

Petia Jeliaskova

Dr. med.

Titel: Einfluss verschiedener Lipide auf die Kompartimentierung von Membranproteinen zu Lipidmikrodomänen (Lipid Rafts) – potentielle therapeutische Bedeutung für humane Erkrankungen

Promotionsfach: Innere Medizin

Doktorvater: Prof. Dr. med. Robert Ehehalt

In dieser Arbeit wurde der Einfluss der Lipide 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin (16:0/16:0), 1,2-Dilinoleoylglycero-3-phosphocholin (18:2/18:2), Asialogangliosid GM1 und Eicosapentaensäure (20:5, n-3) sowie der Effekt der Cholesterinverringering auf die Kompartimentierung von Membranproteinen in Lipidmikrodomänen untersucht. Als Raftmarkerproteine dienten das konstitutive Raft Protein Flotillin-2 und die Src-kinase Yes. Außerdem wurde der Einfluss von 1-Palmitoyl-glycero-3-phosphocholin-LPC (16:0) und 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin-PC1 (16:0/16:0) auf die Assoziation des TNF- α -Rezeptors 1 und TNF- α -Rezeptors 2 zu den DRMs untersucht. Da die Affinität eines Proteins oder Lipids zu den geordneten Raft-Domänen durch dessen Assoziation mit Detergens-resistenten Membranen (DRMs) abgeschätzt werden kann, wurden die DRMs mittels eines diskontinuierlichen OptiPrep-Stufengradienten isoliert und das Verhältnis der detergens-unlöslichen zu den detergens-löslichen Membranen vor und nach Applikation von Lipiden berechnet und miteinander verglichen. Nach Gabe von 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin-PC1 zeigten die Proteine eine stärkere Assoziation zu den Raft Domänen. Eine Applikation von 1,2-Dilinoleoylglycero-3-phosphocholin-PC2 resultierte in einer vermehrten Löslichkeit der Raft Proteine und in einer Verschiebung in die nicht-Raft Kompartimente der Zellmembran. Somit zeigten unterschiedlich aufgebaute Phosphatidylcholone unterschiedliche Effekte auf die Kompartimentierung der Raft-Proteine in der Zellmembran. Eine Modulierung der Zellmembran wurde außerdem nach der Applikation von Eicosapentaensäure und Asialogangliosid sowie nach Cholesterinextraktion beobachtet. In allen drei Experimenten wurde eine Destabilisierung der Lipid Rafts mit dadurch bedingter Lösung der Raft Marker Proteine erreicht.

Demzufolge können Lipide, die den Aufbau von Lipid Rafts mitbedingen, Einfluss auf die Effizienz der Signaltransduktion nehmen, indem sie die Assoziation der Proteine zu den

geordneten Domänen vermindern. In diesem Zusammenhang interessant ist, dass wir zeigen konnten, dass eine Vorbehandlung mit 1,2-Dipalmitoyl-sn-glycero-3-phosphocholin-PC1 und 1-Palmitoyl-glycero-3-phosphocholin-LPC die Kompartimentierung des TNF- α -Rezeptors 1 und TNF- α -Rezeptors 2 beeinflusst. Eine anti-TNF- α basierte Therapie ist mittlerweile Standard bei der Behandlung von chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen. Interessanterweise zeigte sich, dass durch eine Vorbehandlung mit 1-Palmitoyl-glycero-3-phosphocholin-LPC, 1,2-Dipalmitoyl-glycero-3-phosphocholin-PC1 und 1,2-Dilinoleoylglycero-3-phosphocholin-PC2 die TNF- α induzierte NF- κ B Aktivierung signifikant vermindert werden kann. Diese Interaktion mit Lipid Rafts ist auf molekularer Ebene eine der möglichen Erklärungen für den klinischen Effekt von Phosphatidylcholin bei Patienten mit Colitis ulcerosa.