure	0,12	0,14	0,13	0,26	0,25	0,25	0,25		0,25	0,28		0,28	0,14		0,14	0,39	0,54	0,54
Eicosa- pentaensäure	0,13	0,17	0,15	0,15	0,15	0,15	0,08		0,08	0,05		0,05	0,07		0,07	0,08	0,07	0,07
Docosa- pentaensäure	0,06	0,06	0,06	0,07	0,07	0,07	0,06		0,06	0,05		0,05	0,06		0,06	0,09	0,10	0,10

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

Dünndarm

Fettsäuren [µg/mg Gewebe]	wt-Maus E 3 Monate alt		Maus E Mittel	wt-Maus F 3 Monate alt		Maus F Mittel	wt-Maus G 6 Monate alt		Maus G Mittel	wt-Maus H 6 Monate alt		Maus H Mittel	SR-BI ko- Maus I 6 Monate alt		Maus I Mittel	SR-BI ko- Maus J 6 Monate alt		Maus J Mittel
	Linolsäure	4,08	4,35	4,21	6,93	6,72	6,83	8,74	6,51	7,62	4,52	4,58	4,55	5,71	4,43	5,07	7,28	
Palmitinsäure	2,81	3,04	2,92	4,29	4,23	4,26	8,80	6,64	7,72	4,54	4,45	4,50	4,97	3,00	3,99	5,98	1)	5,98
Ölsäure	1,61	1,39	1,50	2,45	2,08	2,26	8,94	6,51	7,72	3,46	3,83	3,64	3,63	1,47	2,55	5,17	1)	5,17
Stearinsäure	2,97	3,05	3,01	3,28	3,37	3,32	3,06	2,43	2,75	2,53	2,19	2,36	2,62	2,43	2,52	3,30	1)	3,30
Arachidonsäure	1,53	1,64	1,58	1,70	1,81	1,76	1,54	1,29	1,41	1,68	1,31	1,49	1,62	1,49	1,56	2,10	1)	2,10
Docosa- hexaensäure	0,43	0,43	0,43	0,45	0,48	0,46	0,52	0,43	0,48	0,51	0,40	0,46	0,44	0,38	0,41	0,57	1)	0,57
Linolensäure	0,32	0,33	0,32	0,37	0,38	0,37	0,56	0,41	0,48	0,23	0,23	0,23	0,26	0,18	0,22	0,30	1)	0,30
Eicosa- pentaensäure	0,17	0,17	0,17	0,18	0,18	0,18	0,10	0,08	0,09	0,08	0,07	0,08	0,10	0,09	0,09	0,13	1)	0,13
Docosa- pentaensäure	0,10	0,09	0,10	0,09	0,12	0,11	0,16	0,13	0,14	0,12	0,10	0,11	0,11	0,09	0,10	0,17	1)	0,17

1) Wegen Verunreinigung war die Messung nicht sinnvoll auszuwerten.

9. Literaturverzeichnis

- **N. J. Abbott, 2002**, Astrocyte-endothelial interactions and blood-brain-barrier permeability, *Journal of Anatomy*, Vol. 200: 629-638
- **S. Acton, A. Rigotti, K. T. Landschulz, S. Xu, H. H. Hobbs, M. Krieger, 1996**, Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor, *Science*, 271 (5248):460-1
- **S. W. Altmann, H. R. Davis, X. Yao, M. Laverty, D. S. Compton, L. Zhu, J. H. Crona, M. A. Caplen, L. M. Hoos, G. Tetzloff, T. Priestey, D. A. Burnett, C. D. Strader, M. P. Graziano, 2002**, The identification of intestinal scavenger receptor class B, type I (SR-BI) by expression cloning and its role in cholesterol absorption, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1580: 77-93
- **M. Arita, K. Nomura, H. Arai, K. Inoue, 1997**, α -Tocopherol transfer protein stimulates the secretion of α -tocopherol from cultured liver cell line through a brefelin A-insensitive pathway, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 94: 12437-12441
- **J. Babitt, B. Trigatti, A. Rigotti, E. J. Smart, R. G. W. Anderson, S. Xu, M. Krieger, 1997**, Murine SR-BI, a High Density Lipoprotein Receptor That Mediates Selective Uptake, Is N-Glycosylated and Fatty Acetylated and Colocalizes with Plasma Membrane Caveolae, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 272: 13242-13249
- **K. Balasubramanian, M. M. Aruldas, P. Govindarajulu, 1987**, Effect of corticosterone on rat epididymal lipids, *Journal of Andrology*, Vol. 8: 69-73
- **N. Bernoud, L. Fenart, C. Bénistant, J. F. Pageux, M. P. Dehouck, P. Molière, M. Lagarde, R. Cecchelli, J. Lecerf, 1998**, Astrocytes are mainly responsible for the polyunsaturated fatty acid enrichment in blood-brain barrier endothelial cells in vitro, *Journal of Lipid Research*, Vol. 39: 1816-1824
- **M. Brundert, J. Heeren, H. Greten, F. Rinninger, 2003**, Hepatic lipase mediates an increase in selective uptake of HDL-associated cholesteryl esters by cells in culture independent from SR-BI, *Journal of Lipid Research*, Vol. 44 (5): 1020-1032
- **M. Brundert, A. Ewert, J. Heeren, B. Behrendt, R. Ramakrishnan, H. Greten, M. Merkel, F. Rinninger, 2005, Epub 2004**, Scavenger Receptor Class B Type I (SR-BI) mediates the Selective Uptake of HDL-associated Cholesteryl Ester (CE) by the Liver and Adrenals in Mice, *Arteriosclerosis Thrombosis and Vascular Biology*, Vol. 25(1): 143-8
- **S. F. Cai, R. J. Kirby, P. N. Howles, D. Y. Hui, 2001**, Differentiation-dependent expression and localization of the class B type I scavenger receptor in intestine, *Journal of Lipid Research*, Vol. 42: 902-909
- **G. Cao, L. Zhao, H. Stangl, T. Hasegawa, J. A. Richardson, K. L. Parker, H. H. Hobbs, 1999**, Developmental and Hormonal Regulation of Murine Scavenger Receptor, Class B, Type 1, *Molecular Endocrinology*, Vol. 13: 1460-1473
- **N. Cherradi, M. Bideau, S. Arnaudeau, N. Demaurex, R. W. James, S. Azhar, A. M. Capponi, 2001**, Angiotensin II Promotes Selective Uptake of High Density Lipoprotein Cholesterol Esters in Bovine Adrenal Blomerulosa and Human Adrenocortical Carcinoma Cells Through Induction of Scavenger Receptot Class B Type I, *Endocrinology*, Vol. 142: 4540-4549

-
- **M. A. Connelly, M. de al Llera-Moya, Y. Peng, D. Drazul-Schrader, G. H. Rothblat, D. L. Williams, 2003**, Separation of Lipid Transport Functions by Mutations in the Extracellular Domain of Scavenger Receptor Class B, Type I, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 278, No. 28: 25773-25782
 - **N. A. Elshourbagy, X. Li, J. Terrett, S. VanHorn, M. S. Gross, J. E. Adamou, K. M. Anderson, C. L. Webb, P. G. Lysko, 2000**, Molecular characterization of a human scavenger receptor, human MARCO, *European Journal of Biochemistry*, Vol. 267: 919-926
 - **N. H. Fidge, 1999**, High density lipoprotein receptors, binding proteins, and ligands, *Journal of Lipid Research*, Vol.: 40: 187-201
 - **P. E. Fielding, C. J. Fielding, 1995**, Plasma membrane caveolae mediate the efflux of cellular free cholesterol, *Biochemistry*, Vol. 34: 14288-14294
 - **K. Fluiter, T- J. van Berkel, 1997**, Scavenger receptor BI (SR-BI) substrates inhibit the selective uptake of high-density-lipoprotein cholesteryl esters by rat parenchymal liver cells, *Biochemical Journal*, Vol. 326: 515-519
 - **K. Fluiter, D. R. Van der Westhuijzen, T.-J. van Berkel, 1998**, In vivo regulation of scavenger receptor BI and the selective uptake of high density lipoprotein cholesteryl esters in rat liver parenchymal and Kupffer cells, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 273: 8434-8438
 - **M. W. Freeman, 1997**, Scavenger receptor in atherosclerosis, *Current Opinion in Hematology*, Vol. 4: 41-47
 - **Y. Fujiwara, K. Kondo, H. Itakura, T. Fujioka, Y. Tsujita, H. Kurata, N. Fidge, A. Matsumoto, 2000**, Regulation of hepatic high density lipoprotein binding protein, HB2, expression after administration of simvastatin to rabbits, *Journal of Atherosclerosis Thromb.*, Vol.: 7: 203-208
 - **M. Fukasawa, H. Adaci, K. Hirota, M. Tsujimoto, H. Arai, K. Inoue, 1996**, SRB1, a class B scavenger receptor, recognizes both negatively charged liposomes and apoptotic cells, *Experimental cell research*, Vol. 10:246-259
 - **D. Goti, A. Hrzenjak, S. Levak-Frank, S. Frank, D. R. van der Westhuyzen, E. Malle, W. Sattler, 2001**, Scavenger receptor class B, type I is expressed in porcine brain capillary endothelial cells and contributes to selective uptake of HDL-associated vitamin E, *Journal of Neurochemistry*, Vol. 76: 498-508
 - **X. Gu, B. Trigatti, S. Xu, S. Acton, J. Babitt, M. Krieger, 1998**, The Efficient Cellular Uptake of High Density Lipoprotein Lipid via Scavenger Receptor Class B Type I Requires Not Only Receptor-Mediated Surface Binding but Also Receptor-specific Lipid Transfer Mediated by Its extracellular Domain, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 273, No. 41: 26338-26348
 - **X. Gu, K. Kozarsky, M. Krieger, 2000**, Scavenger Receptor Class B, Type I-mediated [3H]Cholesterol Efflux to High and Low Density Lipoproteins Is Dependent on Lipoprotein Binding to the Receptor, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 275, No. 39: 29993-30001
 - **M. Haag, MSc, DSc, 2003**, Essential Fatty Acids and the Brain, *Canadian Journal of Psychiatry*, Vol. 3: 195-203
 - **G. Haidl, C. Opper, 1997**, Changes in lipids and membrane anisotropy in human spermatozoa during epididymal maturation, *Human Reproduction*, Vol. 12: 2720-2723
 - **H. Hauser, J. H. Dyer, A. Nandy, M. A. Vega, M. Werder, E. Bieliauskaite, F. E. Weber, S. Compassi, A. Gemperli, D. Boffelli, E- Wehrli, G. Schulthess, M. C. Philips, 1998**,

- Identification of a receptor mediating absorption of dietary cholesterol in the intestine, *Biochemistry*, Vol. 37: 17843-17850
- **K. Hirano, S. Yamashita, Y. Nakagawa, T. Ohya, F. Matsuura, K. Tsukamoto, Y. Okamoto, A. Matsuyama, K. Matsumoto, J. Miyagawa, Y. Matsuzawa, 1999**, Expression of human scavenger receptor class B type I in cultured human monocyte-derived macrophages and atherosclerotic lesions, *Circulation Research*, Vol. 85: 108-116
 - **A. Hosomi, K. Goto, H. Kondo, T. Iwatsubo, T. Yokota, M. Ogawa, J. Aoki, H. Arai, K. Inoue, 1998**, Localization of alpha-tocopherol transfer protein in rat brain, *Neurosciences Letters*, Vol. 256 (3): 159-162
 - **J. Husemann, S. C. Silverstein, 2001**, Expression of Scavenger Receptor Class B, Type I, by Astrocytes and Vascular Smooth Muscle Cells in Normal Adult Mouse and Human Brain and in Alzheimer's Disease Brain, *American Journal of Pathology*, Vol. 158: 825-832
 - **J. Husemann, J. D. Loike, R. Anankov, M. Febbraio, S. C. Silverstein, 2002**, Scavenger Receptors in Neurobiology and Neuropathology: Their Role on Microglia and Other Cells of the Nervous System, *GLIA*, Vol. 40: 196-205
 - **H. Imachi, K. Murao, W. Cao, S. Tada, T. Taminato, N. C. W. Wong, J. Takahara, T. Ishida, 2003**, Expression of Human Scavenger receptor B1 on and in Human Platelets, *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol. 23: 898
 - **S. M. Innis, R. A. Dyer, 2002**, Brain astrocyte synthesis of docosahexaenoic acid from n-3 fatty acids is limited at the elongation of docosapentaenoic acid, *Journal of Lipid Research*, Vol. 43: 1529-15536
 - **P. S. James, C. A. Wolfe, S. Ladha, R. Jones, 1999**, Lipid diffusion in the plasma membrane of ram and boar spermatozoa during maturation in the epididymis measured by fluorescence recovery after photobleaching, *Molecular reproduction and development*, Vol. 52: 207-215
 - **Y. Ji, N. Wang, R. Ramakrisnan, E. Sehayek, D. Hszar, J. L. Breslow, A. R. Tall, 1999**, Hepatic scavenger receptor BI promotes rapid clearance of high density lipoprotein free cholesterol and its transport into bile, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 274: 33389-33402
 - **D. E. Kaempf-Rotzoll, M. G. Traber, H. Arai, 2003**, Vitamin E and transfer proteins, *Current Opinion in Lipidology*, Vol. 14: 249-254
 - **S. Koch, N. Donarski, K. Goetze, M. Kreckel, H.-J. Stuerenburg, C. Buhmann, U. Beisiegel, 2001**, Characterization of four lipoprotein classes in human cerebrospinal fluid, *Journal of Lipid Research*, Vol. 42: 1143-1151
 - **I. Kollek, M. Schlame, H. Fechner, A. C. Looman, H. Wissel, B. Rüstow, 1999**, HDL is the major source of vitamin E for type II pneumocytes, *Free Radical Biology & Medicine*, Vol. 27: 882-890
 - **I. Kollek, W. Witt, H. Wissel, P. Sinha, B. Rüstow, 2000**, HDL and vitamin E in plasma and the expression of SR-BI on lung cells during rat perinatal development, *Lung*, Vol. 178: 191-200
 - **I. Kollek, P. Sinha, B. Rüstow, 2002**, Vitamin E as an Antioxidant of the Lung / Mechanisms of Vitamin E Delivery to Alveolar Type II Cells, *American Journal of respiratory and critical care medicine*, Vol. 166: S62-S66
 - **K. F. Kozarsky, M. H. Donahee, A. Rigotti, S. N. Iqbal, E. R. Edelman, M. Krieger, 1997**, Overexpression of the HDL receptor SR-BI alters plasma HDL and bile cholesterol levels, *Nature*, Vol. 387: 414-417

-
- **M. Krieger, 1999**, Charting the fate of the “good cholesterol”: Identification and characterization of the high-density lipoprotein receptor SR-BI, *Annual Reviews of Biochemistry*, Vol. 68: 523-558
 - **M. Krieger, D. M. Stern, 2001**, Multiligand receptors and human disease, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 108: 645-647
 - **H. Kurata, A. Matsumoto, Y. Fujiwara, K. Kondo, H. Itakura, A. Mitchell, N. Fidge, 1998**, A candidate high density lipoprotein (HDL) receptor, HB2, with possible multiple functions shows sequence homology with adhesion molecules, *Journal of Atherosclerosis Thromb.*, Vol. 4: 112-117
 - **K. Landschulz, R. Pathak, A. Rigotti, M. Krieger, H. Hobbs, 1996**, Regulation of scavenger receptor, class B, type I, a high density lipoprotein receptor, in liver and steroidogenic tissues of the rat, *The Journal of Clinical Investigation*, 98: 984-995
 - **A. Lenzi, M. Picardo, L. Gandini, F. Dondero, 1996**, Lipids of sperm plasma membrane: from polyunsaturated fatty acids considered as markers of sperm function to possible scavenger Therapy., *Human Reproduction Update*, Vol. 2: 246-256
 - **C. Lutton, N. Fidge, 1994**, Distribution of high density lipoprotein binding proteins among various tissues in the rat, *Comptes rendus de l'Academie des Sciences, Séries III*, Vol.: 317: 731-735
 - **L. Malerot, L. K. Juvet, T. Gjoen, T. Berg, 2001**, The expression of scavenger receptor class B, type I (SR-BI) and caveolin-1 in parenchymal and nonparenchymal liver cells, *Cell and tissue research*, Vol. 307: 173-180
 - **P. Mardones, V. Quiñones, L. Amigo, M. Moreno, J. F. Miquel, M. Schwarz, H. E. Miettinen, B. Trigatti, M. Krieger, S. VanPatten, D. E. Cohen, A. Rigotti, 2001**, Hepatic cholesterol and bile acid metabolism and intestinal cholesterol absorption in scavenger receptor class B type I-deficient mice, *Journal of Lipid Research*, Vol. 42: 170 -180
 - **P. Mardones, P. Strobel, S. Miranda, F. Leighton, V. Quiñones, L. Amigo, J. Rozowski, M. Krieger, A. Rigotti, 2002**, α -Tocopherol Metabolism Is Abnormal in Scavenger Receptor Class B Type I (SR-BI)-Deficient Mice, *Journal of Nutrition* 132: 443-449
 - **H. E. Miettinen, H. Rayburn, M. Krieger, 2001**, Abnormal lipoprotein metabolism and reversible female infertility in HDL receptor (SR-BI)-deficient mice, *The Journal of Clinical Investigation*, Vol. 108: 1717-1722
 - **M. Ollero, E. Gil-Guzman, M. C. Lopez, R. K. Sharma, A. Agarwal, K. Larson, D. Evenson, A. J. Jr. Thomas, J. G. Alvarez, 2001**, Characterization of subjects of human spermatozoa at different stages of maturation: implications in the diagnosis and treatment of male infertility, *Human Reproduction*, Vol. 16: 1912-1921
 - **J. S. Owen, J. V. Mulcahy, 2002**, ATP-binding cassette A1 protein and HDL homeostasis, *Atherosclerosis Suppl.*, Vol. 3:13-22
 - **U. Panzenboeck, Z. Balazs, A. Sovic, A. Hrzenjak, S. Levak-Frank, A. Wintersprenger, E. Malle, W. Sattler, 2002**, ABCA1 and Scavenger Receptor Class B, Type I, Are Modulators of Reverse Sterol Transport at an in Vitro Blood-Brain Barrier Constituted of Porcine Brain Capillary Endothelial Cells, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 277: 42781-42789
 - **A. Pilon, G. Martin, S. Bultel-Brienne, D. Junquero, A. Delhon, J.-C. Fruchart, B. Steals, V. Clavey, 2003**, Regulation of scavenger receptor BI and the LDL receptor by activators of

- aldosterone production, angiotensin II and PMA, in the human NCI-H295R adrenocortical cell line, *Biochimica et Biophysica Acta*, Vol. 1631: 218-228
- **K. Qi, M. Hall, R. J. Deckelbaum, 2002**, Long-chain polyunsaturated fatty acid accretion in the brain, *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, Vol. 5: 133-138
 - **E. Reaven, L. Zhan, A. Nomoto, S. Leers-Sucheta, S. Azhar, 2000**, Expression and microvillar localization of scavenger receptor class B type I (SR-BI) and selective cholesteryl ester uptake in Leydig cells from rat testis, *Journal of Lipid Research*, Vol. 41: 343-356
 - **A. Rigotti, E. R. Edelman, P. Seifert, S. N. Iqbal, R. B. DeMattos, R. E. Temel, M. Krieger, D. L. Williams, 1996**, Regulation by Adrenocorticotrophic Hormone of the *in Vivo* Expression of Scavenger Receptor Class B Type I (SR-BI), a High Density Lipoprotein Receptor, in Steroidogenic Cells of the Murine Adrenal Gland, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 271: 33545-33549
 - **A. Rigotti, B. L. Trigatti, M. Penman, H. Rayburn, J. Herz, M. Krieger, 1997**, A targeted mutation in the murine gene encoding the high density lipoprotein (HDL) receptor scavenger receptor class B type I reveals its key role in HDL metabolism, *Proceedings National Academy of Sciences*, Vol. 94: 12610-12615
 - **A. Rigotti, H. E. Miettinen, M. Krieger, 2003**, The Role of the High-Density Lipoprotein Receptor SR-BI in the Lipid Metabolism of Endocrine and Other Tissues, *Endocrine Reviews*, Vol. 24: 357-387
 - **F. Rinninger, M. Brundert, I. Brosch, N. Donarski, R. M. Budzinski, H. Greten, 2001**, Lipoprotein lipase mediates an increase in selective uptake of HDL-associated cholesteryl esters by cells in culture independent of scavenger receptor BI, *Journal of Lipid Research*, Vol. 42: 1740-1751
 - **F. Rinninger, M. Brundert, R. M. Budzinski, J. C. Fruchart, H. Greten, G. R. Castro, 2003**, Scavenger receptor BI (SR-BI) mediates a higher selective cholesteryl ester uptake from LpA-I compared with LpA-I:LpA-II lipoprotein particles, *Atherosclerosis*, Vol. 166 (1): 31-40
 - **W. V. Rodriguez, S. T. Thuanhai, R. E. Temel, S. Lund-Katz, M. C. Phillips, D. L. Williams, 1999**, Mechanism of Scavenger Receptor Class B Type I-mediated Selective Uptake of Cholesteryl Esters from High Density Lipoprotein to Adrenal Cells, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 274: 20344-20350
 - **B. Rüstow, R. Haupt, A. Stevens, D. Kunze, 1993**, Alveolar type II cells secrete vitamin E together with surfactant lipids, *American Journal of Physiology*, Vol. 265: L133-L139
 - **Y. Sato, K. Hagiwara, H. Arai, K. Inoue, 1991**, Purification and characterization of the α -tocopherol transfer protein from rat liver, *FEBS Letters*, Vol. 288 (1-2): 41-45
 - **Y. Sato, H. Arai, A. Miyata, S. Tokita, K. Yamamoto, T. Tanabe, K. Inoue, 1993**, Primary structure of α -Tocopherol Transfer Protein from Rat Liver, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 268: 17705-17710
 - **R. A. Schlegel, R. Hammerstedt, G. P. Cofer, K. Kozarsky, D. Freidus, P. Williamson, 1986**, Changes in the organization of lipid bilayer of the plasma membrane during spermatogenesis and epididymal maturation, *Biology of Reproduction*, Vol. 34: 379-391

-
- **P. Schwandt, W. O. Richter, K. G. Parhofer, 2000**, Handbuch der Fettstoffwechselstörungen; Pathophysiologie, Diagnostik und Therapie der Dyslipoproteinämien – Prävention der Atherosklerose, Kapitel 1, Schattauer Verlag, zweite Auflage
 - **T. Seo, M. Al-Haideri, E. Treskova, T. S. Worgall, Y. Kako, I. J. Goldberg, R. J. Deckelbaum, 2000**, Lipoprotein lipase-mediated selective uptake from low density lipoprotein requires cell surface proteoglycans and is independent of scavenger receptor class B type 1, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 275: 30355-30362
 - **D. S. Sheriff, 1980**, The lipid composition of human epididymis., *International Journal of Andrology*, Vol. 3: 282-286
 - **A. Shiratsuchi, Y. Kawasaki, M. Ikemoto, H. Arai, Y. Nakanishi, 1999**, Role of class B scavenger receptor type I in phagozytosis of apoptotic rat spermatogenic cells by Sertoli cells, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 274: 5901-5908
 - **D. L. Silver, N. Wang, A. R. Tall, 2000**, Defective HDL particle uptake in ob/ob hepatocytes causes decreased recycling, degradation, and selective lipid uptake, *Journal of Clinical Investigation*, Vol. 105: 151-159
 - **T. J. Sontag, R. S. Parker, 2002**, Cytochrom P450 ω -Hydroxylase Pathway of Tocopherol Catabolism, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 277, No. 28: 25290-25296
 - **D. K. Spady, D. M. Kearney, H. H. Hobbs, 1999**, Polyunsaturated fatty acids up-regulate hepatic scavenger receptor B1 (SR-BI) expression and HDL cholesteryl ester uptake in the hamster, *Journal of Lipid Research*, Vol. 40: 1384-1394
 - **R. A. K. Srivastava, J. C. Jain, 2002**, Scavenger receptor class B type I expression and elemental analysis in cerebellum and parietal cortex of the Alzheimer's disease brain, *Journal of the Neurological Sciences*, Vol. 196: 45-52
 - **R. A. K. Srivastava, 2003**, Scavenger receptor class B type I expression in murine brain and regulation by estrogen and dietary cholesterol, *Journal of the Neurological Sciences*, Vol. 210: 11-18
 - **Y. Sun, N. Wang, A. R. Tall, 1999**, Regulation of adrenal scavenger receptor-BI by ACTH and cellular cholesterol pools, *Journal of Lipid Research*, Vol. 40: 1799-1805
 - **R. E. Temel, B. Trigatti, R. B. DeMattos, S. Azhar, M. Krieger, D. L. Williams, 1997**, Scavenger receptor class B, type I (SR-BI) is the major route for the delivery of high density lipoprotein cholesterol to the steroidogenic pathway in cultured mouse adrenocortical cells, *Proceedings National Academy of Sciences*, Vol. 94: 13600-13605
 - **S. T. Thuahnai, S. Lund-Katz, D. L. Williams, M. C. Phillips, 2001**, Scavenger Receptor Class B, Type I-mediated Uptake of Various Lipids into Cells, *The Journal of Biological Chemistry*, Vol. 276, No. 47: 43801-43808
 - **F. Tramer, F. Rocco, F. Micali, G. Sandri, E. Panfili, 1998**, Antioxidant system in rat epididymal spermatozoa, *Biology of Reproduction*, Vol. 59: 753-758
 - **B. Trigatti, H. Rayburn, M. Vinals, A. Braun, H. Miettinen, M. Penman, M. Hertz, M. Schrenzel, L. Amigo, A. Rigotti, M. Krieger, 1999**, Influence of the high density lipoprotein receptor SR-BI on reproductive and cardiovascular pathophysiology, *Proceedings National Academy of Sciences*, Vol. 96: 9322-9327

-
- **B. L. Trigatti, A. Rigotti, A. Braun, 2000 a**, Cellular and physiological roles of SR-BI, a lipoprotein receptor which mediates selective lipid uptake, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1529: 276-286
 - **B. Trigatti, A. Rigotti, M. Krieger, 2000 b**, The role of the high-density lipoprotein receptor SR-BI in cholesterol metabolism, *Current Opinion in Lipidology*, Vol. 11: 123-131
 - **B. L. Trigatti, M. Krieger, A. Rigotti, 2003**, Influence of the HDL Receptor SR-BI on Lipoprotein Metabolism and Atherosclerosis.; *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol.23 (8)
 - **H. Tsuruoka, W. Khovidhunkit, B. E. Brown, J. W. Fluhr, P. M. Elias, K. R. Feingold, 2002**, Scavenger receptor class B type I is expressed in cultured keratinocytes an epidermis. Regulation in response to changes in cholesterol homeostasis and barrier requirements, *Journal of Biological Chemistry*, Vol. 277: 2916-2922
 - **W. J. S. de Villiers, E. J. Smart, 1999**, Makrophage scavenger receptors and foam cell formation, *Journal of Leukocyte Biology*, Vol. 66: 740-746
 - **P. J. Voshol, M. Schwarz, A. Rigotti, M. Krieger, A. K. Groen, F. Kuipers, 2001**, Down-regulation of intestinal scavenger receptor class B, type I (SR-BI) expression in rodents under conditions of deficient bile delivery to the intestine, *Biochemical Journal*, Vol. 356: 317-325
 - **N. R. Webb, W. J. Villiers, P. M. Connell, F. C. de Beer, D. R. van der Westhuyzen, 1997**, Aternative forms of the scavenger receptor BI (SR-BI), *Journal of Lipid Research*, Vol. 38: 1490-1495
 - **D. L. Williams, R. E. Temel, M. A. Connelly, 2000**, Roles of scavenger receptor BI and APO A-I in selective uptake of HDL cholesterol by adrenal cells, *Endocrine Research*, Vol. 26 (4):639-651
 - **D. L. Williams, J. S. Wong, R. L. Hamilton, 2002**, SR-BI required for microvillar channel formation and the localization of HDL particles to the surface of andrenocortical cells in vivo., *Journal of Lipid Research*, Vol. 43: 544-549
 - **W. Witt, I. Kolleck, H. Fechner, P. Sinha, B. Rüstow, 2000**, Regulation by vitamin E of scavenger receptor CI in rat liver and HepG⁺ cells, *Journal of Lipid Research*, Vol. 41: 2009-2016
 - **L. A. Woollett, D. M. Kearney, D. K. Spady, 1997**, Diet modification alters plamsa HDL cholestrol concentrations but not the transport of HDL cholesteryl esters to the liver in the hamster, *Journal of Lipid Research*, Vol. 38: 2289-2302
 - **Y. Yamada, T. Doi, T. Hamakubo, T. Kodama, 1998**, Scavenger receptor family proteins: roles for atherosklerosis, host defence and disorders of the central nervous system, *Cellular and Meolecular Life Sciences*, Vol. 54: 628-640
 - **L.-X. Zhao, C.-J. Zhou, A. Tanaka, M. Nakata, T. Hirabayashi, T. Amachi, S. Shioda, K. Ueda, N. Inagaki, 2000**, Cloning, characterization and tissue distribution of the rat ATP-binding cassette (ABC) transporter ABC2/ABCA2, *Biochemical Journal*, Vol. 350: 865-872
 - **J. M. Zingg, R. Ricciarelli, A. Azzi, 2000**, Scavenger receptor and modified lipoproteins: fatal attractions?, *IUBMB Life*, Vol. 49: 397-403

10. Danksagung

Für die sehr gute und ausführliche Betreuung möchte ich allen Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie II und besonders Frau Prof. Beisiegel danken. Mein Dank gilt im Besonderen auch Frau Dr. Barbara Behrendt und Herrn Dr. Klaus Tödter, sowie Dieter Münch-Harrach und Lars Rellin, deren geduldige Hilfs- und Auskunftsbereitschaft für mich eine große Unterstützung waren.

Für die zur Verfügung gestellten Versuchstiere danke ich Herrn Prof. Rinninger.

Ich möchte auch meinen Eltern danken, die mir mit ihrer großzügigen Unterstützung das Studium und die Zeit für diese Arbeit ermöglichten. Für geduldige Ermutigung und Zuspruch danke ich besonders auch meinem Freund Leander Garbe.

11. Lebenslauf

01.04.1980	Geboren in Hamburg
Juli 1999	Abitur am Gymnasium Grootmoor
Oktober 1999	Beginn mit dem Studium der Humanmedizin zum Wintersemester 1999/2000
September 2001	Medizinische Vorprüfung
Famulaturen	Innere Medizin im EASK (Feb/Mär 2002) Radiologie im EASK (Feb 2003) Klin. Forschung im Institut für Medizinische Biochemie und Molekularbiologie II im UKE (Jun/Jul 2003) Innere Medizin im AKB (Feb 2004) Allgemeinmedizin ambulant (Jul/Aug 2004)
September 2002	Erster Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
März 2005	Zweiter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
Praktisches Jahr	I. Chirurgie im AKB (Apr bis Aug 2005) I. Medizinische Abteilung im AKB (Aug bis Dez 2005)
voraussichtlich	Dermatologie im AK St.-Georg (Dez 2005 bis Mär 2006)
voraussichtlich 2006	Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung

12. Eidesstattliche Versicherung

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Unterschrift:

Gunda Seligmann