

6. Zusammenfassung

Die Organellen, die am Transport von freien oder in Chylomikronen Remnants inkorporierten Fettsäuren beteiligt sind, sollten aufgezeigt werden. In Rattenlebern wurden die Endozytose von freien Fettsäuren unterschiedlicher Kettenlänge und Sättigungsgrade untersucht und mit der von Fettsäuren inkorporiert in Chylomikronen Remnants verglichen. Die gesättigte ^3H -Palmitin-, die ungesättigte ^3H -Öl- und die sehr langkettige ^3H -Eicosapentaensäure sowie die fluoreszierende Fettsäure BODIPY *FL 16 wurden an Albumin gebunden oder in vivo in Chylomikronen der mesenterialen Lymphe eingebaut. Die Fettsäuren wurden dann in freier oder Chylomikronen Remnant-gebundener Form intravenös in Ratten injiziert. Zu unterschiedlichen Zeitpunkten wurden Plasmamembranen, CURL, Multivesikuläre Körper, Lysosomen, Peroxisomen, Mitochondrien und als Kontrollorganell das Receptor Recycling Compartment mit Hilfe unterschiedlicher Dichtegradienten durch Ultrazentrifugation isoliert und das Protein sowie die Radioaktivität bestimmt. Nach Injektion von BODIPY *FL 16 wurde in Kryoschnitten der Leber das Fluoreszenzmuster dargestellt.

Die Aufnahme der injizierten Lipide in die Leber betrug innerhalb von Minuten 20-40% der Radioaktivität. Freie Fettsäuren reicherten sich 30-90 min nach der Injektion in einem Precursor-Product-Verhältnis zunächst etwa 20-fach im CURL und dann bis 40-fach in den Multivesikulären Körpern an. Remnant-gebundene Fettsäuren waren bereits nach 15 min über 100-fach angereichert. Das Receptor Recycling Compartment als Negativkontrolle wie auch die Lysosomen enthielten nahezu keine Radioaktivität. In den Mitochondrien konnte zu jedem Zeitpunkt für alle freien Fettsäuren 10-15% der Aktivität nachgewiesen werden. Bis zu 10% der Eicosapentaensäure fand sich in den Peroxisomen. Ergebnisse zur Morphologie zeigen, daß das Fluoreszenzmuster von BODIPY *FL 16 mit einem vesikulären Transport der Fettsäuren vereinbar ist.

Nach ihrer Internalisierung in Hepatozyten folgen freie Fettsäuren zumindest teilweise und Remnant-gebundene Fettsäuren vermutlich ausschließlich dem klassischen Endozytoseweg bis in die Multivesikulären Körper. Sie werden dann jedoch nicht, wie LDL, in die Lysosomen aufgenommen, sondern zu den Mitochondrien transportiert. In freier Form

erscheint die sehr langkettige Eicosapentaensäure zusätzlich in den Peroxisomen. Dieser erstmalig nachgewiesene Transport von Fettsäuren in Vesikeln der Endozytose wird durch die Ergebnisse der Fluoreszenzuntersuchungen unterstützt.

Summary

The compartments involved in the intrahepatocellular trafficking of fatty acids have been unknown. Therefore, free fatty acids of different chain length and various degrees of saturation as well as the fluorescent fatty acid BODIPY[®] FL 16 were followed through hepatocytes after their uptake by rat liver *in vivo* and compared with the trafficking of fatty acids bound to chylomicron remnants

³H-palmitic, ³H-oleic or ³H-eicosapentaenoic acid in free form or incorporated in chylomicron remnants were intravenously injected into rats. At different time points plasma membranes, early and late endosomes, lysosomes, mitochondria and peroxisomes were isolated by various methods employing ultracentrifugation, and the radioactivity was determined

30-40% of the injected radioactivity was taken up by the liver. Within 15 to 60 min ³H-free fatty acids were 20- to 40-fold enriched in multivesicular bodies, while fatty acids of remnants were even more than 100-fold enriched similar to values known from LDL. At early time points there was also accumulation in CURL, while there were only traces of label in the receptor recycling compartment. At each time point free fatty acids and their chylomicron remnants were detectable up to 15% in mitochondria, while only ³H-eicosapentaenoic acid appeared up to 10% in peroxisomes. In lysosomes no radioactivity was detectable

The data demonstrate for the first time that in hepatocytes free fatty acids are at least in part transported via the classical endosomal pathway. Also, fatty acids of remnants appeared to follow this pathway exclusively, similar to LDL. However, in variance to LDL, fatty acids do not enter lysosomes, but are forwarded to mitochondria. Additionally, the long chain fatty acid eicosapentaenoic acid in its free form reaches peroxisomes. These results have been

confirmed by the fluorescent pictures, which are compatible with a vesicular transport of fatty acids through the hepatocyte