

Maximilian Langer

Dr. med.

## **Analyse des endothelialen Fettsäurestoffwechsels mittels retroviraler Überexpression**

Fach/Einrichtung: Innere Medizin

Doktorvater: apl. Prof. Dr. rer. nat. Joachim Füllekrug

Als Barriere zwischen Blut und Gewebe kommt den Endothelzellen der Kapillaren eine besondere Aufgabe in der Regulation von Stoffwechsel und Nährstoffhaushalt zu. Um ein besseres Verständnis für Transport und Verstoffwechslung von Fettsäuren im mikrovaskulären Endothel zu erlangen, wurde die humane, mikrovaskuläre Endothelzelllinie HMEC-1 als Modellsystem gewählt. Diese wurde zum einen hinsichtlich Aufnahme und Metabolisierung von Fettsäuren mit einer Zelllinie nicht-endothelialen Ursprungs verglichen, zum anderen wurde der Einfluss einer stabilen Überexpression der vier Proteine FATP4, FATP3, ACSL3 und FABP5 untersucht. Im Anschluss an die retrovirale Transduktion wurde die erfolgreiche Überexpression der Proteine mittels Fluoreszenzmikroskopie sowie Western Blot bestätigt. Schließlich wurden Aufnahmeassays mit radioaktiv markierten Fettsäuren durchgeführt und mittels Dünnschichtchromatographie der Einfluss auf die weitere Verstoffwechslung betrachtet.

Beim Vergleich der Oleataufnahme der beiden Wildtypzelllinien HMEC-1 und A431 nach 30 Minuten konnte kein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Da es sich bei der Zelllinie A431 um stoffwechselaktive Tumorzellen handelt, kann eine hohe Transportkapazität der Endothelzellen angenommen werden, wodurch ihre physiologische Rolle beim Fettsäuretransport unterstrichen wird.

In der weiteren Metabolisierung ergaben sich signifikante Unterschiede: Der Anteil der unveresterten Fettsäuren betrug in den HMEC-1-Zellen mehr als das Dreifache im

Vergleich zu den A431-Zellen. Bei 3-stündiger Nachinkubation nahm der Anteil freier Fettsäuren in beiden Zelllinien ab, trotzdem war dieser in den Endothelzellen immer noch signifikant erhöht. Dies ist vereinbar mit der „metabolic trapping“ Hypothese, entsprechend derer die Veresterung von Fettsäuren einen transzellulären Transport und somit die physiologische Funktion der Endothelzelle behindern würde.

Im Vergleich der Überexpressionszelllinien in Bezug auf die Oleataufnahme nach 30 Minuten ließ sich kein statistisch signifikanter Unterschied zwischen der HMEC-1-Zelllinien welche FATP4 überexprimieren und der Kontrollzelllinie feststellen. Ein um 30 % höherer Durchschnittswert zeigte aber einen Trend zu erhöhter Aufnahme. Bezüglich der freien Fettsäuren war deren Anteil in der FATP4-Zelllinie signifikant geringer, was sich als Resultat der erhöhten ACS-Aktivität durch die zusätzlichen FATP4-Proteine deuten lässt. Zudem war der relative Anteil der Triglyceride signifikant erhöht. Entsprechend der Kanalisierungshypothese kann angenommen werden, dass FATP4 Fettsäuren aktiviert und anschließend den Enzymen der Triglyceridsynthese zuführt. Die Überexpression von FABP5 führte weder zu einem signifikanten Unterschied in der Aufnahmemenge noch in der weiteren Metabolisierung der Fettsäuren im Vergleich zur Kontrolle, das Protein erscheint an Fettsäureaufnahme und Verstoffwechslung nicht maßgeblich beteiligt zu sein.

Im Vergleich der Überexpressionszelllinien in Bezug auf die Oleataufnahme nach 3 Stunden war lediglich die Aufnahme der ACSL3-Zelllinie signifikant erhöht, die FATP3-Zelllinie zeigte aber ebenfalls eine deutlich erhöhte Aufnahme. Hinsichtlich der weiteren Metabolisierung waren nach 3 Stunden keine statistisch signifikanten Unterschiede mehr feststellbar, erkennbare Trends waren ein erniedrigter Anteil an freien Fettsäuren sowie ein erhöhter Anteil an Triglyceriden in den FATP4 und ACSL3 Zelllinien, was sich durch die erhöhte ACS-Aktivität erklären lässt.

Insgesamt wurde im Rahmen dieser Arbeit die Aufnahme und Verstoffwechslung von Fettsäuren in humanen mikrovaskulären Endothelzellen betrachtet. Anhand des Vergleichs zu einer Zelllinie nicht-endothelialen Ursprung ließen sich grundsätzliche Unterschiede beim Anteil freier Fettsäuren erkennen. Der Einfluss einer

Überexpression der im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Proteine gab einige Hinweise auf die mögliche Funktion dieser Proteine im Fettsäurestoffwechsel von Endothelzellen. In zukünftigen Projekten könnte die Untersuchung des transendothelialen Transports in einer geeigneten Zelllinie zur Entschlüsselung der Rolle des Endothels als Schaltstelle des Stoffwechsels beitragen. Die so gewonnenen Erkenntnisse könnten Ansatzpunkte für neue, innovative Therapien ökonomisch bedeutender Erkrankungen wie Insulinresistenz, Übergewicht und endothelialer Dysfunktion liefern.