

## 5. Zusammenfassung

Die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente sollten zuvor beschriebene intrazelluläre Recyclingmechanismen von Apo E (Heeren, 1998) genauer untersuchen und den Einfluss der unterschiedlichen Apo E Isoformen auf die zelluläre Aufnahme von Chylomikronen und auf deren intrazellulären Stoffwechsel- und Recyclingprozesse klären. Des Weiteren sollte hierbei der beschriebene Effekt von HDL als extrazellulärer Akzeptor für recycelte Apolipoproteine (Heeren, 1998; Fazio, 1998) genauer beobachtet werden.

Nach Isolierung und Aufreinigung von Chylomikronen und Apolipoprotein E erfolgten zunächst Immunfluoreszenz-Aufnahmeversuche auf Hepatomazellen und Fibroblasten mit unterschiedlichen Aufnahmezeiten und Apo E Konzentrationen und Detektion des Apolipoproteins. Bei der Verwendung von humanen CM als Liganden zeigte sich die in der Literatur beschriebene Aufnahmesteigerung von CM durch Zusatz von Apo E. Isoformspezifische Unterschiede konnten betreffend Apo E<sub>2/2</sub> gefunden werden. Hier lies sich eine verzögerte Aufnahme nachweisen, die sich aber im Vergleich zu Ergebnissen vorausgegangener Untersuchungen nur leicht ausgeprägt darstellte.

In anschließenden Pulse-Chase-Experimenten auf Hepatomazellen, Normal-Fibroblasten und Tangier-Fibroblasten zum intrazellulären Recycling wurde der Recycling-induzierende Effekt von HDL in radioaktiven- und IMF-Versuchen deutlich gezeigt. Dieser erreichte in den radioaktiven Experimenten nicht die von Heeren beschriebene 60%ige Steigerung (Heeren, 1998), konnte allerdings in den IMF-Experimenten durch signifikante Verminderung der fluoreszenz-markierten Apo E-Partikel in der Zelle verdeutlicht werden. In den durchgeführten IMF-Versuchen auf Tangier-Fibroblasten, welche einen Defekt des für den Reversen Cholesterintransport aus peripheren Zellen verantwortlich gemachten ABC1-Transporter besitzen, erfolgte im Gegensatz zu Normal-Fibroblasten trotz HDL als Chasezusatzes eine Akkumulation von Apo E<sub>3/3</sub> in der Zellperipherie. Somit konnte der ABC1-Transporter als die für den Recyclingmechanismus von Apo E zuständige transmembranöse Struktur identifiziert werden.

In abschließenden Untersuchungen zu isoformspezifischen Unterschieden im Recycling von Apo E konnte eine Akkumulation von Apo E<sub>4/4</sub> in Hepatomazellen und Fibroblasten beschrieben werden. Während Apo E<sub>2/2</sub> und E<sub>3/3</sub> durch HDL-Induktion weitgehend aus der Zelle entfernt werden konnten sammelten sich fluoreszierende Apo E<sub>4/4</sub>-Partikel massiv in

der Zellperipherie an und glichen somit dem zuvor bei Tangier-Fibroblasten gezeigten Bild der Apo E Akkumulation.

Die Frage, inwiefern und in welchem Ausmaß diese isoformspezifische, intrazelluläre Akkumulation Ursache für pathologische Veränderungen im intrazellulären Lipidstoffwechsel ist, bleibt in weiteren Experimenten zu klären.