

“THE ROLE OF APOLIPOPROTEIN E GENOTYPE ON OXIDANT/ANTIOXIDANT STATUS AND INFLAMMATION-STUDIES IN CULTURED MACROPHAGES AND TARGETED REPLACEMENT MICE”

MSc Laia Jofre Monseny

Dr.-Vater: Prof. Dr. G. Rimbach

Von den drei Hauptformen des Apolipoprotein E (ApoE) wird die E4 Isoform mit einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen (KVE) assoziiert – die ursächlichen molekularen Mechanismen sind jedoch noch weitestgehend unklar. Außer der Leber, die den Großteil des ApoE produziert, sind auch Makrophagen in atherosklerotischen Plaques in der Lage, ApoE zu synthetisieren. Unabhängig von seiner Rolle im Lipidmetabolismus, zeigt ApoE lokale antiatherogene Effekte; dazu zählen sowohl antioxidative als auch immunmodulatorische Aktivitäten, die vom ApoE Genotyp-abhängig sind.

In der vorliegenden Arbeit wurde der Einfluss des ApoE Genotyps auf oxidative Stress- und Entzündungsreaktionen *in vitro* in Makrophagen und *in vivo* in transgenen Mäusen systematisch untersucht. Für die *in vitro* Untersuchungen wurde eine murine stabil transfizierte Makrophagen-Zelllinie (RAW 264.7) verwendet, die gleiche Mengen an humanem ApoE3 bzw. ApoE4 exprimiert. ApoE4-Makrophagen zeigten unter basalen Bedingungen ein erhöhtes Ausmaß an Lipidperoxidation in der Membran sowie eine erhöhte induzierbare Stickstoffmonoxid und Superoxidanionen-Produktion nach Stimulation. Die durch Lipopolysaccharid-Applikation stimulierte Entzündungsantwort war in ApoE4-Makrophagen ebenfalls deutlich verändert. Im Vergleich zu ApoE3-Makrophagen war das Verhältnis von Zytokinen zu Gunsten des pro-inflammatorischen Tumor Nekrosefaktors α und zu Ungunsten des anti-inflammatorischen Zytokins Interleukin-10 verschoben. Des Weiteren waren sowohl die mRNA als auch Proteinspiegel der Hämoxygenase-1, ein durch Stress induziertes entzündungshemmendes Protein, sowie die Transaktivierung des redoxsensitiven Transkriptionsfaktors NF- κ B in ApoE4-Makrophagen erhöht.

Für die *in vivo* Untersuchung des Genotyp-abhängigen Einflusses und der Interaktion mit diätetischem α -Tocopherol wurden transgene Mäuse verwendet, die humanes ApoE3 oder ApoE4 anstatt des murinen ApoE exprimieren. Die Tiere wurden 12 Wochen lang α -Tocopherol-arm (α -Tocopherolzusatz: 0 mg/kg) oder -reich (α -Tocopherolzusatz: 200 mg/kg) gefüttert. Es wurden keine Unterschiede im Glutathionspiegel, der Aktivität antioxidativer Enzyme (Superoxiddismutase, Katalase, Glutathionperoxidase und -reduktase) und der Lymphozytenproliferation gefunden. Die α -Tocopherol-Konzentration war jedoch im Plasma ApoE4-transgener Mäuse erhöht und in verschiedenen Organen und Geweben im Vergleich zu ApoE3-Mäusen verringert. Der größte Unterschied wurde in der Lunge beobachtet, was darauf hinweist, dass die α -Tocopherol-Versorgung der Lunge in ApoE4-Mäusen möglicherweise beeinträchtigt ist. Die Konzentration des Entzündungsmarkers C-reaktives Protein war beim ApoE4 Genotyp verringert, übereinstimmend mit Beobachtungen in epidemiologischen Untersuchungen beim Menschen.

Die vorgelegten Ergebnisse zeigen, dass der ApoE4 Genotyp den oxidativen Status und Entzündungsreaktionen in Makrophagen beeinflusst. Dies könnte zum Teil das erhöhte Risiko von ApoE4 Allelträgern für Atherosklerose erklären. Außerdem lässt sich aus der *in vivo* Studie ableiten, dass die Versorgung von Geweben mit α -Tocopherol in E4 Trägern beeinträchtigt ist. Die nachteilige Wirkung von ApoE4 könnte durch das Auftreten zusätzlicher Faktoren des oxidativen Stresses verstärkt werden. Die geringeren Spiegel an C-reaktivem Protein, die mit ApoE4 assoziiert sind, könnten den adversen Effekten dieses Genotyps eventuell entgegenwirken.