

II. Theoretische Grundlagen

Die Lipide, d.h. Cholesterin, Cholesterinester, Triglyzeride und Phospholipide, mit Ausnahme der freien Fettsäuren sind Bestandteile der Lipoproteine. Die Lipoproteinpartikel enthalten im Kern die hydrophoben Lipide (Cholesterinester und Triglyzeride), welche von spezifischen Apolipoproteinen und polaren Lipiden (Phospholipiden und freiem Cholesterin) umhüllt sind. Die Lipoproteine stellen die wasserlösliche Transportform der hydrophoben Lipide im wässrigen Milieu des Blutes dar. Sie unterscheiden sich in ihren physikochemischen Eigenschaften Dichte, Größe, Ladung und Löslichkeit. Zwischen den Lipid- und Proteinbestandteilen der Lipoproteine findet ein ständiger Austausch statt (metabolic remodeling). Mit zunehmendem Protein- und abnehmendem Lipidgehalt steigt die Dichte der Lipoproteinpartikel. Die heute am häufigsten genutzte Einteilung der Lipoproteine basiert der hydratisierten Dichte. Durch Ultrazentrifugation können die einzelnen Lipidfraktionen aufgetrennt werden, wodurch sich 5 Hauptfraktionen nach zunehmender Dichte unterscheiden lassen: Chylomikronen, Very Low Density Lipoproteine (VLDL), Intermediate Density Lipoproteine (IDL), Low Density Lipoproteine (LDL) und High Density Lipoproteine (HDL). Das Lipoprotein(a) unterscheidet sich von den LDL lediglich durch ein zusätzliches Apolipoprotein (Apolipoprotein(a)).

II.1 Apolipoproteine

Ein funktioneller Teil der Lipoproteinmoleküle sind die Apolipoproteine. Ein Lipoproteinpartikel kann verschiedene Apolipoproteine (Apoproteine) enthalten. Diese Apoproteine wirken einerseits stabilisierend auf die Partikelstruktur, andererseits ermöglichen sie durch ihre spezifischen Strukturen den gerichteten Transport der Lipide. Sie binden an Membranrezeptoren auf den Zielzellen, steuern die Aufnahme der Lipide in die Zielzellen und wirken zusätzlich über die Beeinflussung von Enzymaktivitäten auf den Lipoproteinstoffwechsel.

In Tabelle 1 ist eine Übersicht über die verschiedenen Apolipoproteine, ihr Vorkommen in den einzelnen Lipoproteinklassen und ihre Funktion wiedergegeben.

Tabelle 1: Die wichtigsten Apolipoproteine

Apolipo- proteine	Vor- kommen	Molekularge- wicht x 10³	Syntheseort	Serumkon- zentration (mg/dl)	Funktion
Apo(a)	Lp(a)	35-90	Leber	variabel	fraglich
A I	HDL, Chylom.	28,3	Darm, Leber	100 - 150	Strukturprotein von HDL, Kofaktor der Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase
A II	HDL, VLDL	17	Darm, Leber	30 - 50	Strukturprotein von HDL
A IV	Chylom.	48	Darm	15	Unbekannt
B 100	LDL, VLDL	549	Leber	80 - 100	Strukturprotein der VLDL und der LDL, Interaktion mit dem LDL-Rezeptor
B 48	Chylom.	265	Darm	?	Strukturprotein der Chylomikronen
C I	Chylom., VLDL, HDL	6,5	Leber	4 - 8	Kofaktor der LCAT
C II	Chylom., VLDL, HDL	8,8	Leber	3 - 8	Kofaktor der Fettgewebslipo- proteinlipase
C III	Chylom., VLDL, HDL	8,9	Leber	8 - 15	Inhibiert LPL und hepatische Lipase
D	HDL	20	Leber	10	vermutlich Rolle in LCAT-Reaktion und Cholesterinester-Stoffwechsel
E	Chylom. VLDL, HDL	34	Leber u.a. Gewebe	3 - 5	Rezeptorinterakt. mit allen Mitgliedern der LDL-Rezeptorfamilie

Modifiziert nach Kostner und März aus: Handbuch der Fettstoffwechselstörungen: Schwandt, Richter, Parhofer (Hrsg) Schattauer 2000; Zusammensetzung der Lipoproteine, Seite 3-57 und nach Harrison Innere Medizin 15. Auflage: Seite 2449 (Tabelle 344-2)

Apolipoprotein(a)

Apo(a) ist der charakteristische Baustein des Lipoprotein(a) [Utermann, 1989]. Im Lp(a) ist Apo(a) über eine Disulfidbrücke mit Apo B-100 verbunden [Fless, Zum Mallen & Scanu, 1986]. Es wird in der Leber synthetisiert. Da die cDNA des Apo(a) eine sehr hohe Strukturhomologie zur cDNA des Plasminogens aufweist, nimmt man an, dass das Gen für Apo(a) durch Duplikation des Plasminogen-Gens auf Chromosom 6 entstanden ist [McLean, Tomlinson, Kuang et al., 1987]. Bislang sind mehr als 30 Isoformen des Apo(a) bekannt, die sich erheblich in ihrem Molekulargewicht unterscheiden. Die cDNA des Apo(a) kodiert ein Protein, das aus einer variablen Anzahl von Kringel IV Domänen, einer Kringel V Domäne und einer Proteasedomäne besteht. Die Kringel IV Domäne kommt in 10 unterschiedlichen Variationen vor, wobei bis auf Typ 2 alle Typen nur einmal vorkommen. Die Zahl der Kringel IV Typ 2 Domänen bestimmt den Größenpolymorphismus des Apo(a), der invers mit der Plasmakonzentration des Lp(a) korreliert ist. [Koschinsky, Beisiegel, Henne-Bruns et al., 1990]. Es ist noch nicht klar, auf welchem Mechanismus die enge Korrelation zwischen Isoform und Plasmakonzentration beruht. Die post-translationale Modifikation großer Apo(a)-Isoformen im endoplasmatischen Retikulum erfolgt offenbar verzögert [Berglund & Ramakrishnan, 2004; Brunner, Lobentanz, Petho-Schramm et al., 1996].

Apolipoprotein A

Aus der Apo A-Familie sind heute 4 Proteine bekannt, Apo A I, Apo A II, Apo A IV und Apo A V. Apo A I und Apo A II bilden den Hauptanteil des Proteinbestandteils der HDL, mit jeweils 60% bzw. 30%. Das in der Leber und im Darm synthetisierte Apo A I aktiviert das Enzym Lecithin-Cholesterin-Acyl-Transferase (LCAT), welches für die Veresterung von Cholesterin in den HDL notwendig ist, und es ermöglicht die Bindung an HDL-Rezeptoren. Erhöhte Apo A I Spiegel sind charakteristisch für die primäre Hyperalphalipoproteinämie. Signifikante Erhöhungen werden auch unter Therapie mit Östrogenen, Fibraten, CSE-Hemmern, Phenytoin und oft auch bei mässigem Alkoholkonsum beobachtet. Erniedrigte Spiegel finden sich bei der Tangier-Krankheit, LCAT-Mangel u.a. familiären Lipoprotein-Defekten. Sekundäre Apo A I Erniedrigungen finden sich bei chronischen Hepatopathien, bei dem nephrotischem Syndrom und unter Therapie mit Androgenen, Gestagenen, Diuretika sowie Betablockern.

Apo A II wirkt wahrscheinlich als Kofaktor der hepatischen Triglyzeridlipase und der LCAT. Es wird in der Leber synthetisiert. Apo A IV ist Bestandteil von HDL und von Chylomikronen. Es kommt jedoch auch frei im Plasma vor. Dieses im Dünndarm

synthetisierte Apoprotein ist an der LCAT Aktivierung und am reversen Cholesterintransport beteiligt [Steinmetz, Barbaras & Ghalim, 1990]. Die Funktion von Apo A V ist bisher nicht bekannt.

Apolipoprotein B, C und E

Das Apoprotein B liegt in den Chylomikronen als Apo B 48 und in den VLDL, IDL, LDL und Lp(a) als Apo B 100 vor. Apo B 100 und Apo B 48 werden durch das gleiche Gen codiert. Die mRNAs beider Formen werden aus einem Primärtranscript editiert [Chen, Habib, Yang et al., 1987]. Da das im Dünndarm synthetisierte Apo B 48 ein obligater Bestandteil für die Chylomikronenbildung ist, führt ein nicht intaktes Apo B 48 zur Fettmalabsorption [Kane & Havel, 1989]. Im Gegensatz zum in der Leber synthetisierten Apo B 100 vermag es nicht an den LDL-Rezeptor zu binden.

Durch die Interaktion zwischen Apo B 100 und dem LDL-Rezeptor erfolgt die Aufnahme von LDL in die Zielzellen (Leber und andere Gewebe) [Young, 1990]. Jedes LDL-Partikel enthält ein Molekül Apo B 100. Ein fehlendes oder nicht voll funktionstüchtiges Apo B 100 hat erhebliche Folgen für den Cholesterinstoffwechsel und führt zu einer massiven Hypercholesterinämie, durch mangelnde hepatische Elimination via LDL-Rezeptor.

Apo C wird hauptsächlich in der Leber synthetisiert. Man unterscheidet Apo C I, Apo C II und Apo C III. Bis auf LDL und Lp(a) enthalten alle Lipoproteine Apo C. Apo C I wirkt als Kofaktor der LCAT und hemmt die Bindung von Lipoproteinen an den LDL-Rezeptor. Apo C II aktiviert die Lipoproteinlipase, die eine wichtige Rolle beim Abbau von VLDL und Chylomikronen einnimmt. Patienten, die einen familiären Apo C II Mangel aufweisen, leiden trotz normaler LPL Funktion unter einer schweren Hypertriglyzeridämie. Apo C III inhibiert die LPL und die hepatische Lipase und aktiviert LCAT, so dass Remnant-Lipoproteine abgebaut werden können.

Apo E wird zum größten Teil in der Leber synthetisiert, aber auch im Darm, in der Astroglia des ZNS und der peripheren Nerven, den Makrophagen und in anderen Geweben. Apo E spielt eine wichtige Rolle beim Transport von Cholesterin und im Metabolismus der Lipoprotein-Partikel. Apo E ist Ligand aller Mitglieder der LDLR-Familie; es bindet an den LDL-Rezeptor (LDLR), das LDL-receptor related Protein (LRRP), den VLDL-Rezeptor, den Apo E Rezeptor 2. Es kontrolliert den Katabolismus von Apo E-haltigen Lipoproteinen (VLDL, Chylomikronen und IDL) und deren Clearance aus dem Plasma und bestimmt somit die Homöostase von Triglyzeriden und Cholesterin. Apo E zeigt eine phänotypische Variabilität, die auf einem genetischen Polymorphismus beruht [Zannis, Breslow, 1981]. Es

existieren 3 verschiedene Allele: E 2, E 3 und E 4. Durch PCR lassen sich drei homozygote (E 2/2, E 3/3 und E 4/4) und drei heterozygote (E 3/4, E 2/4 und E 2/3) Genotypen unterscheiden. Die molekulare Basis dieses Polymorphismus bildet ein Cystein-Arginin Austausch an Position 112 bzw. 158 [Weisgraber, Rall & Mahley, 1981]. In einer Population von Gesunden ist Apo E 3 mit 77% die häufigste Form. Verglichen mit dem Apo E 3 sind Cholesterin- sowie Apo B-Konzentration im Serum bei Vorliegen von Apo E 4 erhöht, während sie bei Vorliegen von Apo E 2 erniedrigt sind. Diese Tatsache ist auf unterschiedliche Affinitäten der verschiedenen Apo E-Isoformen zum LDL-Rezeptor zurückzuführen. Die Triglyzeridkonzentration kann bei Apo E 2 erhöht sein. Es konnte gezeigt werden, dass eine Korrelation zwischen der Apo E-Isoform und dem Risiko, eine kardiovaskuläre Krankheit zu entwickeln, besteht. Homozygotie für Apo E 2 ist die Grundlage für die Typ III HLP [Gregg & Brewer, 1988; Davignon, Gregg & Sing, 1988]. Beim E 4-Genotyp ist das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen erhöht. Im weiteren konnte gezeigt werden, dass Apo E 4 eine wichtige Rolle bei der Entstehung Alzheimer-Krankheit (AD) zukommt [Poirier, Davignon, Bouthillier et al., 1993]. Bei Patienten mit AD wurde für das Apo E 4-Allel eine Prävalenz von 46.2 % gefunden.

II.2 Lipoproteine

Chylomikronen

Die Nahrungstriglyzeride werden im Darm mit Gallensäuren emulgiert und durch die Pankreaslipase hydrolysiert, wobei Mizellen gebildet werden. Die aufgenommenen Einzelbestandteile Cholesterin und Retinol werden in Enterozyten, unter Hinzufügung einer Fettsäure, zu Cholesterinestern bzw. Retinolestern verestert. Langkettige Fettsäuren (> 12 C-Atome) werden in Triglyceride eingebaut und mit Apo B 48, Cholesterinestern, Retinylestern, Phospholipiden und Cholesterin zu Chylomikronen zusammengefügt. Diese bestehen primär aus Triglyzeriden (85-90%), sowie Phospholipiden, Cholesterin und Proteinen. Der Apoproteinanteil der Chylomikronen setzt sich aus dem für die Partikel existenziell notwendigen Strukturprotein Apo B 48, sowie Apo A I, Apo A IV zusammen. Chylomikronen dienen dem Transport von Nahrungslipiden aus dem Darm zur Leber. Nach der Chylomikronensynthese in der Darmmukosa nimmt das mit den Nahrungsfetten beladene Lipoprotein seinen Weg über die Darmlymphe und den Ductus thoracicus unter Umgehung der Leber in das venöse Blut. Erst nach ihrer Sekretion nehmen sie Apo C und ApoE aus den HDL auf. Unter Einwirkung des endothelständigen Enzyms Lipoproteinlipase (LPL), welches Apo C II als Kofaktor für diesen Prozess benötigt, werden die Triglyzeride hydrolysiert und

die dabei entstehenden freien Fettsäuren werden als Energieträger in die Zellen aufgenommen. Während der Lipolyse nehmen die Chylomikronen Apo E aus den HDL auf und geben Phospholipide und Apolipoproteine (A I, A IV und C) an die HDL ab. Dabei verlieren die Lipoproteinpartikel deutlich an Größe. Produkt dieser Umbauprozesse sind die sog. Chylomikronen-Remnants, die relativ reich an Cholesterinestern und Apo E sind. Es wird postuliert, dass nach der Lipolyse die LPL an diese Chylomikronen-Remnants gebunden bleiben und in die Hepatozyten über Vermittlung durch Apo E und LPL an einen spezifischen Rezeptor LRP aufgenommen werden [Beisiegel, Weber, Ihrke et al.1989; Beisiegel, Weber Bengtsson-Olivecrona 1991; Peterson, Bihain, Bengtsson-Olivecrona et al., 1990; Vance & Vance, 1991].

VLDL

Very Low Density Lipoproteine (VLDL) sind Lipoproteine sehr niedriger Dichte (0,94-1,006). Die VLDL sind triglyzeridreich, enthalten Phospholipide, freies Cholesterin und neben geringen Mengen an Apo E und Apo C je ein Molekül Apo B 100. Die VLDL werden in der Leber aus endogenen Triglyzeriden synthetisiert und über die Zirkulation zu Muskel- und Fettgewebe transportiert. Auf dem Weg in die peripheren Gewebe nehmen sie weitere Moleküle Apo E und Apo C auf. Der Abbau der VLDL erfolgt mit der endothelständigen Lipoproteinlipase. Apo C II aktiviert die LPL, welche circa 90 % der Triglyzeride in den VLDL hydrolysiert. Auf ihrem Weg durch den Organismus erhöht sich durch fortlaufende Abspaltung von Triglyzeriden auch Cholesterinanteil. Es entstehen cholesterinreiche VLDL und IDL.

IDL

Lipoproteine mit intermediärer Dichte werden als IDL bezeichnet. Sie entstehen durch intravasale Lipolyse von Chylomikronen-Remanants und VLDL. Sie enthalten variable Mengen an Apo E, das für ihren Katabolismus in der Leber verantwortlich ist. Ihr Gehalt an Apo B 100 entspricht dem der VLDL, während die Triglyzeride durch Lipolyse weitgehend verlorengegangen sind. Dafür sind sie mit Cholesterinestern angereichert. IDL werden als potenziell atherogen eingestuft und ihr vermehrtes Auftreten konnte bei Patienten mit vorzeitiger koronarer Herzerkrankung nachgewiesen werden [Simons, Dwyer, Simons et al., 1987].

LDL

Die Low Density Lipoproteine (LDL) haben eine Dichte von 1.006 bis 1.063 und einen Durchmesser von 22 nm. Die LDL entstehen unter Mitwirkung der Lipoproteinlipase aus VLDL (über IDL). In der hydrophilen Hülle der LDL liegt neben Phospholipiden und unverestertem Cholesterin ein Apo B 100-Molekül vor. In den LDL werden circa 70% des gesamten Plasmacholesterins befördert. In Form von LDL erfolgt der Transport von Cholesterin zu den peripheren Geweben. Dort wird es von den Zellen aufgenommen und für den Aufbau von Zellmembranen, die Synthese von Steroidhormonen und weitere Stoffwechselprozesse verwendet. Die Regulation der LDL-Aufnahme erfolgt über den LDL-Rezeptor. Apo B 100 ist der Ligand für den LDL-Rezeptor. Ein angeborener LDL-Rezeptorenmangel führt zu extrem hohen Cholesterinwerten im Serum (homozygot > 500 mg/dl, heterozygot meist > 300 mg/dl) und hoher Sterblichkeit an atherosklerotischen Gefäßkrankheiten (z.B. Myokardinfarkt) bereits in jugendlichem Alter [Goldstein & Brown, 2001]. Unabhängig von LDL-Rezeptoren können LDL über sogenannte Scavenger-Rezeptoren in Makrophagen aufgenommen werden.

Bei verschiedenen Erkrankungen (z.B. Diabetes mellitus) kann das LDL-Cholesterin trotz gleicher Serumspiegel stärker atherogen wirken als in einer Normalpopulation. Die Ursache liegt in der unterschiedlichen Zusammensetzung der LDL-Subfraktionen, die per Ultrazentrifugation ermittelt werden können. Die einzelnen LDL-Subfraktionen (Partikelgröße: LDL1 > LDL2 > LDL3) werden hierbei in Abhängigkeit von der LDL-Partikelgröße isoliert. Bei Typ-II-Diabetikern z.B. dominieren im Gegensatz zu den Nichtdiabetikern die kleinen dichten LDL3-Partikel („small dense LDL“). Diese Subfraktion der kleinen dichten LDL-Partikel ist besonders atherogen, weil sie anfälliger für oxidative Veränderungen ist. Kleine dichte Partikel haben zudem eine geringere Affinität zum LDL-Rezeptor und werden deshalb langsamer metabolisiert. Ihr Vorkommen spricht prognostisch für eine erhöhte Inzidenz kardiovaskulärer Komplikationen. Als besonders atherogen gelten die oxidativ modifizierten LDL („ox-LDL“). Sie entstehen wenn LDL in den Extrazellularraum der Intima sequestriert werden, wo sie dann für eine oxidative Modifikation sehr anfällig sind. Ox-LDL sind keine homogene Einheit, sondern bestehen aus unterschiedlich modifizierten Formen. Die oxidative Veränderung kann den Lipidanteil genauso wie den Proteinanteil betreffen. Die Modifikation des Lipidanteils kann die Ausbildung von Hydroperoxiden, Lysophospholipiden, Oxysterolen und Aldehydabbauprodukten von Fettsäuren beinhalten, während die Modifikation des

Apoproteinanteils einen Bruch des Eiweißgerüsts beinhalten oder in einer Veränderung von verschiedenen Aminosäureresten bestehen kann. Eine Modifikation kann durch die lokale hypochlore Säureproduktion durch Entzündungszellen innerhalb des Plaques ausgelöst werden, wodurch der Anteil an chlorierten Bestandteilen wie Chlorotryrosol erhöht wird.

Lipoprotein(a)

Lipoprotein(a) (Lp(a)) unterscheidet sich vom LDL nur durch das Lp(a)-spezifische Glykoprotein Apolipoprotein(a). Dessen Anwesenheit erklärt die vom LDL abweichenden physikochemischen Eigenschaften und ist für die Heterogenität des Lipoproteins verantwortlich. Über den Stoffwechsel des Lp(a) ist bis auf den Hauptsynthesort Leber kaum etwas bekannt. Abbauweg und physiologische Funktion sind bis heute nicht vollständig aufgeklärt. Im Weiteren wird noch näher auf Lp(a) eingegangen.

HDL

Die High Density Lipoproteine (HDL) sind Lipoproteine hoher Dichte. Die HDL, die durch ihren hohen Proteinanteil (v.a. Apolipoprotein A I, A II und E) gekennzeichnet sind, entstehen in Leber und Darmepithel und reifen im Blut durch Aufnahme von Lipiden und Apoproteinen zu sphärischen Molekülen, die sich durch Dichte und Proteinkomponenten in HDL 2a, HDL 2b und HDL 3 unterscheiden. Höhere HDL-Werte scheinen mit verringertem Risiko arteriosklerotischer Gefäßerkrankungen einherzugehen, während ein erhöhtes Konzentrationsverhältnis LDL/HDL (sog. Atherosklerose-Index) bzw. Apo B/Apo A I dieses Risiko erhöht. In der Framingham-Studie [Wilson, Castelli & Kannel 1987] und in der PROCAM-Studie [Assmann & Schulte, 1992] zeigte sich sowohl bei Männern als auch Frauen eine hochsignifikante inverse Beziehung zwischen der HDL-Cholesterinkonzentration im Blut und dem Auftreten der koronaren Herzkrankheit (KHK). Der günstige Effekt des HDL-Cholesterins ließ sich bis ins 80. Lebensjahr nachweisen. Der atherosklerosefördernde Effekt von LDL-Cholesterin kann durch hohe Konzentrationen an HDL-Cholesterin abgeschwächt werden. Sowohl die Unterfraktion HDL2 als auch HDL3 scheinen invers mit der Häufigkeit an koronarer Herzkrankheit verknüpft zu sein [Stampfer, Sacks, Salvini et al., 1991]. Das Risiko kann durch die Verwendung des LDL-/ HDL-Cholesterinquotienten oder auch des Cholesterin/HDL-Cholesterinquotienten abgeschätzt werden.