

Uta Maria Noske^{1,2} · Ursula Schmidt-Erfurth¹ · Carsten Meyer¹ · Heyke Diddens²

¹ Augenklinik, Medizinische Universität zu Lübeck

² Medizinisches Laserzentrum Lübeck

Lipidmetabolismus im Retinalen Pigmentepithel (RPE)

Mögliche Bedeutung von Lipoprotein- Rezeptoren*

Zusammenfassung

Hintergrund: Das retinale Pigmentepithel (RPE) reguliert den Lipidmetabolismus der Photorezeptoren durch Katalyse von Außensegmenten und ist über die Aderhautperfusion der Regulation der Blutlipide ausgesetzt. Da die Aufnahme von Cholesterin und Phospholipiden über spezifische Low-Density-Lipoprotein-(LDL)-Rezeptoren erfolgt, wurden Expression und Regulation dieser Rezeptortypes im RPE untersucht.

Material und Methode: In vitro-Experimente wurden an transformierten (SV40-) RPE-Kulturen mit humanen Fibroblasten als Vergleichskultur durchgeführt. Die Rezeptorkinetik wurde mit fluoreszenzmarkiertem LDL mittels Flowzytometrie untersucht.

Ergebnisse: RPE-Zellen zeigten eine höhere LDL-Rezeptor-Aktivität als Fibroblasten. Die Bindungskinetik war saturabel und temperaturabhängig, vereinbar mit einem rezeptorvermittelten Aufnahmesystem. Die LDL-Aufnahme war induzierbar und durch Zugabe von unmarkiertem LDL kompetitiv hemmbar.

Schlußfolgerung: RPE-Zellen besitzen eine hohe Dichte von Rezeptoren für natives LDL, über die möglicherweise der Lipidmetabolismus sowohl des RPE-Photorezeptorkomplexes als auch der Blutfette gesteuert wird. Ein Verlust der Regulierbarkeit des Rezeptors für LDL kann zu einer intrazellulären Akkumulation von Lipidstoffwechselprodukten führen, die eine Rolle in der Pathogenese der AMD spielen könnte.

Schlüsselwörter

Altersbezogene Makuladegeneration · RPE-Zellen · LDL-Rezeptoren · Lipidstoffwechsel

Die häufigste Ursache für einen irreversiblen Verlust des zentralen Sehvermögens bei älteren Menschen ist die altersbezogene Makuladegeneration (AMD). Als ein Risikofaktor für die exsudative AMD gelten z. B. Drusen, welche Lipidablagerungen im Bereich der Bruchschichten darstellen [7, 20]. Eine weitere Folge von Alterungsvorgängen ist die Akkumulation von Lipofuszin, dem Produkt eines unvollständigen Abbaus von Lipoproteinen, im retinalen Pigmentepithel (RPE) [4].

Der Lipidstoffwechsel, seine Altersabhängigkeit und seine Rolle für die Entwicklung der AMD sind in den letzten Jahren intensiv untersucht worden. Feeney-Burns wies als erstes die Existenz von Lipofuszin im menschlichen RPE nach [6]. Von Boulton wurde ein Modell für Alterungsvorgänge aufgestellt, das auf der Akkumulation von Lipofuszin im RPE beruht [1]. Pauleikhoff konnte nachweisen, daß Drusen und Lipidablagerungen an der Bruchschichten Membran als Risikofaktoren für die AMD anzusehen sind [15]. Daß Lipofuszin bei Überschreiten einer quantitati-

ven Schwelle Detergenzwirkung entwickelt und somit zum Untergang von RPE-Zellen führt, zeigten Eldred und Lasky [5]. Mit Fluoreszenzmessungen von Lipofuszin im RPE in vivo wurde nachgewiesen, daß Lipofuszinablagerungen im RPE im Alter zunehmen [3]. Andererseits wiesen epidemiologische Studien auf eine signifikante Korrelation von AMD und systemischen Lipidregulationsstörungen bei Atherosklerose hin [19].

Das RPE ist in besonderem Umfang mit dem Metabolismus von Lipiden und Lipoproteinen konfrontiert. Im Komplex der Außensegmente der Photorezeptoren und des RPE werden große Mengen nativer und durch Oxidation modifizierter Lipoproteine produziert und metabolisiert. Über die Interaktion mit der intensiv perfundierten Aderhaut ist das RPE der Regulation des Blutfettmetabolismus des gesamten Organismus ausgesetzt. Da die Aufnahme von Cholesterin in Form von Low Density Lipoproteinen (LDL) über spezifische LDL-Rezeptoren erfolgt [14], werden Expression und Regulation dieses

* Vortrag gehalten auf der 95. Tagung der Deutschen Ophthalmologischen Gesellschaft

Priv.-Doz. Dr. U. Schmidt-Erfurth
Augenklinik, Medizinische Universität zu Lübeck,
Ratzeburger Allee 160, D-23 538 Lübeck

U. M. Noske · U. Schmidt-Erfurth · C. Meyer
· H. Diddens

Lipid metabolism in retinal pigment epithelium (RPE): a possible role of LDL receptors

Summary

Purpose: The retinal pigment epithelium (RPE) regulates the lipid metabolism of the photoreceptors by catalysis of membrane outer segments and via choriocapillary perfusion is also exposed to the regulation of blood lipid levels. Since the uptake and metabolism of cholesterol are mediated by specific low-density lipoprotein (LDL) receptors, expression and regulation of this receptor-type were studied in RPE cultures.

Methods: In vitro experiments were carried out in transformed (SV40) human RPE cells. Human fibroblasts were used as a comparative cell line with known receptor expression. LDL was coupled to a fluorescent marker (Dil); receptor binding was quantified by flow cytometry. Expression and saturation characteristics were determined. LDL metabolism was examined by variation of the temperature (4 and 37 °C). LDL and Dil-LDL showed competition at the receptor.

Results: RPE cells demonstrated a higher uptake of Dil-LDL than fibroblasts. Expression could be further stimulated by culture conditions. Uptake kinetics were saturable with complete saturation at 50 µg/ml Dil-LDL. LDL uptake was shown to be temperature-dependent, indicating an energy-dependent pathway.

Conclusions: RPE cells exhibit significant expression of receptors for native LDL, possibly mediating the lipid metabolism of the RPE-photoreceptor complex, as well as the uptake of blood lipids. Lack of regulation of the receptor for LDL may lead to intracellular accumulation of lipids, which may play a role in the pathogenesis of AMD.

Key words

Age-related macular degeneration · RPE cells
· LDL receptors · Metabolism of lipids

Rezeptortypes im RPE untersucht, dem möglicherweise eine Schlüsselfunktion bei der Beladung der RPE-Zellen mit lipidhaltigen Stoffwechselprodukten zukommt.

Cholesterin und Phospholipide sind wesentliche Bestandteile der Zellmembran jeder Zelle [17]. An der Oberfläche der Zellen befinden sich Rezeptoren für LDL, an die spezifisch über Apolipoprotein B 100 LDL gebunden und endozytotisch aufgenommen wird [8]. Der weitere Weg führt über eine lysosomale Zersetzung zum Abbau der Lipoproteine, zur Freisetzung von Cholesterin und zum Recycling wiederverwendbarer LDL-Rezeptorbestandteile. Eine Störung des sensitiven Regulationsmechanismus von Lipidangebot und zellulären Abbaukapazitäten kann zur metabolischen Entgleisung mit Akkumulation von Lipiden und Lipidabbauprodukten im RPE und abhängigen Strukturen wie der Bruchschichten Membran und letztendlich zum Zelluntergang führen.

Ziel der Untersuchungen war daher die Qualifizierung des Metabolismus von Lipoproteinen in RPE-Zellen. Dafür wurden Expression und Regulation dieses Rezeptortypes im RPE untersucht. Wir verwendeten dazu die klassische Vergleichskultur für LDL-Rezeptor-Kinetiken: Fibroblasten aus der Haut, die eine hohe Dichte an LDL-Rezeptoren aufweisen, sowie LDL-Rezeptor-defiziente Fibroblasten.

Material und Methoden

Zellkulturen

Für die Durchführung der In-vitro-Experimente verwendeten wir folgende humane Zelllinien: SV40-transformierte retinale Pigmentepithelzellen und Fibroblasten eines Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie, im folgenden LDL⁻Fibroblasten genannt. Beide Kulturen wurden vom Human Genetic Mutant Cell Repository, Coriell Institute For Medical Research, NJ bezogen. Humane Fibroblasten eines gesunden Spenders ohne Rezeptordefekt, gewonnen aus Hautbiopsiematerial der Hautklinik der Medizinischen Universität Lübeck.

Die permanente Linie RPE SV40 wurde aus der Retina eines 3 Monate alten männlichen Feten isoliert und anschließend mit dem Simian Virus 40

(SV 40), einem onkogenen Virus aus der Gruppe der Papova-Viren, transformiert. Die Morphologie ist epithelähnlich und die Zellen sind nicht pigmentiert. Die LDL⁻Fibroblasten wurden aus der Haut einer 7jährigen kaukasischen Patientin mit homozygoter familiärer Hypercholesterinämie gewonnen. Sie sind LDL-Rezeptor-negativ, d. h. die Aktivität der LDL-Rezeptoren beträgt weniger als 1 % der Aktivität bei normalen Fibroblasten.

Die Kultivierung der RPE-SV40-Zellen und der Fibroblasten erfolgte in Dulbecco's Minimal Essential Medium (MEM) mit 10 % fetalem Kälberserum (FKS) bei 37 °C und 5 % CO₂, während die LDL⁻Fibroblasten in MEM mit 20 % FKS kultiviert wurden.

Lipoproteinisolierung und -markierung

Low Density Lipoprotein (LDL) wurde aus Plasma von normolipidämischen menschlichen Spendern entsprechend der Methode von Havel et al. [10] gewonnen. Lipoproteinfreies Serum (LPDS, lipoprotein deficient serum) wurde durch Entfernung aller Lipoproteine gewonnen. Die Markierung des LDL mit dem Fluoreszenzfarbstoff 1,1'-Diocadecyl-3,3,3',3'-Tetramethyl-Indocarbocyanin perchlorat (DiI) erfolgte nach Teupser et al. [18].

Alle hier genannten Lipoprotein-Präparationen wurden uns freundlicherweise von A.K. Walli, Abt. Klinische Chemie, Klinikum Großhadern der Ludwig-Maximilian-Universität München für unsere Untersuchungen zur Verfügung gestellt.

Qualitative Spektrofluorometrie der Dil-LDL-Aufnahme

Die Zellkulturen der Passagen 5–12 wurden in 35 mm-Lochplatten ausgesät und wuchsen in Dulbecco's MEM mit 10 % FKS bzw. 20 % FKS (LDL⁻Fibroblasten) über 24 Stunden. Danach wurde das Medium abgenommen, die Zellen 2mal mit Phosphat-gepufferter Saline (PBS) gewaschen und über 48 Stunden mit MEM/10 % LPDS (lipoproteinfreies Medium) inkubiert.

Expression und Sättigbarkeit des Aufnahmesystems für Dil-LDL wurden nach Inkubation der Zellkulturen mit ansteigenden Konzentrationen von DiI-

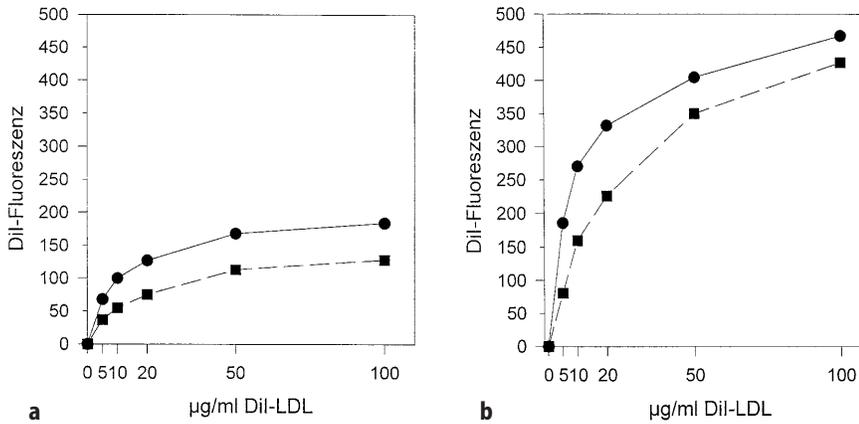


Abb. 1 a,b ▲ Vergleich der DiI-LDL-Aufnahme in RPE SV40-Zellen (—●—) und Fibroblasten (—■—) nach 48-stündiger Vorinkubation in a MEM mit 10% FKS bzw. b MEM mit 10% LPDS (lipoproteinfreies Serum). Inkubation mit steigenden Konzentrationen an DiI-LDL (0–100 µg LDL-Protein/ml) über 5 h bei 37 °C. Die Messungen der membrangebundenen und der intrazellulären DiI-LDL-Fluoreszenz erfolgte mit einem Flow Cytometer

LDL (5, 10, 20, 50, 100 µg Protein/ml) für 5 Stunden bei 37 °C in MEM/2% LPDS untersucht. Alle Untersuchungen erfolgten als Triplikate, jeder Versuch wurde 2mal wiederholt. Nach der Inkubation wurden die Zellen mit Trypsin-EDTA abgelöst und die relative intrazelluläre Anreicherung des DiI-LDL über die Fluoreszenz des Markers DiI mit Hilfe eines Durchflußzytometers (FAC-Scan, Becton Dickinson, San Jose, CA) bestimmt.

Nach Anregung mit einem Argon-Ionen-Laser bei 488/514 nm wurde die zelluläre Fluoreszenz in einem Wellenlängenbereich von 563–607 nm detektiert. Die Fluoreszenzintensität des zellgebundenen DiI wurde bei der Auswertung auf die Autofluoreszenz der Kontrollzellen normiert. Die Spezifität der Rezeptorbindung wurde durch Variation der Temperatur während der Aufnahme bei 4 °C und 37 °C untersucht. Eine kompetitive Hemmung am LDL-Rezeptor durch freies LDL wurde durch Zugabe von unmarkiertem LDL im Überschuß dokumentiert.

Ergebnisse

Der Rezeptor für Low Density Lipoprotein auf RPE-Zellen wurde nachgewiesen und charakterisiert. Untersucht wurden die Expression, Sättigbarkeit, Energieabhängigkeit und kompetitive Hemmbarkeit des Rezeptors.

Rezeptorexpression

Der Nachweis der Rezeptorexpression an humanen RPE-Zellen wurde mittels Inkubation mit markiertem Substrat (DiI-LDL) durchgeführt. Im FACScan zeigte sich eine signifikante Oberflächenfluoreszenz der mit DiI-LDL gekoppelten Substrat-Rezeptorkomplexe auf der RPE-Zellmembran und des bereits internalisierten DiI-LDL.

In Abb. 1 wird die konzentrationsabhängige Aufnahme von markiertem LDL an der Vergleichskultur (Fibroblasten) und den transformierten humanen RPE-Zellen dargestellt. Die Fibroblasten haben bei einer deutlich größeren Zelloberfläche als bei RPE-Zellen eine hohe Dichte von LDL-Rezeptoren. Auch bei den humanen transformierten RPE-Zellen findet sich eine außerordentlich hohe Präsenz des Rezeptortypes, der eine konzentrationsabhängige kontinuierliche Sättigung der LDL-Aufnahme zeigt (Abb. 1 a).

Nach Wachstum der Zelllinien in Medium mit lipoproteinfreiem Serum läßt sich die Aufnahme von DiI-LDL auf das 1,5fache steigern, da der Entzug von für die Zellteilung erforderlichen Membranlipiden zu einer Hochregulierung des Rezeptors führt. Dargestellt ist der Unterschied in der Rezeptorausprägung in Abb. 1 b.

Sättigbarkeit des Rezeptors

In einem zweiten Schritt wurde die Sättigbarkeit des Rezeptors bei allen verwendeten Zelllinien untersucht: humanen transformierten RPE-Zellen, Fibroblasten und LDL-Rezeptor-defizienten Fibroblasten. Die konzentrationsabhängige Aufnahme von DiI-LDL (5–100 µg Protein/ml) zeigte bei allen Zellkulturen eine Sättigbarkeit der LDL-Aufnahme, bereits bei 20 µg DiI-LDL-Protein/ml stieg die zelluläre DiI-Fluoreszenz nicht mehr proportional zur extrazellulären DiI-LDL Konzentration an. Die Aufnahme erreicht eine Plateauphase, bei der alle verfügbaren Rezeptoren mit Substrat besetzt sind. Die Aufnahme erreichte annähernd ihre Sättigung bei 50 µg DiI-LDL-Protein/ml. Abb. 2 zeigt einen Vergleich der Lipoproteinaufnahme in den verschiedenen Zelllinien.

Bei einem Vergleich der Zellkulturen untereinander stellten sich deutliche Unterschiede in der Rezeptoraktivität heraus: die LDL-Rezeptor-defizienten Fibroblasten als Negativkontrolle zeigten eine sehr geringe LDL-Rezeptor-Aktivität, während sich die RPE-Zellen und die intakten Fibroblasten ähnlich verhielten und ca. 10fache Werte der Aufnahme bei LDL-Fibroblasten erreichten.

Energieabhängigkeit

Zur Unterscheidung von passiven Diffusionsmechanismen und einer aktiven Aufnahme und Metabolisierung von LDL wurden Inkubationen bei 4 °C und bei 37 °C durchgeführt. Bei 4 °C wird davon ausgegangen, daß aktive energieabhängige Stoffwechselfvorgänge komplett zum Erliegen kommen, während bei Körpertemperatur ein ungestörtes Ablauf energieabhängiger Stoffwechselprozesse stattfindet. Die höchste Aktivität der Aufnahme von DiI-LDL bei RPE SV40-Zellen und Fibroblasten zeigt sich bei 37 °C und ist bei 4 °C komplett hemmbar, dieser Sachverhalt ist in Abb. 3 dokumentiert.

Auch in dieser experimentellen Serie zeigt sich eine Sättigbarkeit des Rezeptors bei Zugabe von mehr als 20 µg DiI-LDL-Protein/ml. Die Sättigbarkeit ist neben der Temperaturabhängigkeit ein Hinweis für eine regulierte rezeptorabhängige Aufnahme des Substrats. Die minimale Fluoreszenzmessung bei 4 °C

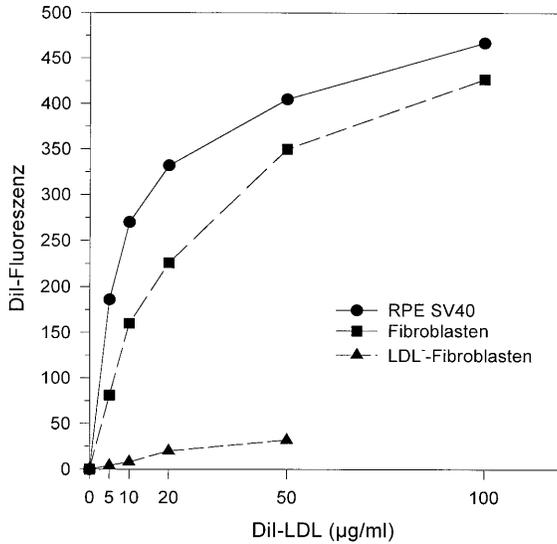


Abb. 2 ◀ Vergleich der konzentrationsabhängigen DiI-LDL-Aufnahme bei 37°C in verschiedene Zelllinien. Nach 48 h Wachstum der Zellen in Medium mit lipoproteinfreiem Serum (10% LPDS) wurden die Zellkulturen mit 0–100 µg DiI-LDL-Protein/ml für 5 h bei 37°C inkubiert. Durchflußzytometrische Bestimmung der Fluoreszenz von DiI-LDL. Dargestellt sind die Ergebnisse der DiI-LDL-Aufnahme als relative Fluoreszenz

entspricht lediglich einer passiven Adhäsion des markierten LDL an die inaktiven Rezeptorkomplexe auf der Membran, die nicht von einer Internalisierung gefolgt sind. Bei 37°C kommt es zur Rezeptorbindung, Internalisierung des Substrats mit Endozytose und Recycling des Rezeptors an die Zelloberfläche, so daß neues Substrat ständig weiter aufgenommen und internalisiert werden kann.

Kompetitive Hemmbarkeit

Um die Wirkung einer Kompetition mit unmarkiertem LDL am Rezeptor zu verdeutlichen, wurde während der DiI-LDL-Inkubation freies LDL im Überschuß in das Inkubationsmedium gegeben. Während der Inkubation mit jeweils 10 µg DiI-LDL-Protein/ml wurden 10, 50 und 100 µg LDL-Protein/ml hin-

zugegeben, was einem Verhältnis von 1:1, 1:10 und 1:50 entspricht. Bei Kompetition in einem Verhältnis von 1:50 von markiertem zu freiem LDL läßt sich die Aufnahme von DiI-LDL bei RPE SV40-Zellen und Fibroblasten auf 10 % ihres ursprünglichen Wertes supprimieren (Abb. 4).

Die kompetitive Hemmbarkeit des LDL-Rezeptors, die synchron auf Fibroblasten als auch auf humanen RPE-Zellen zu finden ist, weist auf einen quantifizierbaren Rezeptor-gebundenen Aufnahmemechanismus hin, da sich eine passive Aufnahme, z. B. durch Diffusion, nicht hemmen oder regulieren ließe.

Diskussion

Ein wichtiger Vorgang, der bekanntermaßen durch Rezeptor-vermittelte Endozytose erfolgt, ist die Aufnahme von

Cholesterin in humane Zellen. Das Cholesterin wird im Blut zum größten Teil als Cholesterin-Protein-Komplex transportiert, der als Low-Density-Lipoproteine bezeichnet wird [14]. Wenn eine Zelle Cholesterin für ihre Membransynthese benötigt, stellt sie Rezeptormoleküle für LDL her und setzt sie in ihre Plasmamembran ein. Über diesen Rezeptorweg wird LDL in die Zelle aufgenommen und intrazellulär hydrolysiert, so daß der Zelle nun für die Synthese neuer Membranen freies Cholesterin zur Verfügung steht. Sollte sich intrazellulär zu viel freies Cholesterin ansammeln, werden sowohl die Eigensynthese des Cholesterins als auch die Synthese von LDL-Rezeptoren stark gedrosselt [8].

Wie unsere Ergebnisse zeigen, exprimieren RPE-Zellen hochaktive Rezeptoren für natives LDL. Die Aufnahme zeigt bei 37°C die höchste Aktivität und ist bei 4°C komplett hemmbar. Das ist ein Hinweis, daß es sich nicht um passive Diffusionsvorgänge, sondern um aktive, energieverbrauchende Rezeptor-vermittelte Transportmechanismen handelt. Diesen Sachverhalt konnten wir erstmals an humanen RPE-Zellen demonstrieren.

Weiterhin fanden wir ähnlich hohe Werte für die DiI-LDL-Aufnahme bei Fibroblasten, als bekannte positive Referenzlinie, und RPE-SV40-Zellen. Proliferativ aktivierte RPE-SV40-Zellen zeigen eine gesteigerte Aufnahme von Lipoproteinen, die sie zur Neusynthese von Zellmembranen benötigen. Proliferation ist eine spezifische Eigenschaft dieser transformierten RPE-Zellen. LDL-Rezeptor-defiziente Fibroblasten

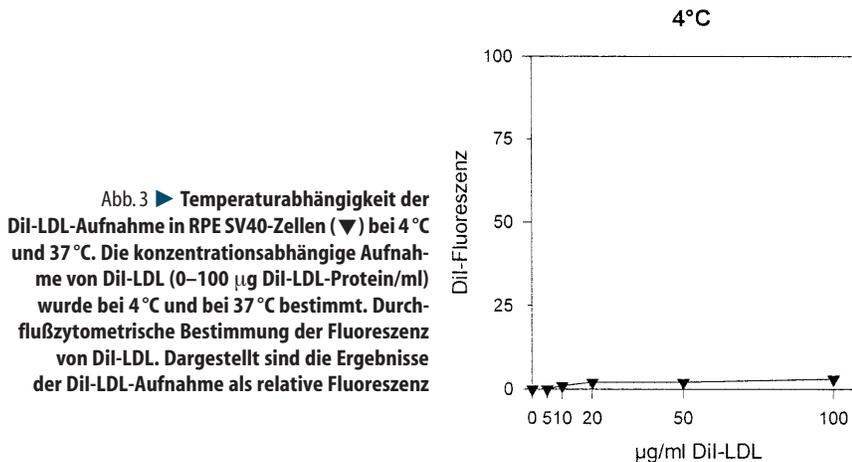


Abb. 3 ▶ Temperaturabhängigkeit der DiI-LDL-Aufnahme in RPE SV40-Zellen (▼) bei 4°C und 37°C. Die konzentrationsabhängige Aufnahme von DiI-LDL (0–100 µg DiI-LDL-Protein/ml) wurde bei 4°C und bei 37°C bestimmt. Durchflußzytometrische Bestimmung der Fluoreszenz von DiI-LDL. Dargestellt sind die Ergebnisse der DiI-LDL-Aufnahme als relative Fluoreszenz

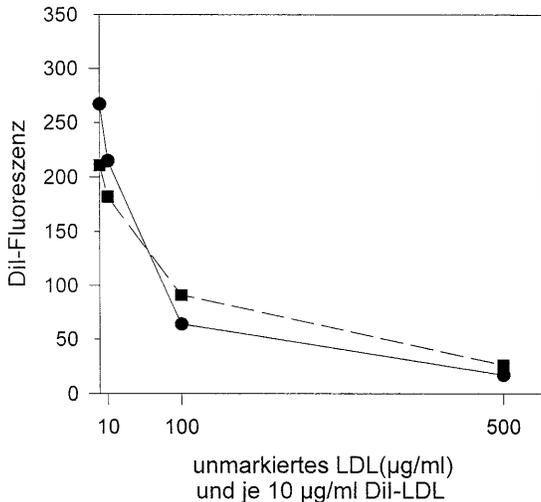


Abb. 4 ◀ **Kompetition der DiI-LDL-Aufnahme mit unmarkiertem LDL bei RPE-SV40-Zellen (●) und Fibroblasten (■).** Die Inkubation erfolgte mit 10 µg DiI-LDL-Protein/ml und je 10, 100 und 500 µg unmarkiertem LDL-Protein/ml. Durchflußzytometrische Bestimmung der Fluoreszenz von DiI-LDL. Dargestellt sind die Ergebnisse der DiI-LDL-Aufnahme als relative Fluoreszenz

eines Probanden mit familiärer Hypercholesterinämie wiesen im Vergleich zu den anderen Zellkulturen eine sehr geringe DiI-LDL-Aufnahme auf. Durch Konkurrenz mit unmarkiertem LDL im Verhältnis 1:50 (DiI-markiertes/unmarkiertes LDL) läßt sich die DiI-LDL-Aufnahme bei RPE-SV40-Zellen und bei Fibroblasten auf 10 % des Ausgangswertes supprimieren, womit eine spezifische und Rezeptor-vermittelte Aufnahme bewiesen ist. Alle genannten Charakteristika des Rezeptors weisen auf eine hohe Spezifität und Sensitivität hin und damit eine hohe Vulnerabilität für schädigende Einflüsse.

Der LDL-Rezeptor und seine Regulationsmechanismen wurden erstmals von Goldstein und Mitarbeitern beschrieben [8] und gilt als wesentlicher Regulator des Lipidmetabolismus sowohl systemisch als auch lokalisiert in Zellstrukturen mit spezifischer metabolischer Leistung [14]. Hepatozyten exprimieren LDL-Rezeptoren als Ausdruck der Rolle der Leber im Lipoprotein-Katabolismus [16]. Organe, die Steroidhormone produzieren wie die Nebennierenrinde und das Corpus luteum, weisen vermehrt LDL-Rezeptoren auf [12]. Als weitere Gruppe mit erhöhter Anzahl an LDL-Rezeptoren sind Zellen mit einer pathologisch gesteigerten Proliferationsrate, z. B. Tumorzellen identifiziert worden [16]. Alle genannten Zelltypen besitzen eine hochspezifische Stoffwechselfunktion, für deren Ablauf der LDL-Rezeptor offensichtlich wesentlich ist.

LDL-Rezeptoren auf RPE-Zellen wurden bisher lediglich an bovinem RPE nachgewiesen [11]. In der vorliegenden Arbeit ist es erstmals gelungen, den Rezeptor auch in humanem RPE zu demonstrieren. Zusätzlich konnte gezeigt werden, daß die Rezeptorregulation im RPE identischen Mechanismen folgt wie in den Organsystemen mit spezifischer LDL-Funktion.

Die hohe Expression und die gezielte Regulierbarkeit des LDL-Rezeptors auf RPE-Zellen weist auf eine entscheidende Rolle im Metabolismus der Lipide hin. Eine notwendige Metabolisierung von Lipiden fällt sowohl von retinaler Seite durch den Abbau der Zellmembranen der Photorezeptoraußensegmente an, deren Membranen ebenso aus Cholesterinanteilen bestehen, als auch von Seiten der Chorio-kapillaris, die kontinuierlich von extraokulär Blutlipide an das RPE herantransportiert. Es ist denkbar, daß eine genetische Variabilität der Rezeptorexpression a priori oder ein Verlust der Regulierbarkeit durch Alterungsprozesse zu einer Störung dieses Regulationsmechanismus führen.

Systemische Defekte in der LDL-Rezeptorausstattung oder -funktion führen zu einer massiven Atherosklerose mit Ablagerung von Lipiden in vaskulären Endothelzellen und Makrophagen [2]. Natives LDL, welches nicht unmittelbar in die abbauende Zelle aufgenommen werden kann, wird im Organismus innerhalb kurzer Zeit chemisch modifiziert, d. h. azetyliert oder oxidiert. Das veränderte LDL wird vom LDL-Rezeptor nicht mehr erkannt, son-

dern von einem separaten Rezeptortyp, dem sog. Scavenger-Rezeptor, aufgenommen. Scavenger-Rezeptoren befinden sich charakteristischerweise nur auf einigen wenigen Zelltypen, im wesentlichen vaskulären Endothelzellen und Makrophagen [9]. Diese Zellen zeigen auch in vivo die intensivste pathologische Anreicherung von Lipidstoffwechselprodukten.

Die Existenz dieses spezifischen Rezeptors für oxidierte Lipoproteine wurde bereits auf RPE-Zellen bovinen Ursprungs nachgewiesen [11]. In vitro zeigten bovine RPE-Zellen im Gegensatz zu Fibroblasten auch Rezeptoren für oxidiertes LDL. In der bovinen Zelllinie ist dieser Scavenger-Rezeptor wesentlich unspezifischer in der Aufnahme oxidiertes Lipide und weniger regulierbar als der LDL-Rezeptor selbst.

RPE-Zellen sind durch die Expression des Rezeptors für oxidiertes LDL auch als ein Zelltyp makrophagozytären und endothelialen Ursprungs charakterisiert. Diese spezifische Makrophagenaktivität für oxidierte Lipide und die hohe oxidative Aktivität im Photorezeptor-RPE-Komplex mag ähnlich wie die Atherosklerose in vaskulären Endothelzellen zu einer altersabhängigen Dekompensation mit Akkumulation von lipidhaltigem Detritus und endgültigem Versagen der metabolischen Zellfunktionen im Fall der AMD auf RPE-Ebene führen. Eine Dysregulation in der Lipidhomöostase resultiert in einer langsam progredienten Störung des Lipidhaushaltes, die mit der AMD als langsam progrediente Alterserkrankung vereinbar wäre.

Literatur

1. Boulton M, Marshall J (1986) **Effects of increasing numbers of phagocytotic inclusions on human RPE cells in culture: a model of aging.** Br J Ophthalmol 70: 808–815
2. Brown MS, Kovanen PT, Goldstein JL (1981) **Regulation of plasma cholesterol by lipoprotein receptors.** Science 212: 628–632
3. Delori FC (1994) **Lipofuscin and drusen fluorescence in aging and age related macular degeneration.** Invest Ophthalmol Vis Sci 35: S2145
4. Dorey CK, Wu G, Ebenstein D, Garsd A, Weiter JJ (1989) **Cell loss in the aging retina relationship to lipofuscin accumulation and macular degeneration.** Invest Ophthalmol Vis Sci 30: 1691–1699

5. Eldred GE, Lasky MR (1993) **Retinal age pigments generated by self-assembling lysomotropic detergents.** *Nature* 361: 724–726
6. Feeney-Burns L et al. (1980) **Lipofuscin of the human retinal pigment epithelium.** *Am J Ophthalmol* 90: 783–791
7. Gass JD (1973) **Drusen and disciform macular detachment and degeneration.** *Arch Ophthalmol* 90: 206–217
8. Goldstein JL, Anderson RGW, Brown MS (1979) **Coated pits, coated vesicles and receptor-mediated endocytosis.** *Nature* 297: 679–684
9. Goldstein JL, Ho YK, Basu SK, Brown MS (1979) **Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein producing massive cholesterol deposition.** *J Cell Biol* 76: 333–338
10. Havel R, Eder HA, Bragdon JH (1955) **Distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum.** *J Clin Invest* 34: 1345–1353
11. Hayes KC, Lindsey S, Stephan ZF, Brecker D (1989) **Retinal pigment epithelium possesses both LDL and scavenger activity.** *Invest Ophthalmol Vis Sci* 30: 225–232
12. Kovanen PT, Basu SK, Goldstein JL, Brown MS (1979) **Low density lipoprotein receptor in bovine adrenal cortex.** *Endocrinology* 104: 610–616
13. Loughheed M, Steinbrecher U (1996) **Mechanism of uptake of copper-oxidized low density lipoprotein in macrophages is dependent on its extent of oxidation.** *J Biol Chem* 271: 11798–11805
14. Mahley RW, Innerarity TL (1979) **Lipoprotein receptors and cholesterol homeostasis.** *Biochim Biophys Acta* 737: 197–205
15. Pauleikhoff D, Harper A, Marshall J, Bird AC (1990) **Ageing changes in Bruchs membrane. A histochemical and morphological study.** *Ophthalmology* 97: 171–178
16. Rudling JM, Reihner E, Einarsson K, Ewerth S, Angelin B (1990) **Low density lipoprotein receptor binding activity in human tissues.** *Proc Natl Acad Sci USA* 87: 3469–3473
17. Storch J, Kleinfeld AM (1982) **The lipid structure of biological membranes.** *Trends Biochem Sci* 10: 418–421
18. Teupser D, Thierry J, Walli AK, Seidel D (1996) **Determination of LDL- and scavenger-receptor activity in adherent and non-adherent cultured cells with a new single-step fluorometric assay.** *Acta Biochim Biophys* 1303: 193–198
19. Vingerling JR, Dielemans I, Bots ML, Grobbee DE, Hofman A, de Jong PTVM (1995) **Age-related macular degeneration is associated with atherosclerosis. The Rotterdam Study.** *Am J Epidemiol* 142: 404–409
20. Young RW (1987) **Pathophysiology of age related macular degeneration.** *Surv Ophthalmol* 31: 292–306

Ophthalmologe
1998 • 95:819 © Springer-Verlag 1998

Redaktion
A. Kampik • München
K.W. Ruprecht • Homburg/Saar

Wenn die Macula lutea degeneriert und die Aderhaut erschlafft

Chibret International Award für Ulmer Augenarzt Dr. Christoph Spraul

Das Krankheitsbild Makuladegeneration ist durch einen langsamen, aber häufig unaufhaltsam fortschreitenden Verlust der Sehkraft gekennzeichnet. Eine wirkungsvolle Therapie gibt es bis heute nicht. Die altersbedingte Makuladegeneration (AMD) gilt in Deutschland als häufigste Erblindungsursache jenseits des 50. Lebensjahres. Oberarzt Dr. Christoph Spraul von der Universitäts-Augenklinik Ulm (Leitung Prof. Dr. Gerhard K. Lang) gilt als Spezialist auf dem Gebiet der AMD. Bereits in seiner Ausbildung zum Assistenzarzt interessierten ihn der Nutzen einer Laserbehandlung bei AMD und die Frage, welche morphologischen Veränderungen am Augapfel den Alterserscheinungen zugrunde liegen. Sein Ziel: Angriffspunkte finden für eine Therapie.

Ein DFG-Stipendium ermöglichte dem engagierten Augenarzt kürzlich einen einjährigen Forschungsaufenthalt in den USA und damit die systematische Untersuchung von rund 1.000 makuladegenerierten Spenderaugäpfeln (Bulbi). Tatsächlich ergab die histolo-

gisch-morphometrisch-ultrastrukturelle 1.000-Bulbi-Analyse, daß neben feinsten Ablagerungen auf dem Gelben Fleck (Macula lutea), im gesunden Auge dem Punkt der größten Sehschärfe, wahrscheinlich auch und vor allem die im Alter nachlassende Spannkraft der Aderhaut zum Verlust der Sehkraft beiträgt. Ob sich dieser Prozeß mit geeigneten revitalisierenden Präparaten bremsen, im Idealfall sogar stoppen läßt, untersucht Spraul zunächst an Zellkulturen.

Seine Arbeiten wurden bereits national und international gewürdigt. Bei der Endausscheidung des Chibret International Award ging Spraul als stolzer Sieger hervor. Diese alle 2 Jahre ausgeschriebene, mit 35.000 US-Dollar dotierte Ehrung gilt als einer der renommiertesten Forschungspreise der Augenheilkunde. □

Quelle: Pressestelle der Universität Ulm, Informationsdienst Wissenschaft (idw)