

D-7

Nachweis eines verstärkten posttranslationalen Processing von Apolipoprotein E im Liquor cerebrospinalis

S. Ommert*, R. Siekmeier**, W. Jaroß**, W. Groß*

* Labor für Angewandte Biochemie, Gustav-Embden-Zentrum für Biologische Chemie, Klinikum der J.W. Goethe Universität Frankfurt/Main

** Institut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, Klinikum Carl Gustav Carus der Technischen Universität Dresden

Apolipoprotein E (ApoE) liegt in der Bevölkerung mit 3 verschiedenen Allelen bzw. 6 Phaenotypen vor, die mit einem unterschiedlichen Risiko zur Entwicklung kardiovaskulärer (Atherosklerose) bzw. neurologischer (M. Alzheimer) Erkrankungen einhergehen. Die Typisierung von ApoE im Serum zeigt, daß dort die verschiedenen Sialoformen von untergeordneter Bedeutung sind. Ziel dieser Studie war die Untersuchung der Sialinisierung von ApoE im Liquor. Material und Methoden: Die Typisierung von ApoE erfolgte in Liquor und Serum mittels isoelektrischer Fokussierung und Blot jeweils mit und ohne enzymatischen Verdau. Ergebnisse: Apo E weist im Liquor eine wesentlich stärkere Sialinisierung auf als im Serum. Während im Serum meist Mono-sialoformen vorliegen, treten im Liquor zusätzlich Di- und Trisialoformen in nennenswertem Umfang auf. Vorinkubation des Liquors mit Neuraminidase führt zu einer Abnahme der Anzahl dieser zusätzlichen Banden bis auf eine. Diese bleibt jedoch auch nach weiterer Vorinkubation mit verschiedenen Protein-Phosphatasen, Sulfatasen und Glykosidasen nachweisbar. Dagegen führt eine Vorinkubation mit Neuraminidase im Serum zum Verschwinden sämtlicher ladungsbedingter zusätzlicher Banden. Diskussion und Schlußfolgerung: ApoE weist im Liquor eine wesentlich stärkere Sialinisierung auf als im Serum. Darüber hinaus findet sich jedoch eine weitere, mit den eingesetzten Enzymen nicht charakterisierbare posttranslationale Modifikation. Die physiologische Bedeutung des ausgeprägten posttranslationalen Processing von ApoE in Liquor ist ebenfalls unbekannt und Gegenstand weiterer Untersuchungen.

D-8

Analysis of HDL metabolism in systemic inflammatory reactions (SIRS and sepsis) by capillary isotachopheresis

S. Barlage*, A. Böttcher*, D. Fröhlich**, G. Rothe*, G. Schmitz*

* Institute for Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and

** Department for Anesthesiology, University of Regensburg, Germany

Introduction: High density lipoproteins (HDL) restrict the harmful effects of bacterial infection via binding of bacterial lipopolysaccharide (LPS). As inflammatory reactions are associated with profound alterations of lipoprotein metabo-

lism, which also might affect the protective capacity of HDL, we determined the HDL subclass composition in patients with bacterial infection by analytical and preparative isotachopheresis.

Material and Methods: Lipoprotein patterns were analyzed by capillary isotachopheresis, using NBD-ceramide as a fluorescent dye with a saturation kinetic for lipoprotein labeling. In addition, lipoprotein fractions were isolated by preparative isotachopheresis and subjected to further analysis of cholesteryl-ester transfer protein (CETP), phospholipid transfer protein (PLTP) and lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) activity, as well as the distribution of the lipopolysaccharide binding protein (LBP).

Results: All patients presented with reduced HDL concentrations, accompanied by an increase in slow-migrating/pre β -HDL. LCAT activity was found to be reduced, contributing together with an enhanced PLTP activity to the increase in slow-migrating/pre β -HDL. PLTP and LBP are both known to transfer LPS to HDL, and as both proteins were demonstrated to comigrate with the slow-migrating/pre β -HDL fraction, this HDL fraction might be the major acceptor of LPS within the high density lipoprotein compartment.

Conclusion: Slow-migrating/pre β -HDL fraction seems to be the major acceptor of LPS within the HDL compartment in inflammation. In summary, the increase in slow-migrating/pre β -HDL indicates an acute phase response and might reflect the residual modulatory capacity of HDL against lipopolysaccharide.

D-9

In the presence of ascorbic acid oxidized low density lipoproteins induce programmed cell death of different cell types

M.G. Bachem*, D. Wendelin*, C. Haug*, U. Zorn*, H.J. Gross*, A. Schmid-Kotsas*, A. Nüssler**, A. Grünert*

* Dept. Clinical Chemistry and Dept. Experimental Surgery**, University of Ulm, Germany

Recently, we have shown that low concentrations (1-20 μ g/ml) of oxidized LDL (oxLDL) stimulate proliferation and extracellular matrix synthesis of hepatic (HSC) and pancreatic (PSC) stellate cells. Higher oxLDL concentrations were cytotoxic. In this study we investigated and characterized oxLDL mediated induction of apoptosis.

Methods: LDL were isolated by sequential ultracentrifugation and oxidized for 4 or 24 hours by air in the presence of copper-sulfate (5 μ M). Dialyzed oxLDL were added for 24 - 48 h to cultured HSC, PSC, coronary artery smooth muscle cells (SMC) and fibroblasts (FB) in the presence or absence of ascorbic acid, α -tocopherol, the Vit.E analogon TROLOX, probucol, superoxide-dismutase and catalase, respectively. Apoptosis was demonstrated by DNA-ladder, TUNEL-reaction, annexin-V binding, Apo-2.7-expression, PARP-cleavage, DNA-fragment ELISA and caspase-1 activity.