

Aus der Klinik und Poliklinik für Innere Medizin  
Kernklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf  
Direktor: Professor Dr. med. H. Greten

Diagnostischer Nutzen der Kombination eines oralen  
Glukosetoleranztests (OGTT) und der Dichtegradientenzentrifugation  
bei Patienten mit Hyperlipoproteinämien und Diabetes mellitus Typ 2

**Dissertation**

zur

Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin

Aus dem Fachbereich Medizin der Universität Hamburg  
vorgelegt von

Carsten Wienbeck aus Hamburg

Hamburg, November 2001

## Inhaltsverzeichnis

<b>I.</b>	<b>Einleitung</b>	Seite 7
1.	Lipoproteine	Seite 9
1.1.	Lipoproteinstoffwechsel: Exogener Weg	Seite 10
1.2.	Lipoproteinstoffwechsel: Endogener Weg	Seite 12
2.	Glukosestoffwechsel	Seite 13
2.1.	Diabetes mellitus Typ 2	Seite 14
2.1.1	Lipoproteinstoffwechsel bei Diabetes mellitus Typ 2 und gestörter Glukosetoleranz	Seite 15
2.1.2.	Interaktionen von Lipoproteinen mit zellulären Rezeptoren bei Diabetes mellitus	Seite 16
2.1.3.	Diabetes mellitus Typ 2 und Arteriosklerose	Seite 17
2.2. .	Diabetes mellitus Typ 1	Seite 20
2.2.1.	Lipoproteinstoffwechsel bei Diabetes mellitus Typ 1	Seite 20
2.2.2.	Diabetes mellitus Typ 1 und Arteriosklerose	Seite 21
3.	Apolipoprotein E	Seite 21
3.1.	ApoE-Synthese und Struktur	Seite 22
3.2.	ApoE- Funktion	Seite 23
4.	Ziele der Arbeit	Seite 25

## **II Material und Methoden**

1.	Patienten- und Kontrollkollektiv	Seite 27
1.1.	Einteilung der Patienten	Seite 27
1.2.	Einschlußkriterien	Seite 29
1.3.	Untersuchungsprotokoll	Seite 29
2.	Methoden	
2.1.	Oraler Glukose Toleranztest, OGTT	Seite 30
2.2.	Dichtegradientenzentrifugation	Seite 32
2.3.	Auftrennung des Dichtegradienten	Seite 33
2.4.	Analyse der Lipoproteine Triglyceride und Cholesterinbestimmung	Seite 33
2.5.	ApoE-Elisa	Seite 34
2.6.	Statistische Auswertung	Seite 35
2.7.	Materialien	Seite 36

## **III Ergebnisse**

1.	Gesamtkollektiv	
1.1.	Charakterisierung des Gesamtkollektivs	Seite 38
1.2.	Fett- und Glukosestoffwechsel	Seite 49
2.	Hyperlipoproteinämiegruppen (Gruppen A-D)	Seite 40
2.1.	Basischarakterisierung	Seite 40

2.2.	Vorerkrankungen	Seite 40
2.3.	Fett- und Glukosestoffwechsel in den HLP-Gruppen (Gruppen A-D)	Seite 42
2.4.	OGTT	Seite 43
2.5.	Dichtegradienten	Seite 44
2.5.1.	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen der Dichtegradienten	Seite 46
2.5.2.	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen der Lipoproteinklassen	Seite 47
2.6.	ApoE-Masse	Seite 51
3.	Diabetes mellitus Gruppen (Gruppen E-F)	Seite 52
3.1..	Basischarakterisierung	Seite 53
3.2.	Vorerkrankungen	Seite 53
3.3.	Fett- und Glukosestoffwechsel in den DM-Gruppen (Gruppen E-F)	Seite 54
3.4.	Dichtegradienten	Seite 55
3.4.1	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen der Dichtegradienten	Seite 55
3.4.2	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen der Lipoproteinklassen	Seite 55
3.4.3.	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen 10-19 (LDL-Bereich) von Gruppe A (gem. HLP) und Gruppe C (HLP), nach OGTT getrennt	Seite 57

3.5.	ApoE-Masse	Seite 59
3.6.	ApoE/Chol- und TG-Quotient	Seite 60
4.	ApoE-Genotyp-Gruppen	Seite 62
4.1	Basischarakterisierung	Seite 62
4.2.	Vorerkrankungen	Seite 63
4.3.	Fett und Glukosestoffwechsel in den ApoE-Gruppen (Gruppe G-I)	Seite 64
4.4.	OGTT	Seite 65
4.5.	Dichtegradienten	Seite 65
4.5.1.	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen der Dichtegradienten	Seite 65
4.5.2.	Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen der Lipoproteinklassen	Seite 65
4.6.	ApoE-Masse	Seite 66
<b>IV.</b>	<b>Diskussion</b>	
1.	Diabetes mellitus, Bedeutung der frühen Diagnostik	Seite 67
2.	Metabolisches Syndrom -	Seite 69
3.	Die Bedeutung der Dichtegradientenzentrifugation für den Nachweis spezif. Veränderungen der Lipoproteine	Seite 72
4.	Liefert die Kombination eines OGTT und der Dichtegradientenzentrifugation zusätzliche Informationen ?	Seite 75
5.	Welche Rolle spielt Apolipoprotein E ?	Seite 76

6.	Schlußfolgerung	Seite 77
<b>V.</b>	<b>Zusammenfassung</b>	Seite 78
<b>VI.</b>	<b>Abkürzungen</b>	Seite 80
<b>VII.</b>	<b>Referenzen</b>	Seite 82
<b>VIII.</b>	<b>Anhang</b>	Seite 97
<b>IX.</b>	<b>Danksagung</b>	Seite 107
<b>X.</b>	<b>Lebenslauf</b>	Seite 108
<b>XI.</b>	<b>Erklärung</b>	Seite 109

## I. EINLEITUNG

Die Arteriosklerose ist mit ihren Spätfolgen, wie Myokard- und Zerebralinfarkt, die führende Todesursache in den westlichen Ländern, weltweit gesehen die zweithäufigste Todesursache mit steigender Tendenz (Murray et al. 1996).

Die Pathogenese von kardiovaskulären Erkrankungen ist multifaktoriell und beinhaltet sowohl genetisch bedingte endogene Faktoren als auch umweltbedingte exogene Faktoren. Bestimmte Formen der Dyslipoproteinämie, die Hypertonie, der Nikotinabusus und der Diabetes mellitus sind die unabhängigen Hauptrisikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen. Bei einem Zusammentreffen mehrerer Risikofaktoren steigt das kardiovaskuläre Risiko nicht additiv, sondern wird potenziert. Aus epidemiologischer Sicht sind Adipositas, Dyslipoproteinämien und Hypertonie in ihrer Gesamtheit häufig mit Diabetes Typ 2 assoziiert. So läßt sich bei behandelten Diabetikern über 30 Jahren in 40-90% eine Erhöhung der Triglyceride und/oder des Cholesterins über die von der Europäischen Arteriosklerosegesellschaft empfohlenen Zielwerte nachweisen (Assmann et al. 1989; Harris 1991). Darüber hinaus wurde in der Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT) gezeigt, daß, bezogen auf das gleiche Risikofaktorenniveau, Diabetiker eine mindestens dreifach erhöhte Mortalität an koronaren Herzkrankheiten gegenüber Nichtdiabetikern aufweisen (Standl et al. 1985). Die Mortalität durch kardiovaskuläre Erkrankungen hat nach Gu et al in den letzten 30 Jahren in den USA zwar abgenommen, bei Diabetikern kam es jedoch zu einer deutlich geringeren Abnahme der Sterblichkeitsrate durch kardiovaskuläre Erkrankungen (Gu et al. 1999).

Der Diabetes Typ 2 manifestiert sich oft schleichend und unbemerkt, so daß bei Diagnosestellung viele Diabetiker häufig bereits eine hohe Rate von

Komplikationen aufweisen und eine Arteriosklerose schon besteht. Deshalb hat die WHO 1998 in einem vorläufigen Report neue Diagnosekriterien für Diabetes mellitus empfohlen. Sie empfiehlt, die Nüchtern glukose, die die Diagnose Diabetes mellitus erbringt, auf 126 mg/dl zu senken und die Kriterien für IGT (impaired glucosetolerance) auf eine Nüchtern glukose >126 mg/dl und 2-Stunden-Glukose von >140 mg/dl und <200mg/dl zu ändern. Außerdem schlug die WHO vor, die von der American Diabetes Association (ADA) 1997 entwickelten IFG-Kriterien (impaired fasting glucose) als neue Kategorie aufzunehmen (Alberti et al. 1998). Die IFG-Kriterien der ADA sind durch Nüchtern glukosewerte >110mg/dl und <126 mg/dl definiert. Die ADA wollte damit eine Kategorie analog zu den IGT-Kriterien, basierend auf dem 2-Stunden oralen Glukosetoleranz-Ergebnis der WHO von 1985, beschreiben. Die ADA empfahl weiterhin einen Nüchtern glukosespiegel von >126 mg/dl für die Diagnose des Diabetes mellitus und hielt den OGTT nur im Rahmen von epidemiologischen Studien für angebracht. (Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus 1997). Mehrere Studien haben die unterschiedlichen Diagnosekriterien der ADA und der WHO verglichen und zeigen, daß die WHO-Kriterien von 1998 mit Hilfe des OGTT zusätzliche Informationen für die Klassifikation mehrerer Kategorien von Glukoseintoleranz erbringen. Diese werden nicht mit den ADA-Kriterien von 1997 erfaßt (Metcalf et al. 2000). Der orale Glukosetoleranztest kann daher als diagnostisches Instrument zur Früherkennung des Diabetes mellitus Typ 2, bei Blutglukosewerten im Verdachtsbereich sowie bei anderen Verdachtsmomenten als indiziert angesehen werden.

Die charakteristischen Fettstoffwechselstörungen bei Diabetes mellitus Typ 2 sind zusammengefaßt Hypertriglyceridämie, Triglycerid-angereicherte erniedrigte HDL-Cholesterinspiegel und Cholesterin-angereicherte LDL-Partikel. Deswegen soll mit der Dichtegradientenzentrifugation untersucht

werden, ob es möglich ist, spezifische Veränderungen der Dichtegradienten bei Diabetikern zu erkennen. Weiterhin soll mit Hilfe des Dichtegradienten die ApoE-Massenverteilung in den verschiedenen Lipoproteinklassen bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz und bei Patienten mit Diabetes mellitus im Vergleich zu den im Glukosestoffwechsel gesunden Patienten mit einem ApoE-Elisa untersucht werden. Dabei soll geklärt werden, ob Diabetiker oder Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz andere ApoE-Massenverteilungen in den Lipoproteinklassen aufweisen als Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz.

Ziel der Arbeit ist es, den diagnostischen Nutzen des oralen Glukosetoleranztests in Verbindung mit der Dichtegradientenzentrifugation bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie und Verdacht auf Diabetes mellitus zu analysieren.

## 1. Lipoproteine

Mit Lipiden bezeichnet man eine heterogene Gruppe von Substanzen: freie Fettsäuren, Triglyceride, Phospholipide, Steroide und die fettlöslichen Vitamine. Für den menschlichen Körper sind Lipide von essentieller Bedeutung. Freie Fettsäuren und Triglyceride dienen als Energielieferanten, bzw als Bausteine zusammengesetzter Lipide. Cholesterin ist Ausgangssubstanz für die Steroid- und die Gallensäuresynthese und ist, wie die Phospholipide auch, Baustein von Zellmembranen. Da in den Lipiden die hydrophoben Eigenschaften überwiegen, werden die Lipide im wässrigen Medium Blutplasma in Form der Lipoproteine mit Apoproteinen transportiert. Alle Lipoproteine haben prinzipiell einen vergleichbaren Aufbau. In ihrem Kern enthalten sie die hydrophoben Triglyceride und Cholesterinester. Die hydrophile Hülle besteht aus Phospholipiden, unverestertem Cholesterin und

den Apoproteinen. Synthese und Abbau der Lipoproteine werden vor allen Dingen durch deren Proteinkomponente, die Apoproteine vermittelt. Aufgrund der unterschiedlichen Apoproteinanteile und deren unterschiedlicher Nettoladung können die Lipoproteine in der Elektrophorese aufgetrennt und charakterisiert werden. Da sich die Lipoproteine zusätzlich durch ihre Größe und ihre Dichte unterscheiden, können die Lipoproteine nach Gofman et al mit Hilfe der Ultrazentrifugation getrennt werden (Gofman 1954).

Tabelle 1 gibt einen Überblick über die Charakteristika der Lipoproteine.

### 1.1.Lipoproteinstoffwechsel, exogener Weg

Als exogener Lipidstoffwechselweg wird die Aufnahme der Nahrungslipide aus dem Darm in den Blutkreislauf und deren Transport zu den Zielorganen bezeichnet. Der größte Anteil der Nahrungslipide besteht aus Triglyceriden. Die Verdauung der Lipide beginnt bereits im Mund und Magen in Form einer Triglyceridhydrolyse durch ortsständige Lipasen (Hamosh et al. 1975). Im Dünndarm werden die Triglyceride weiter durch die Pankreaslipase gespalten und durch Gallensäuren emulgiert. Nach der Resorption werden die freien Fettsäuren in der Darmmukosa wieder zu Triglyceriden zusammengebaut und an die Apoproteine B-48,AII und AIV gebunden. Die so entstandenen Chylomikronen gelangen über die Lymphe und den Ductus thoracicus, also unter Umgehung der Leber, in das Blutplasma. In der Blutbahn nehmen die Chylomikronen weitere Apolipoproteine der C-Gruppe (ApoC-I,C-II und C-III) aus der HDL auf. Apo C-II dient als Cofaktor der endothelialen Lipoproteinlipase (LPL)(Huff et al. 1990), welche den Triglyceridanteil der

Chylomikronen in freie Fettsäuren und Glycerin spaltet (Olivecrona u. Beisiegel 1997).

**Tab.1** Charakteristika der Lipoproteine

	Chylomikronen	VLDL	IDL	LDL	HDL
<b>Herkunft</b>	Darm	Leber	VLDL	IDL	Darm/Leber
<b>Größe (nm)</b>	<10 <sup>4</sup>	30-80	25-35	18-25	5-12
<b>Dichte (kg/l)</b>	<1,000	<1,006	1,006-1,019	1,019-1,063	1,063-1,21
<b>Elektrophor. Mobilität</b>	keine	Prä-beta	Prä-beta/beta	beta	alpha
<b>Zusammensetzung (%)</b>					
<b>Triglyceride</b>	86	55	23	8	3
<b>Cholesterinester</b>	3	12	19	42	14
<b>Cholesterin</b>	2	7	9	8	4
<b>Phospholipide</b>	7	18	19	22	34
<b>Protein</b>	1-2	6-10	11	21	45-55
<b>Apoproteine</b>	A-I,II,B-48, E,C-I,II,III	B-100,E, C-I,II,III	B-100, E,C-I,II,III	B-100	A-I,II,IV, E,C-I,II,III

Physikalische Merkmale, Lipid und Proteinzusammensetzung der Lipoproteine, Elektrophoretische Mobilität bezeichnet die Auftrennung in einem Agarosegel.(Havel 1955 )(Gotto et al. 1986)

Die Fettsäuren und das Glycerin werden in das Fettgewebe und in die Muskulatur aufgenommen. Während der Lipolyse werden die Apoproteine A-I und A-IV und C abgegeben und gegen Cholesterinester und Apo E der HDL ausgetauscht. Es entstehen die Chylomikronen-Remnants, die an Masse verloren haben und sowohl an spezifischen ApoE-Rezeptoren als auch an

LDL-Rezeptoren der Hepatozyten gebunden werden können (Havel et al. 1973; Beisiegel et al. 1994).

## 1.2. Lipoproteinstoffwechsel, endogener Weg

Im Hungerzustand kann die Leber endogen aus Triglyceriden, Cholesterin, Phospholipiden, den Lipoproteinen ApoB 100, ApoE und Apo C VLDL herstellen. Diese VLDL werden sezerniert und versorgen so die peripheren Gewebe mit Energieträgern und mit Cholesterin.

In den Geweben der Peripherie werden die Triglyceride durch die Lipoproteinlipase hydrolysiert. Es entstehen VLDL-Remnants, die durch den Verlust der Triglyceride relativ kleiner, dichter und cholesterinreicher werden. Während der Hydrolyse nehmen die VLDL weitere Moleküle Apo E und Apo C von der HDL auf, gleichzeitig geben sie Phospholipide und Cholesterinester an die HDL ab. Apo C-III hemmt die vorzeitige Aufnahme der Lipoproteine in die Leber (Windler et al. 1985), und das Apo C-II dient als Cofaktor der LPL (Weisgraber et al. 1990).

Das Cholesterin der HDL wird durch die Lecithin-Cholesterol Acyltransferase (LCAT) verestert und danach über das Cholesterol-Ester-Transferprotein (CETP) zurück auf die VLDL übertragen (Kunitake et al. 1992).

Die VLDL werden so cholesterinesterreicher und werden nun IDL genannt.

Entweder werden diese über LDL-Rezeptoren in die Leber aufgenommen, oder sie werden weiter zu LDL hydrolysiert, welche neben den Cholesterinestern auch noch Apo B-100, aber kein ApoE und kein Apo C mehr enthalten. Diese LDL können die Endothelwand passieren und versorgen die extrahepatischen Gewebe mit Cholesterin, das zur Synthese von Steroidhormonen, Gallensäuren, Vitamin D und Membranen benutzt wird. Diesen Weg geht beim Stoffwechselgesunden etwa zwei Drittel der LDL. Die

verbleibenden LDL werden unabhängig vom LDL-Rezeptor über den sogenannten „Scavenger pathway“ aus dem Blutkreislauf eliminiert.

Die Scavenger-Rezeptoren werden von Makrophagen und anderen Zellen des Retikulären Histiocytären Systems (RHS) exprimiert. Sie erkennen durch Oxidation oder Acetylierung spezifisch modifizierte LDL und nehmen diese auf. Dadurch können diese Makrophagen zu Schaumzellen („foam cells“) werden. Schaumzellen spielen eine wichtige Rolle bei der Genese arteriosklerotischer Plaques (Goldstein et al. 1977; Brown et al. 1983). Im Gegensatz zum LDL-R unterliegen die Scavenger-R nicht der Rückkopplung durch den zellulären Cholesteringehalt.

## 2. Glukosestoffwechsel

Die Glukoseregulation mit dem Ziel der Aufrechterhaltung einer konstanten arteriellen Blutglukosekonzentration innerhalb enger Grenzen (60-140 mg/dl) unter allen nur erdenklichen Lebensbedingungen wird durch ein fein abgestimmtes Hormonsystem gewährleistet. In diesem System spielen Insulin und Glukagon eine zentrale Rolle. Beide Hormone werden im Pankreas, Insulin in den  $\beta$ -Inselzellen und Glukagon in den A-Zellen der Langerhansschen Inseln produziert und hemmen sich gegenseitig. Insulin ist der wichtigste physiologische Glukagoninhibitor und Glukagon antagonisiert die Insulinwirkungen an der Leber. Durch ein feines Zusammenspiel der beiden Hormone gelingt es dem Körper normalerweise, den Blutzucker konstant zu halten. Bei Hypoglykämie kommt es zunächst zur Verminderung der Insulinsekretion, die Glukagonsekretion wird enthemmt und kann den Blutzucker erhöhen.

Erst bei Ausfall von Glukagon, z.B. bei Langzeit-Diabetes mellitus, kommt es zum Einsatz der nächsthöheren Stufe im hierarchisch strukturierten

Glukosehomöostase-Regulationssystems, der Aktivierung des Sympathischen Nervensystems mit der Sekretion von Adrenalin.

Wenn es zu einer Insulin-Defizienz als Folge einer nicht ausreichenden Sekretion des Hormons oder durch eine Verminderung der Wirksamkeit des verfügbaren Insulins kommt, führt dies zur Hyperglykämie und zum Diabetes mellitus. Unter Diabetes mellitus wird eine Gruppe von Krankheiten zusammengefaßt, die sich in Ätiologie, Pathogenese, klinischem Bild, Therapie und Komplikationen grundlegend unterscheiden.

## 2.1. Diabetes mellitus Typ 2

Zu dem Non-Insulin-dependent Diabetes mellitus, dem Typ 2, gehören etwa 90-95% aller Diabetiker. Er ist gekennzeichnet durch eine Störung des empfindlichen Gleichgewichts zwischen Insulinproduktion und Insulinwirkung (Alper 2000), Hyperinsulinismus und eine enge Korrelation zur Adipositas. Es existieren mindestens drei Defekte von wichtigen Schlüsselfunktionen der Glukosehomöostase. Es besteht eine veränderte, nicht normale Insulin-Sekretion auf den Stimulus Glukose. Die Fähigkeit von Insulin, die periphere Aufnahme von Glukose in die Gewebe zu stimulieren, ist reduziert, und es kommt zu einer gesteigerten und vermindert hemmbaren hepatischen Glukoseproduktion trotz bereits bestehender Hyperglykämie (Starke 1995). Hyperlipoproteinämien und Dyslipoproteinämien sind neben Adipositas und Hypertonie die häufigsten Begleiterkrankungen des Diabetes mellitus.

### 2.1.1. Lipoproteinstoffwechsel bei Typ-2-Diabetes und gestörter Glukosetoleranz

Charakteristische Fettstoffwechselstörungen bei NIDDM sind eine Erhöhung der Triglyceride und eine Erniedrigung des HDL-Cholesterins neben normalen bzw. gering erhöhten LDL-Cholesterinspiegeln (Laakso et al. 1990). Die erhöhten Triglyceridspiegel gehen vor allem auf einen Anstieg der VLDL-Konzentrationen zurück, dafür ist der Hyperinsulinismus eine zentrale Determinante. Aufgrund der fehlenden Insulinwirkung in der Peripherie sind die Serumspiegel der freien Fettsäuren erhöht und tragen zusammen mit erhöhten Konzentrationen von Insulin und Glukose im Portalkreislauf zu einer Stimulation der hepatischen VLDL-Synthese und -Sekretion bei. Gleichzeitig ist die Aktivität der Lipoproteinlipase herabgesetzt, es herrscht ein intrazellulärer Insulinmangel. Dadurch ist der Katabolismus der triglyceridreichen Lipoproteine, der Chylomikronen und VLDL verzögert (Kimmerle et al. 1995). Die erhöhte VLDL-Sekretion in Kombination mit einem reduzierten Abbau kann auch die niedrigen HDL-Cholesterinspiegel bei NIDDM bedingen. Es kommt zu einem vermehrten Austausch von Triglyceriden und Cholesterinestern in den HDL. Dies führt nach Hydrolyse der Triglyceride zu triglyceridreichen und kleineren HDL. Die veränderte Formation der HDL scheint die Bindungsfähigkeit des wichtigsten Apoproteins der HDL, das Apo AI, zu beeinflussen. Die HDL verliert dieses Strukturprotein (Ginsberg 1996). Gleichzeitig ist die Aktivität der hepatischen Lipase verstärkt und der HDL-Katabolismus gesteigert (Kostner et al. 1988). Die LDL haben in Abhängigkeit von der Qualität der Diabeteseinstellung und dem aktuellen Triglyceridspiegel einen höheren Triglycerid- und Cholesterinanteil. Diese Veränderung der Zusammensetzung der LDL verschlechtert die LDL-Rezeptorbindungsfähigkeit (Hiramatsu et al. 1985), zusätzlich werden bei langfristig schlechter Glukosestoffwechseleinstellung

ca 2-10% der LDL nichtenzymatisch mit Glukose verbunden. Dies kann den LDL-Abbau um 5-25% verlängern (Steinbrecher et al. 1984). Die Tatsache, daß bei Typ-2-Diabetikern trotz Hyperglykämie meist normale bzw. gering erhöhte LDL-Spiegel vorliegen, kann damit erklärt werden, daß es zu einer Verringerung der Konversion von VLDL-Partikeln in LDL kommt, da ein größerer Anteil der VLDL unmittelbar von den Makrophagen und der Leber aufgenommen und katabolisiert wird. Klinisch kann dies die häufige steatosis hepatis erklären (Kimmerle et al. 1995).

### 2.1.2. Interaktionen von Lipoproteinen mit zellulären Rezeptoren bei Diabetes mellitus

Die VLDL sind bei Patienten mit Typ-2-Diabetes mellitus und bei Patienten mit Typ-1-Diabetes Mellitus, die an einer manifesten diabetischen Nephropathie leiden, in ihrer Zusammensetzung erheblich verändert. Der Anteil großer triglyceridreicher VLDL-Partikel ist erhöht. Diese abnorme VLDL-Zusammensetzung wird selbst bei normoglykämischer Stoffwechsellage nicht ganz ausgeglichen. Die Folge davon ist eine erhöhte Aufnahme dieser VLDL über den LDL-Rezeptor der Makrophagen (Eisenberg 1979; Packard et al. 1984). Es entstehen so die sogenannten Schaumzellen, die sich, wie oben bereits erwähnt, im Endothel einlagern und eine wichtige Rolle bei der Atherogenese spielen.

Auch die LDL sind in ihrer Zusammensetzung bei Diabetes mellitus Typ 2 und IGT in ihrer Zusammensetzung verändert. Sie sind bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 oder IGT kleiner und dichter, verglichen mit Gesunden (Barakat et al. 1990).

Es konnte auch nachgewiesen werden, daß glykosylierte LDL die Cholesterinsynthese in den Makrophagen stimuliert (Lyons et al. 1987). Die

Glykosilierung der interzellulären Matrix (Glykosaminoglykane, Kollagen) fördert die Ablagerung von ApoB-haltigen Lipoproteinen und kristallinem Cholesterin in den atherosklerotischen Plaques (Brownlee et al. 1985).

Bei Insulinmangel ist die Endothelzellreparation herabgesetzt, die Thrombozytenaggregation gesteigert und die LDL-Rezeptorexpression der Makrophagen vermindert (Kraemer 1986).

### 2.1.3. Diabetes mellitus Typ 2 und Arteriosklerose

Nach verschiedenen epidemiologischen Studien sind das Risiko und die Mortalität der koronaren Herzkrankheit bei Patienten mit Typ-2-Diabetes um das Zwei- bis Vierfache erhöht gegenüber Patienten ohne Diabetes mellitus (Keen et al. 1979; Steiner 1997).

Die United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS) und auch die Diabetes Control and Complication Study (DCCT) zeigen, daß eine verbesserte Glukosestoffwechseleinstellung nur geringe Auswirkungen auf Inzidenz und Mortalität der koronare Herzkrankheit hat (Anonymous 1995; Anonymous 1998). Es müssen also weitere Faktoren für die exzessive Mortalität durch die koronare Herzkrankheit bei Diabetikern verantwortlich sein. Wahrscheinlich spielen Dyslipoproteinämien, sowohl quantitative Veränderungen als auch qualitative Veränderungen, wie z.B. Änderungen der Dichte und der Größe der LDL (Gray et al. 1997; Lahdenpera et al. 1995), die Glykolisierung von Lipoproteinen (Lyons 1992; Austin 1994) und ihre Oxidation dabei eine wichtige Rolle (Kawamura et al. 1994; Grundy 1993). Andere Faktoren, die Atherosklerose bei Diabetikern fördern, sind Veränderungen der Gerinnungsfaktoren (Lyons et al. 1993; Kannel et al. 1990), nichtenzymatische Glykolisierung von Gewebsproteinen und Lipoproteinen (Lyons et al. 1993), Hypertonie (Hsueh et al. 1993; Davis et al.

1996), Mikroalbuminurie und Proteinurie (Lanfredini et al. 1998) sowie Insulinresistenz (Katz et al. 1996).

Lange Zeit war es umstritten, inwieweit Triglyceride als unabhängiger Risikofaktor zu werten seien. Es wurde jedoch zunächst gezeigt, daß Personen mit angiographisch nachweisbaren Coronarstenosen nach einer Fettmahlzeit eine deutlich verlängerte Zunahme ihrer Plasmatriglyceridspiegel im Vergleich zu Patienten ohne solche Stenosen aufweisen. (Simpson et al. 1990; Patsch et al. 1992). Durch zahlreiche Studien sind Hypertriglyceridämien heute allgemein als unabhängiger Risikofaktor der Arterogenese anerkannt (Patsch et al. 1999; Austin 1991; Bainton et al. 1992; Hamsten et al. 1986; Simpson et al. 1990). In der postprandialen Phase, also nach Nahrungsaufnahme, ist der Triglyceridmetabolismus und der Lipidtransport im Plasma im Vergleich zur postabsorptiven Phase deutlich erhöht. Ein wichtiger Faktor für die Entstehung atherosklerotischer Läsionen ist das Eindringen von Plasmalipoproteinen in die Arterienwand. Dieser Einstrom ist abhängig unter anderem von der Plasmalipoproteinkonzentration, der Permeabilität der Arterienwand und dem Blutdruck. Eine entscheidende Determinante der arteriellen Permeabilität ist die Größe der Lipoproteine (Nordestgaard et al. 1994). Die Chylomikronen und die VLDL, die bis zu 80% der postprandialen Triglyceride enthalten können (Schneeman et al. 1993), sind zu groß, um die endotheliale Barriere zu überwinden (Nordestgaard et al. 1988). Deshalb vermutet man heute, daß den Remnants der Chylomikronen sowie der VLDL aufgrund ihrer kleinen Größe eine atherogene Bedeutung zukommt. (Havel 1994). Die genaue Pathophysiologie der postprandialen Hypertriglyceridämie und deren Bedeutung bei der Arterogenese ist jedoch noch nicht im Detail geklärt.

HDL kann mit Hilfe der Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) freies unverestertes Cholesterin binden und zur Leber transportieren. Die Cholesterinester können auch, katalysiert durch ein weiteres Enzym, das

Cholesterinester-Transfer-Protein (CETP), von HDL auf VLDL und LDL übertragen werden (Tall 1993). Es entsteht so ein Kreislauf, bei dem Cholesterin aus der Peripherie zur Leber und durch LDL in extrahepatische Zellen gelangt. Außerdem wurde der oben beschriebene „Scavenger-Rezeptor“ als ein HDL-Rezeptor vorgeschlagen (Acton et al. 1996). Das CETP katalysiert außerdem den Transfer von Triglyceriden der TRL (triglyceridreiche Lipoproteine) auf die LDL und HDL. Durch die Aktivität der CETP steigt somit der Cholesteringehalt der TRL, und das HDL sinkt. Die Anreicherung der Cholesterinester in den TRL im Plasma ist abhängig von der Konzentration und der Verweildauer der TRL im Plasma, jedoch unabhängig von der Konzentration des Cholesterin-Donors (Mann et al. 1991; Ebenbichler et al. 1995).

Insgesamt kann den HDL also eine gefäßprotektive Wirkung zugeschrieben werden (Miller 1989). In anderen Studien wurde dementsprechend gezeigt, daß die niedrigen HDL-Cholesterinspiegel bei Diabetes mellitus Typ 2 ein weiterer unabhängiger Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit sind (Laakso, Lehto et al. 1993).

Durch die Transferfunktion des CETP kann die gefäßprotektive Funktion der HDL im postprandialen Zustand um bis zu 10% sinken und so nicht mehr für den reversen Cholesterintransport zur Verfügung stehen (Patsch et al. 1984). Die Anreicherung der Cholesterinester in den TRL ist von entscheidender Bedeutung für die Atherogenität der TRL.

Zusammengefaßt sind die charakteristischen Fettstoffwechselstörungen bei Diabetes mellitus Typ 2 Hypertriglyceridämie, erniedrigte Triglycerid-angereicherte HDL-Cholesterinspiegel, Cholesterin-angereicherte LDL-Partikel (American Diabetes Association 1993) und hohe Plasmakonzentrationen von Apo B als weiterer Konstellation, der ein spezifisches artherogenes Risiko zugeschrieben wird (American Diabetes

Association 1989). Diese Faktoren können also zu einer Erklärung für die exzessive kardiovaskuläre Mortalität bei Patienten mit NIDDM beitragen.

## 2.2. Diabetes mellitus Typ 1

Der Typ-1-Diabetes mellitus ist als Insulinmangelsyndrom definiert, das aufgrund einer weitgehenden Zerstörung der insulinproduzierenden  $\beta$ -Zellen, der Langerhansschen Inselzellen des Pankreas auftritt (Kolb 1990). Die Ursache für die Inselzellzerstörung ist bis heute noch nicht bis in Detail geklärt. Fest steht aber, daß sich die Krankheit auf dem Boden einer genetischen Prädisposition im Zusammenwirken mit noch weitgehend unbekanntem Umweltfaktoren, z.B. Virusinfektionen, entwickelt. Der wichtigste Genort ist die HLA-D-Region, andere wichtige Genorte sind noch nicht identifiziert. Direkte Ursache des  $\beta$ -Zelluntergangs ist eine chronisch progressive Inselzellentzündung, die wahrscheinlich schon in der frühen Kindheit beginnt.

### 2.2.1. Lipoproteinstoffwechsel bei Typ-1-Diabetes

Lipidabnormalitäten kommen beim Typ-1-Diabetes nur bei ausgesprochen schlecht eingestellten Patienten vor. Bei schlecht eingestellten Typ-1-Diabetikern korrelieren die erhöhten HbA1C-Werte mit erhöhten Triglyceridspiegeln und erniedrigten HDL-Cholesterinspiegeln. Hierfür gelten die verstärkte Lipolyse und die verminderte LPL-Aktivität durch Insulinmangel und die dadurch verminderte VLDL-Clearance als Ursachen.

Bei nahezu normoglykämisch eingestellten Typ-1-Diabetikern sind die Triglyceridwerte niedriger und die HDL-Cholesterinspiegel höher als bei

Nichtdiabetikern. Dafür könnten die erhöhten Aktivitäten der LPL und die erniedrigte Aktivität der hepatischen Lipase bei peripherer Hyperinsulinämie aber fehlender Insulinresistenz verantwortlich sein. Kommt es allerdings im Rahmen der diabetischen Komplikationen zur diabetischen Nephropathie, führt dies zu massiven Störungen des Lipidstoffwechsels.

Beim neu manifestierten Diabetes mellitus kommt es durch das absolute Insulindefizit zum Aktivitätsverlust der Lipoproteinlipase und zum Anstieg der hepatischen Triglyceridlipase. Dadurch kommt es zu einem Anstieg der VLDL und Chylomikronen im Nüchternplasma, was sich bis zum Chylomikronämiesyndrom entwickeln kann.

### 2.2.2. Diabetes mellitus Typ 1 und Arteriosklerose

Typ-1-Diabetiker ohne Proteinurie haben ein nahezu normales kardiovaskuläres Risiko, wohingegen Typ 1 Diabetiker mit einer (Mikro-) Proteinurie bzw (Mikro-)Albuminurie erheblich gesteigertes kardiovaskuläres Risiko aufweisen (Borch-Johnsen et al. 1985). Der Herzinfarkt ist auch bei Typ-1-Diabetikern die häufigste Todesursache, Hypertonie, Albuminurie, erhöhtes LDL-Cholesterin und erniedrigtes HDL-Cholesterin sind hierfür die dominierenden Risikofaktoren (Krolewski et al. 1987).

## 3. Apolipoprotein E

Apolipoprotein E (ApoE) ist eines der 15 im Plasma zirkulierenden Apolipoproteine, deren grundsätzliche Aufgabe der Transport wasserunlöslicher Lipide im Körper ist.

### 3.1. ApoE- Synthese und Struktur

ApoE wird in vielen Organen synthetisiert, der Hauptsyntheseort ist die Leber (Li et al. 1988), signifikante Mengen konnten auch in Astrozyten des Gehirns (Boyles et al. 1985), in Makrophagen, in der Milz, der Lunge, der Nebenniere, der Niere, der Muskulatur und im Ovar nachgewiesen werden (Davignon u. Roederer 1988; Utermann et al. 1980).

Das Apoprotein E besteht aus 299 Aminosäuren (nach Abspaltung eines Signalpeptids aus 18 Aminosäuren ) und hat ein Molekulargewicht von 34145 Dalton (Mahley et al. 1989).

Das ApoE-Molekül hat die Form einer geordneten alpha-Helix, welche wiederum im wesentlichen aus zwei unterschiedlichen strukturellen Domänen besteht: einer aminoterminalen Domäne, welche die physikalischen Eigenschaften eines löslichen globulären Proteins hat, und einer carboxiterminalen Region, welche die Lipidbindung vermittelt (Wetterau et al. 1988).

Das ApoE-Gen ist auf Chromosom 19 in unmittelbarer Nähe zu den Genen, die für das ApoC-I und ApoC-II kodieren, lokalisiert (Lauer et al. 1988). Es besteht aus 4 Exons und 3 Introns und hat mehrere kodominante Allele, die in einem ApoE-Polymorphismus im Plasma resultieren. Dieser Polymorphismus wurde auf Proteinebene durch isoelektrische Fokussierung von Uterman et al entdeckt (Utermann et al. 1977) und später auf genetischer Ebene von Zannis bestätigt (Zannis et al. 1982). Es sind 3 Hauptisoformen von ApoE bekannt: ApoE-2, ApoE-3 und ApoE-4. Es lassen sich 3 homozygote (E-2/2, E-3/3, E-4/4) und drei heterozygote (E-2/3, E-2/4, E-3/4) Phänotypen unterscheiden (Utermann et al. 1977; Zannis et al. 1982).

Die drei Allele, die die ApoE-Isoformen kodieren, unterscheiden sich durch Punktmutationen an den Aminosäurepositionen 112 und 158, welche zu einem Aminosäureaustausch führen. ApoE-2 hat Cystein an beiden

Positionen (Cys112 und Cys 158 ), ApoE-3 hat Cystein an Position 112 und Arginin an Position 158 (Cys112, Arg 158) und ApoE-4 hat Arginin an beiden Positionen (Arg112, Arg158 ). Aufgrund der unterschiedlichen Nettoladungen wandern die Isoformen im elektrischen Feld verschieden weit. Dadurch konnte Uterman et al den ApoE Polymorphismus mit Hilfe der isoelektrischen Fokussierung analysieren.

Der Phänotyp ApoE 3/3 ist, entsprechend dem häufigsten Allel E-3, mit einer Frequenz von ca 60 % die am häufigsten auftretende Form. ApoE-3 gilt daher als Normalform, ApoE-2 und ApoE-4 als Varianten. ApoE 3/4 tritt mit einer Häufigkeit von ca 23 % und ApoE 2/3 mit ca 12 % auf. Der restliche Teil besteht aus den Allelen 2/2, 2/4 und 4/4 (Utermann et al. 1982).

### 3.2. ApoE-Funktion

Als Bestandteil von triglyceridreichen Chylomikronen und VLDL hat ApoE mehrere Funktionen im Stoffwechsel der Lipoproteine. Es vermittelt über Interaktionen mit den Chylomikronen-Remnant-Rezeptoren die Aufnahme von Chylomikronen-Remnants in die Leber. Für Chylomikronen Remnants wurde neben dem LDL-Rezeptor LRP als Rezeptor identifiziert. Das LRP internalisiert mit einer hohen Affinität ApoE-haltige Chylomikronen-Remnants und wird vorwiegend durch die Leber als zentrales Organ des Chylomikronenmetabolismus exprimiert (Beisiegel et al. 1989; Herz et al. 1991). Außerdem gilt ApoE als verantwortlicher Ligand für die rezeptorvermittelte Aufnahme von VLDL bzw. deren Remnants über den VLDL-Rezeptor, der überwiegend in Muskel- und Fettgewebe vorkommt (Takahashi et al. 1992). Die drei ApoE-Allele haben einen signifikanten Einfluß auf den Lipidmetabolismus bei gesunden Normalpersonen. Im

Vergleich mit ApoE-3 ist E-2 mit niedrigeren Cholesterin-, LDL-Cholesterin- und ApoB-Spiegeln und höheren Triglycerid- und ApoE-Spiegeln assoziiert.

ApoE ist für die Konversion von VLDL-Remnants zu LDL, die dann über den LDL-Rezeptor zurück zur Leber gelangen, verantwortlich. Bei einer ApoE-Defizienz oder bei mangelnden Rezeptorbindungseigenschaften, wie z.B. beim ApoE-2, kommt es zu einem verringerten Abbau von VLDL- und Chylomikronen-Remnantpartikeln. Daraus resultiert eine Zunahme der Plasmatriglyceridkonzentration, gleichzeitig werden dadurch weniger Remnants in LDL überführt. Der damit verbundene verminderte Transport von Cholesterin in die Leber führt zu einer Hochregulation von LDL-Rezeptoren, was ein weiteres Absinken der LDL-Konzentration nach sich zieht (Davignon u. Roederer 1988). ApoE-4 zeigt den umgekehrten Effekt mit einer Assoziation mit erhöhten Cholesterinspiegeln und erniedrigten ApoE-Spiegeln (Dallongeville et al. 1992; de Knijff et al. 1994). Durch sehr gute Rezeptorbindungseigenschaften des ApoE-4 wird der Abbau der VLDL- und Chylomikronen-Remnants gesteigert. Daraus resultiert eine Zunahme des Cholesterinangebots an die Leber und eine verminderte Expression hepatischer LDL-Rezeptoren. Das führt zu einer Zunahme des Plasmacholesterins. In verschiedenen Studien konnte Apo E-4 aufgrund der Assoziation mit erhöhten Cholesterinspiegeln als ein Risikofaktor für eine vorzeitige koronare Herzkrankheit identifiziert werden (Ehnholm et al. 1986; Tiret et al. 1994; Stengard et al. 1995).

Obwohl Typ-2-Diabetiker charakteristische Fettstoffwechselstörungen aufweisen, haben Typ-2-Diabetiker keine unterschiedlichen Allelfrequenzen im ApoE-Gen, was auf die Bedeutung anderer Pathomechanismen für die Manifestation einer Hyperlipidämie bei diesen Patienten hinweist (Inamdar et al. 2000). Ob es Unterschiede in der ApoE-Masse bzw. in der Verteilung auf die einzelnen Lipoproteinklassen zwischen Patienten mit pathologischer

Glukosetoleranz und Patienten, deren Glukosestoffwechsel ungestört ist, soll in dieser Arbeit untersucht werden.

Die erhöhte Glykolysierung von Plasmalipoproteinen bei Diabetikern mit Hyperglykämie könnte eine Ursache für die charakteristischen Fettstoffwechselstörungen und die beschleunigte Atherogenese sein. Diabetiker mit Hyperglykämie zeigen eine zwei- bis dreifach erhöhte ApoE-Glykolysierung, was die ApoE-Heparinbindungsaktivität signifikant reduziert und auch die Lipoproteinzellinteraktionen verschlechtern könnte (Shuvaev et al. 1999).

#### **4. Ziele der Arbeit**

Ein Ziel dieser Arbeit ist es, bei Patienten mit Hyperlipoproteinämien (HLP) die Bedeutung des oralen Glukosetoleranztests und der Dichtegradientenzentrifugation zu analysieren. Es soll geklärt werden, ob bestimmte Hyperlipoproteinämien das Auftreten von pathologischen Glukosetoleranzen wahrscheinlicher machen und ob diese Fettstoffwechselstörungen in den Dichtegradienten charakteristische Muster aufweisen. Darüber hinaus soll untersucht werden, ob sich die ApoE-Masse in den HLP-Gruppen unterschiedlich verteilt. Da Patienten mit Diabetes mellitus charakteristische Fettstoffwechselstörungen aufweisen, ist es ein weiteres Ziel der Arbeit, die Bedeutung der Kombination eines OGTT und der Dichtegradientenzentrifugation zu untersuchen. Dabei soll geklärt werden, ob Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz, also Diabetiker oder Patienten, die eine IGT (Impaired Glukosetoleranz) im OGTT aufweisen, charakteristische Muster im Dichtegradienten zeigen.

Um zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen ApoE-Modifikation und Diabetes mellitus besteht, soll weiterhin untersucht werden, ob sich die ApoE-Masse in den Glukosestoffwechselgruppen unterschiedlich verteilt.

Schließlich soll überprüft werden, ob die Ergebnisse des OGTT bei den ApoE-Genotypen unterschiedlich sind und ob die Dichtegradienten abhängig vom ApoE-Genotyp charakteristische Muster zeigen. Abschließend soll die ApoE-Massenverteilung in den ApoE-Genotypgruppen verglichen werden.

## **2. Material und Methoden**

### **1. Patienten- und Kontrollkollektiv**

Die in dieser Studie untersuchten Patientendaten entstammen der Medizinischen Poliklinik des Universitätskrankenhauses Eppendorf in Hamburg. Die Patienten befanden sich in ambulanter Behandlung in der Lipidambulanz. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer genehmigt.

Alle Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis zur Studienteilnahme auf dem dafür entworfenen Aufklärungsbogen.

#### **1.1. Einteilung der Patienten**

Insgesamt wurden 57 Patienten in die Studie eingeschlossen. Für die Auswertung wurden Untergruppen gebildet, die Störungen im Lipidstoffwechsel bzw. Störungen im Glukosestoffwechsel sowie den ApoE-Genotyp berücksichtigen. Die Untergruppen wurden wie folgt definiert:

##### 1. Hyperlipoproteinämiegruppen

**Gruppe A** besteht aus 39 Patienten mit gemischter HLP, definiert durch Triglyceridspiegel von  $>150$  mg/dl- und Cholesterinspiegel im Plasma von  $>220$  mg/dl,

**Gruppe B** besteht aus 7 Patienten mit Hypercholesterinämie, definiert durch Cholesterinspiegel von  $>220$  mg/dl und Triglyceridspiegel von  $<150$  mg/dl,

**Gruppe C** besteht aus 7 Patienten mit reiner Hypertriglyceridämie, definiert durch Triglyceridspiegel von >150 mg/dl und Cholesterinspiegel von < 220 mg/dl und

**Gruppe D** besteht aus 4 Patienten mit normolipämischen Blutfetten

## 2. Glukosestoffwechselgruppen

**Gruppe E** besteht aus 27 Patienten mit physiologischem OGTT,

**Gruppe F1** besteht aus 20 Patienten mit eingeschränkter Glukosetoleranz (IGT) und

**Gruppe F2** besteht aus 10 Patienten mit Diabetes Mellitus Typ 2, davon waren 5 anamnestisch als Diabetiker bekannt und 5 wurden im Rahmen des OGTT dieser Studie neu entdeckt.

Gruppe F1 und Gruppe F2 wurden für die weitere Auswertung als pathologische OGTT-Gruppe (Gruppe F) zusammengefaßt und der Gruppe E gegenübergestellt.

## 3. ApoE-Genotyp-Gruppen

**Gruppe G** besteht aus 35 Patienten mit einem ApoE 3/3 Normaltyp,

**Gruppe H** besteht aus 6 Patienten mit einem ApoE-2-Allel und

**Gruppe I** besteht aus 13 Patienten mit einem ApoE-4-Allel

## 1.2. Einschlusskriterien

Eingeschlossen wurden Patienten, die sich wegen einer anamnestisch bekannten Fettstoffwechselstörung in der Lipidambulanz des Universitätsklinikums-Eppendorf vorstellten und bei denen ein grenzwertig hoher Blutzucker(>90 mg/dl) vorlag.

## 1.3. Untersuchungsprotokoll

Die im Rahmen dieser Studie durchgeführten Untersuchungen bestehen aus drei Teilen.

1. Es wurde den Patienten zunächst im nüchternen Zustand venös Blut abgenommen und daraus neben Routineparametern (Hb, Hämatokrit, Erythrozyten, MCH, MCV, Leukozyten, Thrombozyten, Natrium, Kalium, Calcium, Magnesium, Eisen, Chlorid, Glukose, Harnstoff, Kreatinin, Harnsäure, Bilirubin gesamt, Eiweiß ges., Albumin, GOT, GPT,  $\gamma$ GT, Alkalische Phosphatase, LDH, Amylase, Lipase, CK gesamt, Quick INR, PTT, Fibrinogen), Lipidstatus, ApoB, ApoA100, Nüchterninsulin, Nüchtern-C-peptid sowie der HbA1c Wert bestimmt. Zusätzlich wurden 20 ml EDTA Blut für die Dichtegradientenzentrifugation entnommen.

Die Routineparameter wurden im Zentrallabor des Univeritätskrankenhauses Eppendorf bestimmt. Der Lipidstatus, die Apoproteine B100,A1 und der ApoE-Genotyp wurden im Biochemischen Stoffwechsellabor des UKE bestimmt.

Die zellulären Bestandteile des 20 ml EDTA-Bluts für den Dichtegradienten wurden mit 2500 rpm in 10 Minuten abzentrifugiert. Der Überstand in Form

von Plasma wurde abgenommen und zur weiteren Verarbeitung bei 4°C verwahrt.

2. In einem zweiten Teil wurde ein oraler Glukose-Toleranztest durchgeführt.

3. Anschließend wurden die Fraktionen des Dichtegradienten, die für die verschiedenen Lipoproteinklassen stehen, gepoolt und darin die ApoE-Masse mit einem ApoE-Elisa bestimmt.

## **2. Methoden**

### **2.1. OGTT**

Es wurde bei allen Nichtdiabetikern ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt. Vor dem oralen Glukose-Toleranztest wurden die Patienten gebeten, eine 12-stündige Nahrungskarenz einzuhalten. Ungesüßter Kaffee, Tee und Wasser waren jedoch sowohl vorher als auch zur Testzeit erlaubt.

Der Test begann morgens zwischen 8 und 9 Uhr und dauerte 2 Stunden. Während dieser Zeit wurden die Patienten gebeten, sich nicht körperlich zu belasten und nicht zu rauchen. Zu Beginn wurde ein Aufklärungsgespräch geführt, in dem der Patient über den Versuchsaufbau und die möglichen Ergebnisse informiert wurde. Ferner hatten die Patienten hier die Möglichkeit, Fragen zu stellen. Sofern die Anamnese nicht aus den Patientenakten entnommen werden konnte, wurde sie vervollständigt, wobei folgende Daten von besonderem Interesse waren: Persönliche Daten (Alter, Geschlecht und Nationalität), Krankheitsanamnese, Genußmittel (Nikotin und Alkohol),

Medikamentenanamnese und Sozialanamnese. Es wurde ausdrücklich nach eventuellen Infekten, die Ausschlußkriterien für den Test gewesen wären, gefragt.

Um das Risiko der Entwicklung einer atherosklerotischen Erkrankung einzuschätzen, wurde im Rahmen der Krankheitsanamnese nach dem Vorliegen einer arteriellen Hypertonie, Nikotinabusus und HLP sowie nach Erkrankungen gefragt, die eine sekundäre HLP auslösen können, wie zum Beispiel Schilddrüsenerkrankungen, Leber-und Nierenerkrankungen, Hyperurikämie und Adipositas. Ein bekannter Diabetes Mellitus wurde anamnestisch ausgeschlossen, vor dem OGTT wurde in einem U-Stix eine Glukosurie ausgeschlossen. Die Medikamentenanamnese beinhaltete insbesondere Fragen nach Medikamenten mit Einfluß auf den Lipoproteinstoffwechsel, wie zum Beispiel  $\beta$ -Blocker, Diuretika, hormonhaltige Arzneimittel.

Nach Messung von Pulsfrequenz, Blutdruck, Größe und Gewicht wurde den Patienten Blut aus einer Armvene abgenommen, zusätzlich wurde eine kapilläre Blutprobe aus dem Ohrläppchen entnommen und damit der Nüchtern-Blutzucker bestimmt. Sofort danach erhielt der Patient seinen Glukosetrunk, der innerhalb von 5 Minuten eingenommen wurde.

Den Glukosetrunk Dextro® O.G.T. der Firma Roche tolerierten alle Patienten gut. Es ergaben sich keine Komplikationen, wie reaktiv bedingte Unterzuckerungen. Der Belastungstest dauerte zwei Stunden, und stündlich erfolgte eine kapilläre Blutentnahme aus dem Ohrläppchen. Die Blutzuckerbestimmung in den gewonnenen Proben wurde im Zentrallabor des Universitätskrankenhauses Eppendorf durchgeführt. Zur Sicherheit wurde parallel zur Probe für das Zentrallabor ein Blutzuckerstix mit dem Testgerät „Glukometer-Elite“ der Firma Bayer-Diagnostics bestimmt. Die so ermittelten

Werte stimmten, mit geringen Abweichungen, mit den Werten des Zentrallabors überein.

Blutglukosewerte zwei Stunden nach Glukosebelastung  $<140$  mg/dl wurden als „physiologische Glukosetoleranz“ gewertet. Blutglukosewerte zwei Stunden nach Glukosebelastung zwischen 140 mg/dl und 200 mg/dl wurden als „pathologische Glukosetoleranz“ (IGT=Impaired Glukose Toleranz) gewertet. Blutglukosewerte von über 200 mg/dl, 2 Stunden nach Glukosebelastung gemessen, erbringen den Nachweis eines Diabetes Mellitus{Alberti & Zimmet 1998}.

## **2.2. Dichtegradientenzentrifugation**

Die klassische Ultrazentrifugation trennt die Lipoproteine nach ihrer Dichte und gestattet es, 1-4 ml Plasma innerhalb von 20 Stunden in die Lipoproteinklassen HDL, LDL, IDL und VLDL aufzutrennen. Die Lipoproteine bewegen sich in die für sie entsprechende Dichtelösung. Die Proben wurden ca. 20 Stunden bei 38 000 Upm und  $4^{\circ}\text{C}$  in einer Beckmann-SW 41 Ultrazentrifuge zentrifugiert. Die Schichtung der Dichtelösung erfolgte in Beckmannröhrchen nach folgendem Schema:

2,0 ml aqua dest

3,0 ml Dichtelösung 1,019 g/ml (unterschichten)

3,0 ml Dichtelösung 1,063 g/ml (unterschichten)

3,5 ml Plasma, welches mit KBr auf eine Dichte von 1,21g/ml eingestellt wurde.

### **2.3. Auftrennung des Dichtegradienten**

Nach abgelaufener Ultrazentrifugation wurden die Zentrifugate mit einem „fraction recovery system“ der Firma Beckman USA fraktioniert. Es wurden die Gradienten in abfallender Dichte in 500µl Fraktionen getrennt. Ihrer Dichte folgend erscheinen zunächst die schweren Plasmabestandteile (Albumin, Globuline) und dann folgen HDL, LDL, IDL, VLDL und Chylomikronen.

In den einzelnen Fraktionen wurden der Cholesterin- und Triglyceridgehalt gemessen und ein Graph erstellt. Anhand dieses Graphen konnten die einzelnen Fraktionen den Lipoproteinklassen zugeordnet werden.

### **2.4. Analyse der Lipoproteine, Triglycerid- und Cholesterinbestimmung**

Die Konzentration der Triglyceride in den einzelnen Fraktionen wurde mit Hilfe eines enzymatischen Farbtests (Triglycerid GPO-PAP-Testkit) der Firma Boehringer, Mannheim, photometrisch gemessen. Hierzu wurden mit dem „Eppendorf-Diluter“ 10µl der Dichtegradientenfraktion mit 1ml Reagenzlösung für 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. In der folgenden enzymatischen Reaktion wurden die Triglyceride gespalten und das dabei entstandene Glycerin oxidiert. Mittels einer Peroxidase entsteht am Ende der Reaktion ein Farbstoff (Nagele et al 1984). Anschließend wurden die Proben, Reagenz-, Leerwerte und Standards bei 853 nm photometrisch gemessen.

Wie die Triglyceridkonzentrationen wurden auch die Cholesterinkonzentrationen in den einzelnen Fraktionen mit Hilfe eines enzymatischen Farbkits (Cholesterin CHOD-PAP) der Firma Boehringer Mannheim bestimmt. Auch für diese Messung wurden mit dem Eppendorf-Diluter 10µl Probe mit 1ml Reagenz 10 Minuten bei Raumtemperatur inkubiert. Bei der enzymatischen Farbreaktion entstand durch Spaltung der Cholesterinester und Oxidation ein Farbstoff, der anschließend bei 104,0 nm photometrisch gemessen wurde.

## **2.5. ApoE-Elisa**

In Anlehnung an publizierte Assays (Koffigan 1987, Bury 1985) wurde ein von Dr. med. Mann entwickelter, nicht kompetitiver „Sandwich“-Elisa für humanes ApoE benutzt {Mann 1998}. Zur Fixierung des Antigens wird als erster Antikörper ein monoklonaler Anti-ApoE Antikörper eingesetzt. Dieser wurde mit Hilfe einer Mab-Trap-Säule aus Zellüberstand der Maushybridzelllinie EE7 gereinigt und konzentriert.

EE7-Zellen wurden von Frau Prof. Beisiegel (Biochemisches Stoffwechsellabor, UKE, Hamburg) zur Verfügung gestellt (Havekes 1987).

Mikrotiterplatten (96 well) mit AntiE-MAK (1.25µg/ml, 100µl/well) wurden in PBS bei 4°C über 16h beschichtet, gefolgt von Inkubation mit Blockingpuffer (37°C, 1 h). Inkubation der Meßprobe erfolgt nach entsprechender Vorverdünnung (Gesamtplasma 1 : 10000, HDL-Fraktion 1 : 2000, LDL-Fraktion 1 : 500, IDL-Fraktion 1 : 500, VLDL 1 : 1000) für 2 h bei 37 °C. Nach Waschen folgt Inkubation mit einem kommerziellen polyklonalen Anti ApoE-Antikörper (DAKO) für 2 h bei 37°C

(Endverdünnung 1 : 10000). Detektion dieses AK erfolgt mit Hilfe eines human absorbierten Goat Anti Rabbit-PeroxidaseAntikörpers (Inkubation 1 h, 37°C, Endverdünnung 1 : 7500). Nach Zugabe der Substratlösung betrug die Entwicklungszeit ca. 10 Minuten, nach Stoppen der Farbreaktion wurde die Extinktion bei 490 nm im Elisa-Reader (MRX) gemessen.

## **2.6. Statistische Auswertung**

Die Daten werden, soweit nicht anders angegeben, als Mittelwert und Standardabweichung gezeigt. Da es sich bei den untersuchten Kollektiven um Gruppen mit relativ niedriger Fallzahl handelt und da einige der ermittelten Parameter keine Gaußsche Normalverteilung zeigen, sind in erster Linie nichtparametrische Tests angewandt worden. Der Vergleich zweier unabhängiger Stichproben erfolgte mit dem Mann-Whitney-U-Wilcoxon-Rang-Summen-Test mit Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit (p). Als statistisch signifikant wurde  $p < 0,05$  angesehen. Für den Vergleich mehrerer unabhängiger Stichproben wurde der Kruskal-Wallis-Test durchgeführt. Der Kruskal-Wallis-Test erweitert den Wilcoxon-Test für zwei unabhängige Stichproben auf beliebig viele Stichproben. Die Verteilung der OGTT-Ergebnisse auf die einzelnen Gruppen wurde mit dem Chi-Quadrat bzw. Fishers Exakttest geprüft. Alle Berechnungen wurden auf einem PC mit Hilfe kommerzieller Programme (Microsoft® Excel, Statistika®“Version 5 '97 von Statsoft Inc) durchgeführt. Aufgrund des Problems der multiplen Testung sind die errechneten p-Werte nicht streng im Sinne einer Hypothesenprüfung auf einem vorgegebenen Signifikanzniveau zu interpretieren, sondern vielmehr deskriptiv im Rahmen einer explorativen Datenanalyse aufzufassen. Ein niedriger p-Wert spricht in diesem Zusammenhang für einen vorhandenen

Unterschied, eine explizite konfirmative Prüfung muß aber in einem solchen Fall im Rahmen einer zukünftigen Untersuchung erfolgen.

## **2.7. Materialien**

### **OGTT:**

Dextro® OGT der Firma Roche

300 ml Saft enthalten:

- arzneilich wirksame Bestandteile:

Mono- und Oligosaccharidgemisch, das nach enzymatischer Spaltung einer Menge von 75 mg wasserfreier Glukose entspricht

- sonstige Bestandteile:

schwarzer Johannisbeer-Muttersaft

0,06 Vol-% Alkohol

### **Lipidbestimmungen :**

Cholesterinbestimmungs kit MPR2 CHOD-PAP-Methode (Boehringer)

Triglyceridbestimmungs kit MPR2 GPO-PAP-Methode (Boehringer)

### **Dichtegradientenzentrifugation :**

Aqua ad inject (Braun)

Kaliumbromid (Merk)

NaCL 0,9% (Braun)

Dichtelösung 1,019 g/ml

Dichtelösung 1,063 g/ml

**ApoE-Elisa :**

PBS pH 7,4

Blockingpuffer : PBS pH 7,4, Tween 20 (0,05%), 1% BSA

Waschpuffer: PBS pH 7,4, Tween 20 (0,05%)

Substratlösung : Citratpuffer pH 5,0, OPD Tablette (Sigma P-8412),  
15µl Wasserstoffperoxid 30%

Stopplösung : 3M Schwefelsäure

Citratpuffer pH 5: 0,1M Citric Acid Monohydrat, 0,2M NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>,  
500ml H<sub>2</sub>O bidest.

Monoklonaler Anti ApoE

Polyklonaler Anti ApoE (DAKO)

Goat Anti Rabbit, GARPO, human absorbiert

**Geräte :**

Eppendorffzentrifuge (Eppendorf), Eppendorf-Diluter, "fraktion recovery system" (Beckmann USA), Photometer (Eppendorf), Ultrazentrifuge (Beckmann), Elisareader (Dynatech)

### III. Ergebnisse

1. Gesamtkollektiv
- 1.1. Charakterisierung des Gesamtkollektivs

Insgesamt wurden 57 Patienten in die Studie eingeschlossen.

Tabelle 1 zeigt die Basischarakterisierung des Gesamtkollektivs

Tabelle 1: **Basischarakterisierung des Gesamtkollektivs**

Patienten (n)	M/W (n)	Alter (Jahre)	Größe (cm)	Gewicht (kg)	BMI (kg/m <sup>2</sup> )	Raucher (n)
57	35/22	50 ±9	171,4 ±8,4	81,5 ±13	27,6 ±3,7	18 (31,6%)

Alter, Größe, Gewicht und BMI sind als Mittelwert und Standardabweichung gezeigt. Die Anzahl der Raucher ist als Absolutwert und in Klammern in Prozent angegeben.

Es fällt auf, daß der BMI (Normalwert < 25,0) mit im Mittel 27,6 ± 3,7 kg/m<sup>2</sup> erhöht ist, was bedeutet, daß das Kollektiv im Mittel übergewichtig ist.

Alle Patienten sind auf ihre anamnestisch erhobenen Vorerkrankungen untersucht worden.

Tabelle 2 zeigt die Vorerkrankungen des Gesamtkollektivs.

Tabelle 2: **Vorerkrankungen des Gesamtkollektivs**

Patienten (n)	Hypertonus (n)	KHK (n)	Schilddrüsen-erkrankung (n)	Hyperurikämie (n)	Leber-erkrankung (n)
57	15 (26,3%)	6 (10,5%)	4 (7,0%)	20 (35,1%)	6 (10,5%)

Die Tabelle zeigt die Anzahl der erkrankten Patienten, die Angaben in Klammern die Prozentwerte.

Die wesentlichen Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels sind für das Gesamtkollektiv in Tabelle 3 zusammengefaßt.

**Tabelle 3: Vergleich von Parametern des Fett- und Glukosestoffwechsels des Gesamtkollektivs mit Referenzwerten**

Parameter	Gesamtkollektiv n=57	Referenzwerte
Chol (mg/dl)	269 ±81,0	150-240
HDL (mg/dl)	42,3 ±10,0	35-55
LDL (mg/dl)	160,5 ±62,0	<150
VLDL (mg/dl)	43,9 ±17,0	
TG (mg/dl)	462,0 ±452,0	<150
ApoB100 (mg/dl)	124,6 ±33,1	<120
ApoA (mg/dl)	132,9 ±27,1	m>139,w>148
Lp(a) (mg/dl)	17,0 ±29,0	<25
Glukose nüchtern (mg/dl)	99,0 ±20	60-110
HbA1C (%)	5,7 ±0,5	4,5-6,0
C-Peptid (ng/dl)	3,3 ±1,5	0,90-4,00
Insulin µE/ml	12,4 ±6,3	8,0-24,0
OGTT-2Stundenwert (mg/dl)	142,0 ±41	<140

Die Tabelle zeigt Mittelwert und Standardabweichung von Parametern des Fett- und Glukosestoffwechsels.

Aus der Tabelle wird deutlich, daß entsprechend den Einschlußkriterien das Gesamtcholesterin und die Triglyceride im Mittel erhöht sind und daß die Nüchternglukose grenzwertig hoch ist. Der 2-Stunden-OGTT-Wert ist im Mittel schon pathologisch, was schon darauf hindeutet, daß ein großer Anteil des Gesamtkollektivs pathologische Glukosetoleranzen aufweist.

Um zu prüfen, ob die OGTT-Ergebnisse abhängig von bestimmten Fettstoffwechselstörungen auftreten und ob die Dichtegradien sich entsprechend verändern, wurde das Gesamtkollektiv zunächst nach Störungen im Fettstoffwechsel aufgeteilt.

## **2. Hyperlipoproteinämie-Gruppen, Gesamtkollektiv, aufgeteilt nach Störungen im Fettstoffwechsel**

### 2.1. Basischarakterisierung

Von den 57 Patienten hatten 39 Patienten eine gemischte HLP, 7 Patienten eine Hypercholesterinämie, 7 Patienten eine Hypertriglyceridämie und 4 Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung normolipämisch.

Die kategorialen Daten des Kollektivs, aufgeteilt nach Störungen im Fettstoffwechsel, sind in Tabelle 4 dargestellt.

Der BMI ist in der Gruppe A ( gem.HLP ) mit im Mittel  $28,2_{\pm 3,9}$  am höchsten, in der Gruppe D ( Normolipämische Kontrolle ) mit  $25,4_{\pm 3,4}$  am niedrigsten. Der Anteil der Raucher ist in Gruppe A und in Gruppe C höher als in den anderen beiden Gruppen. Diese Unterschiede liegen statistisch im zufälligen Bereich (Kruskal-Wallis Test).

### 2.2. Vorerkrankungen

Die Vorerkrankungen in diesen Gruppen sind in Tabelle 5 gezeigt.

**Tabelle 4: Basischarakterisierung des Gesamtkollektivs, aufgeteilt nach Störungen im Fettstoffwechsel**

Parameter	Gruppe A Gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n = 39	n = 7	n = 7	n = 4
<b>Geschlecht (n)</b>	25m/14w	4m/3w	3m/4w	3m/1w
<b>Raucher</b>	12R (30,8%)	1R (14,3%)	4R (57,1%)	1R (25%)
<b>Alter (Jahre)</b>	50,9 ±8,6	51,9 ±11,3	50,3 ±7,9	42,5 ±16,1
<b>Größe (cm)</b>	172,1 ± 8,2	169,9 ±11,3	166,7 ±6,4	175,0 ±7,4
<b>Gewicht (kg)</b>	83,9 ±13,4	75,6 ±9,7	75,8 ±12,3	77,9 ±11,6
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	28,2 ±3,9	26,2 ±3,2	27,1 ±2,6	25,4 ±3,4

Tabelle 4 zeigt den Basischarakter des Gesamtkollektivs, aufgeteilt nach Störungen im Fettstoffwechsel. Das Geschlechterverhältnis ist als Anzahl männlicher (m)/Anzahl weiblicher(w) Patienten angegeben. Die Anzahl der Raucher wird als Absolutwert und in Klammern in Prozent gezeigt. Alter, Größe, Gewicht und BMI sind als Mittelwert und Standardabweichung angegeben.

**Tabelle 5: Vorerkrankungen im Gesamtkollektiv, aufgeteilt nach Störungen im Fettstoffwechsel**

Erkrankung	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n=39	n=7	n=7	n=4
<b>Hypertonus (n)</b>	10 (25,6%)	2 (28,6%)	2 (28,6%)	1 (25,0%)
<b>KHK (n)</b>	4 (10,2%)	1 (14,3%)	0 (0%)	1 (25,0%)
<b>Schilddrüse (n)</b>	2 (5,1%)	0 (0%)	1 (14,3%)	0 (0%)
<b>Harnsäure (n)</b>	17 (43,6%)	2 (28,6%)	1 (14,3%)	0 (0%)
<b>Leber (n)</b>	5 (12,8%)	1 (14,3%)	0 (0%)	0 (0%)

Die Tabelle zeigt die Anzahl der erkrankten Patienten, in Klammern sind die Prozentwerte angegeben.

### 2.3. Fett- und Glukosestoffwechsel

Tabelle 6 zeigt Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels in diesen Gruppen.

**Tabelle 6: Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels in den HLP-Gruppen (A-D)**

Parameter	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n = 39	n = 7	n = 7	n = 4
Cholesterin (mg/dl)	295 ± 81	254 ± 27,0	187 ± 19	178,0 ± 19,0
HDL (mg/dl)	41,7 ± 9,9	53,1 ± 9,8	36,8 ± 4,9	38,5 ± 3,9
LDL (mg/dl)	177,2 ± 66,8	177,9 ± 24,6	97,3 ± 31,1	116,5 ± 10,9
VLDL (mg/dl)	49,8 ± 13,0	24,3 ± 3,4	56,5 ± 14,8	23,0 ± 9,6
Triglyceride (mg/dl)	575 ± 493	117,0 ± 26,0	384 ± 228,0	107,0 ± 41,0
Apo B100 (mg/dl)	134,4 ± 31,7	123,7 ± 23,0	95,9 ± 11,7	80,8 ± 24,8
Apo A1 (mg/dl)	131,5 ± 25,2	141,7 ± 24,5	136,0 ± 39,9	125,5 ± 31,2
Lp(a) (mg/dl)	16,0 ± 30,0	24,0 ± 33,0	13,0 ± 14,0	21,0 ± 38,0
Glukose (mg/dl)	103 ± 21	90 ± 13	96 ± 20	91 ± 11
Insulin (mg/dl)	13,3 ± 7,1	9,4 ± 3,7	12,8 ± 2,3	8,4 ± 1,9
HbA1C (%)	5,7 ± 0,5	5,9 ± 0,1	5,6 ± 0,3	5,4 ± 0,3
C-Peptid (ng/dl)	3,4 ± 1,5	2,5 ± 1,1	4,2 ± 1,9	2,0 ± 0,3

Tabelle 6 zeigt Mittelwert und Standardabweichung von Parametern des Fett- und Glukosestoffwechsels.

Aus der Tabelle 6 wird deutlich, daß in den Gruppen A (gemischte Hyperlipoproteinämie und C (Hypertriglyceridämie) die Nüchternglukose, die Insulinspiegel und das C-Peptid höher sind als in den übrigen Gruppen.

Keiner der beobachteten Unterschiede ist im paarweisen Gruppenvergleich signifikant (Mann-Whitney U-Test).

#### 2.4. OGTT-Ergebnisse

In Tabelle 7 sind die OGTT-Ergebnisse, aufgeteilt nach Störungen im Fettstoffwechsel, dargestellt.

Tabelle 7: Ergebnisse des OGTT in den HLP-Gruppen

Parameter	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n=39	n=7	n=7	n=4
OGTT physiologisch (n)	17 (43,6%)	4 (57,7%)	2 (28,6%)	4 (100%)
OGTT, IGT (n)	15 (38,5%)	3 (42,8%)	2 (28,6%)	0 (0%)
OGTT D.Mell. (n)	7 (17,9%)	0 (0%)	3 (42,9%)	0 (0%)
OGTT, IGT + D.Mell. (n)	22 (56,4%)	3 (42,8%)	5 (71,4%)	0 (0%)

Tabelle 7 zeigt die Anzahl der OGTT-Ergebnisse, in Klammern sind die prozentualen Werte angegeben. In der letzten Zeile sind IGT und Diabetes Mellitus als pathologische Ergebnisse addiert worden.

In der Gruppe A (gem.HLP) gab es 22 (56,4%) pathologische OGTTs und in Gruppe C (HTG) 5 (71,4%) pathologische OGTTs. In Gruppe B gab es 3 (42,8%) neu entdeckte pathologische OGTTs und in Gruppe D gab es 0 (0%) pathologische OGTTs. Dabei wurde bei Patienten, bei denen anamnestisch bereits ein Diabetes Mellitus bekannt war (n=5), kein erneuter OGTT durchgeführt. Diese Patienten wurden der Gruppe mit pathologischen OGTTs hinzugerechnet. Es konnte keine signifikante Häufung für das Auftreten von pathologischen OGTTs oder erhöhter Nüchtern glukose in einer der Fettstoffwechselgruppen gefunden werden ( $p=0,398$  Fishers exakt-Test). In

Gruppe A (gem.HLP) und C (HTG) kommen die meisten pathologischen OGTTs vor. Diese beiden Gruppen wurden addiert und mit den beiden anderen Gruppen (B und D) verglichen. Es wurden keine signifikante Häufung der pathologischen OGTT in einer dieser Gruppen gefunden ( $p=0,349$ , Fishers exakt-Test). Es ist möglich, daß hierfür die kleinen Fallzahlen, insbesondere in Gruppe B und D verantwortlich sind. Im Gesamtkollektiv sind von 52 durchgeführten OGTTs insgesamt 25 (48,1%) pathologisch. Diese Gruppe der pathologischen OGTTs beinhaltet 5 (9,6%) neu diagnostizierte Diabetes-Typ-2 und 20 (38,5%) pathologische Glukosetoleranzen (IGT).

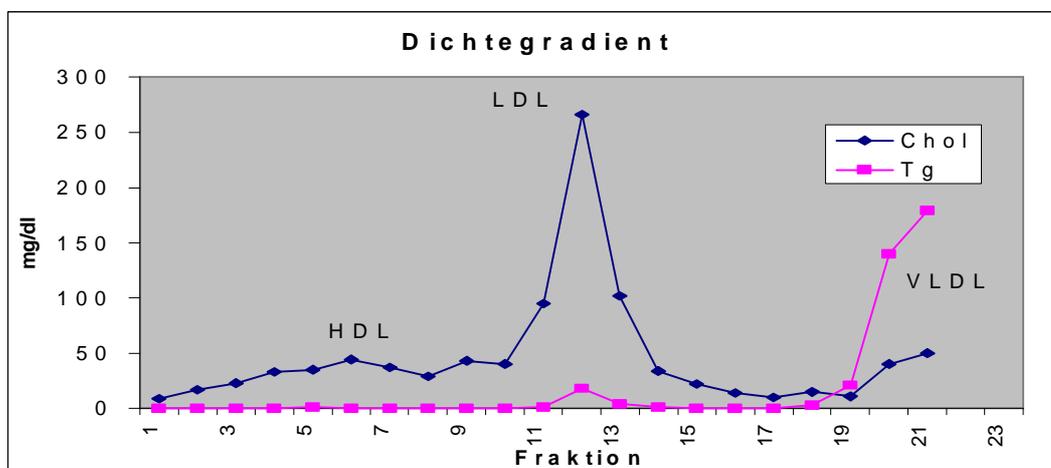
## 2.5. Dichtegradienten

Bei allen Patienten wurde ein Dichtegradient angefertigt. Die graphische Darstellung der Cholesterin- und Triglyceridwerte in den 500 $\mu$ l Fraktionen zeigt anschaulich die charakteristische Verteilung der Lipoproteine im Dichtegradienten.

In Abbildung 1 ist die normale Verteilung der Lipoproteine bei einem gesunden Probanden dargestellt. Die Lipoproteinklassen sind in der Grafik bezeichnet.

Zum Vergleich dazu ist in Abbildung 2 ein Dichtegradient dargestellt, der die charakteristische Lipoproteinverteilung bei einem Patienten mit Fettstoffwechselstörung (gem. HLP) und mit Glukosestoffwechselstörung (Diabetes Mellitus) zeigt. Die Lipoproteinklassen sind in der Grafik bezeichnet.

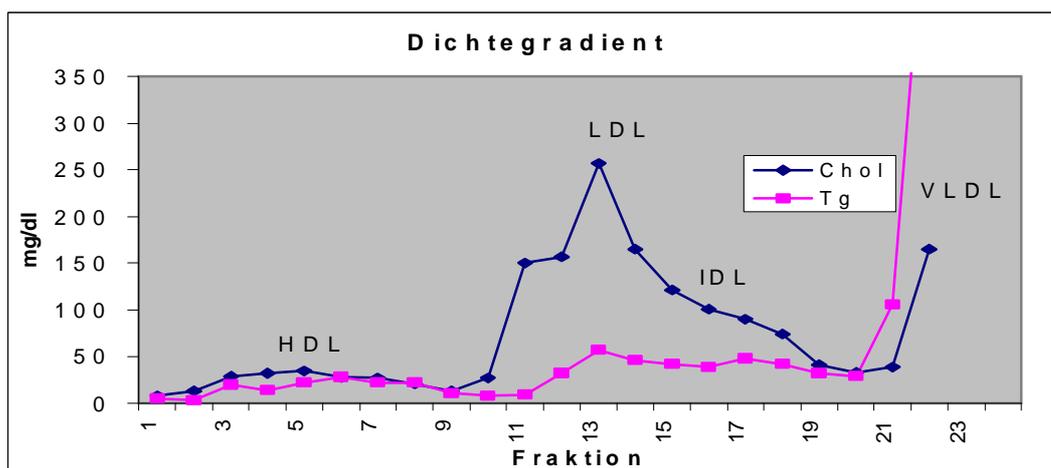
**Abb.1: Cholesterin- und Triglyceridgradient einer normolipämischen Person**



Apo E Genotyp : 3/3, Chol. Gesamt : 147 mg/dl

Lp(a) : 78 mg/dl, TG Gesamt : 79 mg/dl

**Abb.2: Cholesterin und Triglyceridgradient eines Diabetikers mit gemischter HLP**



Apo E: 3/3

Gesamt-Cholesterin : 255 mg/dl

Lp(a): < 2

Gesamt-Triglyceride : 239 mg/dl

Im Vergleich der beiden Gradienten wird deutlich, daß sich die Lipoproteinzusammensetzung bei dem Diabetiker mit gem. HLP von der des gesunden Patienten unterscheidet. Die LDL-Fraktion ist bei dem Diabetiker dichter und auch kleiner als bei der gesunden Person, der Diabetiker hat eine deutliche IDL-Schulter im Gradienten, und die triglyceridreiche VLDL ist erhöht.

### 2.5.1. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen der Dichtegradienten

Um alle Gradienten in den verschiedenen Gruppen miteinander vergleichen zu können, wurden zunächst die Cholesterin- und die Triglycerideanteile der Lipoproteinklassen miteinander verglichen. Tabellen 8 und 8.1 zeigen diese Werte im Gruppenvergleich. In keiner der Gruppen A-D wurde ein signifikanter Unterschied im Cholesterin- oder Triglyceridgehalt der Lipoproteinklassen gefunden (Kruskal-Wallis-Test).

**Tabelle 8 : Cholesterin in den Lipoproteinklassen des Dichtegradienten**

Lipoproteinklasse	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n=39	n=7	n=7	n=4
HDL (mg/dl)	41,5 ± 16,1	49,0 ± 7,9	39,0 ± 12,5	37,4 ± 1,3
LDL (mg/dl)	164,5 ± 82,4	211,1 ± 36,1	123,9 ± 73,0	134,2 ± 22,1
IDL (mg/dl)	59,5 ± 37,0	45,0 ± 7,0	26,6 ± 21,0	30,8 ± 22,4
VLDL (mg/dl)	108,3 ± 79,9	69,2 ± 52,4	83,5 ± 71,7	76,4 ± 46,6

Tabelle 8 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den Lipoproteinklassen des Dichtegradienten.

**Tabelle 8.1. : Triglyceride in den Lipoproteinklassen des Dichtegradienten**

Lipoproteinklasse	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n=39	n=7	n=7	n=4
HDL (mg/dl)	26,1 ±15,4	25,4 ±7,5	24,8 ±13,5	21,7 ±23,2
LDL (mg/dl)	40,1 ±43,6	39,6 ±15,6	22,5 ±10,0	26,9 ±16,2
IDL (mg/dl)	25,3 ±17,4	22,7 ±11,0	11,3 ±9,9	18,3 ±17,2
VLDL (mg/dl)	484,1 ±344,5	214,5 ±121,6	421,3 ±207,3	321,9 ±246,5

Tabelle 8.1. zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in den Lipoproteinklassen des Dichtegradienten.

### 2.5.2. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen der Lipoproteinklassen

Um die Zusammensetzung der Lipoproteinklassen zwischen den HLP-Gruppen zu vergleichen, wurden die Cholesterin- und Triglyceridkonzentrationen der einzelnen Fraktionen, die die Lipoproteinklassen darstellen, in den Gruppen A-D miteinander verglichen. In Tabelle 9 sind die Cholesterinspiegel der Fraktionen 4-9 (HDL) dargestellt.

Tabelle 9: **Cholesterin in den Fraktionen 4-9 des Dichtegradienten (HDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n = 39	n = 7	n = 7	n=4
4 (mg/dl)	24,5 ±13,6	17,9 ±7,1	25,0 ±15,8	20,0 ±8,9
5 (mg/dl)	28,1 ±14,3	20,9 ±7,0	29,7 ±12,8	23,0 ±10,3
6 (mg/dl)	37,4 ±15,8	35,9 ±11,1	39,1 ±14,9	34,0 ±9,6
7 (mg/dl)	44,9 ±20,0	58,3 ±13,6	48,6 ±14,5	44,3 ±7,1
8 (mg/dl)	36,4 ±20,6	57,1 ±8,8	33,1 ±19,3	36,5 ±6,45
9 (mg/dl)	28,2 ±20,8	45,9 ±14,6	15,0 ±16,3	25,5 ±12,0

Tabelle 9 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den einzelnen Fraktionen.

Die Cholesterinspiegel der Fraktion 8 ( $p= 0,0295$ ) und 9 ( $p= 0,0231$ ) sind in den Gruppen A-D signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis Test).

Tabelle 9b zeigt die p-Werte des paarweisen Gruppenvergleichs nach dem Mann-Whitney U Test.

Tabelle 9b: **p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs der HDL-Fraktionen**

Fraktion	Gruppe A gegen B	Gruppe A gegen C	Gruppe A gegen D	Gruppe B gegen C	Gruppe B gegen D	Gruppe C gegen D
8 (mg/dl)	0,008*	0,8	0,763	0,025*	0,008	0,637
9 (mg/dl)	0,158	0,05	0,834	0,011*	0,037	0,156

Tabelle 9b. zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs der Fraktionen 4-9 (HDL-Bereich), Mann-Whitney U-Test

Der Cholesteringehalt in Fraktion 8 ist in Gruppe B signifikant höher als in Gruppe A, in Fraktion 8 und 9 ist der Cholesteringehalt in Gruppe B signifikant höher als in Gruppe C.

Bei allen anderen Vergleichen kann kein Trend für das Vorliegen eines Unterschieds festgestellt werden.

Die Cholesterinwerte der Fraktionen 10-19 (LDL) sind in Tabelle 10 im einzelnen dargestellt.

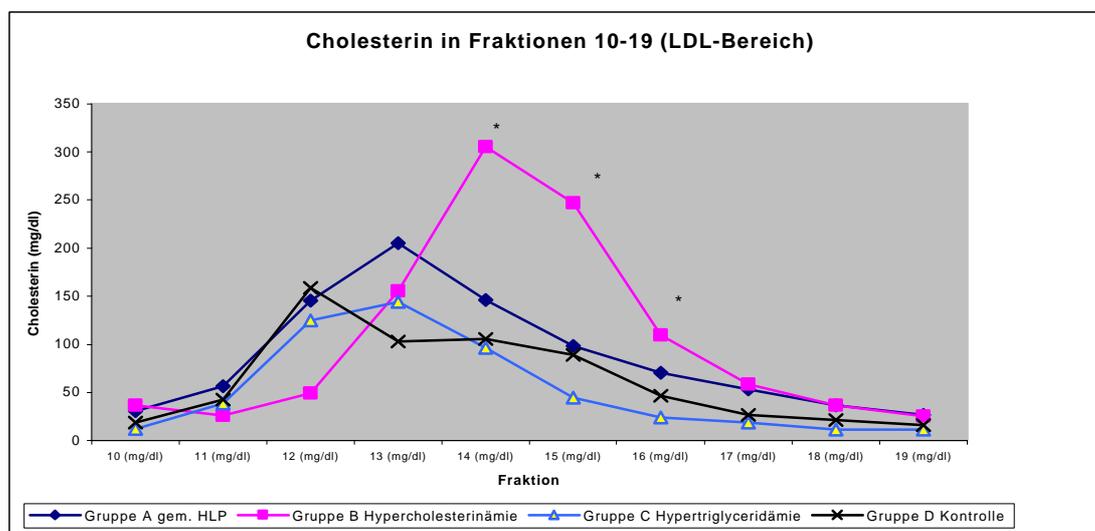
**Tabelle 10: Cholesterin in Fraktion 10-19 des Dichtegradienten (LDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n = 39	n = 7	n = 7	n=4
10 (mg/dl)	30,7 ±35,2	37,0 ±16,4	12,0 ±10,7	18,3 ±14,8
11 (mg/dl)	56,6 ±54,6	26,4 ±10,3	39,0 ±32,5	42,5 ±36,0
12 (mg/dl)	145,8 ±118,5	49,4 ±34,7	125,0 ±87,2	158,8 ±99,5
13 (mg/dl)	205,5 ±148,0	155,0 ±113,0	144,1 ±149,3	103,0 ±30,7
14 (mg/dl)	146,1 ±100,0	*305,1 ±70,6	95,9 ±79,3	105,5 ±100,5
15 (mg/dl)	98,6 ±35,0	*246,7 ±108,9	45,0 ±29,5	88,8 ±106,0
16 (mg/dl)	70,2 ±56,7	*109,9 ±50,5	23,6 ±15,6	46,5 ±41,9
17 (mg/dl)	53,0 ±46,9	58,3 ±27,1	19,0 ±17,9	27,0 ±18,9
18 (mg/dl)	37,3±31,9	36,6 ±16,7	11,3 ±15,9	21,3 ±6,9
19 (mg/dl)	27,0 ±20,8	25,7 ±16,5	11,1 ±16,9	16,3 ±4,3

Tabelle 10 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den einzelnen Fraktionen des Dichtegradienten. Die nach dem Kruskal-Wallis Test signifikant unterschiedlichen Werte sind in der Tabelle mit \* markiert.

Die LDL stellt sich in den Gruppen A (gem. HLP) und C (HTG) dichter und kleiner dar als in der Gruppe B (Hypercholesterinämie). Abbildung 3 verdeutlicht dies.

Abb. 3: Cholesterin in Fraktionen 10-19 (LDL-Bereich)



Die Grafik zeigt die durchschnittliche Cholesterinverteilung der Fraktionen 10-19 in den Dichtegradienten der HLP-Gruppen. Die mit \* markierten Werte sind signifikant unterschiedlich.

In den Fraktionen 14 ( $p=0,009$ ), 15 ( $p=0,0019$ ) und 16 ( $p=0,0018$ ). ist der Cholesteringehalt in den Gruppen A-D signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis-Test).

Tabelle 10b im Anhang zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs. In Gruppe B sind Fraktion 14 und 15 gegenüber Gruppe A und Fraktion 14,15 und 16 gegenüber Gruppe C signifikant erhöht ( $p<0,003$ ).

Die Cholesterin- und die Triglyceridwerte in den Fraktionen der anderen Lipoproteinklassen sind im einzelnen in den Tabellen 22-25 im Anhang dargestellt.

## 2.6. Apo E-Masse

Um zu prüfen, ob es in den HLP-Gruppen unterschiedliche ApoE-Massenverteilungen gibt, wurden die Apo E-Masse im Gesamtserum und in den Lipoproteinklassen HDL, LDL, IDL und VLDL bestimmt. Anschließend wurden diese Werte in den HLP-Gruppen verglichen.

Tabelle 11 zeigt die ApoE- Massenkonzentrationen in den Lipoproteinklassen im Überblick.

**Tabelle 11: ApoE-Massenverteilung in den Lipoproteinklassen**

Parameter	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Cholesterin und Triglyceride normal
	n=39	n=7	n=7	n=4
ApoE-Gesamt ( $\mu\text{l/ml}$ )	121,3 $\pm$ 73,4	77,6 $\pm$ 34,8	59,4 $\pm$ 39,2	55,3 $\pm$ 45,5
HDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	19,2 $\pm$ 17,3	5,4 $\pm$ 3,3	5,6 $\pm$ 5,4	11,3 $\pm$ 12,6
LDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	2,75 $\pm$ 2,7	1,0 $\pm$ 0,9	1,1 $\pm$ 0,7	1,1 $\pm$ 0,7
IDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	3,5 $\pm$ 4,2	1,8 $\pm$ 3,6	1,1 $\pm$ 0,9	1,1 $\pm$ 0,8
VLDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	20,8 $\pm$ 13,6	7,9 $\pm$ 5,4	14,3 $\pm$ 16,5	21,1 $\pm$ 18,3

Tabelle 11 zeigt Mittelwerte und Standardabweichung der ApoE-Massenkonzentrationen in den Lipoproteinklassen

Die Apo E-Masse im Gesamtserum ( $p=0,0172$ ) und die Apo E-Masse in der HDL ( $p=0,0172$ ) sind in den HLP-Gruppen A-D signifikant unterschiedlich (Kruskal-Wallis-Test).

Tabelle 11b im Anhang zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs. Im paarweisen Gruppenvergleich wird deutlich, daß die

ApoE-Masse im Gesamtserum in Gruppe A signifikant höher ist als in Gruppe C ( $p=0,0339$ ). Die ApoE-Masse in der HDL ist in Gruppe A signifikant erhöht gegenüber Gruppe B ( $p=0,0062$ ) und C ( $p=0,0064$ ).

In den anderen Gruppenvergleichen konnte kein Trend für einen Unterschied der Apo E-Massenverteilung gefunden werden.

### **3. Diabetes mellitus-Gruppen**

Um zu prüfen, ob es typische Cholesterin- bzw. Triglyceridverteilungen in den Dichtegradienten der Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz gibt, wurde das Gesamtkollektiv nach OGTT-Ergebnissen aufgeteilt.

Von den insgesamt 57 Patienten hatten 27 einen physiologischen OGTT, 20 Patienten zeigten eine pathologische Glukosetoleranz, bei 5 Patienten wurde ein Diabetes Mellitus erstdiagnostiziert und bei 5 Patienten war ein Diabetes Mellitus bereits bekannt. Das Gesamtkollektiv wurde nun nach physiologischen (Gruppe E,  $n=27$ ) und pathologischen OGTTs (Gruppe F,  $n=30$ ) aufgeteilt. Dabei wurden IGT ( $n=20$ ) und Diabetes Mellitus ( $n=10$ ) als pathologische OGTTs zusammengefaßt.

#### **3.1. Basischarakterisierung**

In Tabelle 12 ist die Basischarakterisierung dieser Gruppen dargestellt.

Tabelle 12: Basischarakterisierung

Parameter	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT
	n = 27	n=30
Geschlecht (n)	21m/6w	14m/16w
Raucher (n)	13 (48,1%)	5 (16,7%)
Alter (Jahre)	49,0 ± 9	51 ± 10
Größe (cm)	174,1 ± 8,2	168,9 ± 7,9
Gewicht (kg)	83,2 ± 12,8	80,2 ± 13,4
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,3 ± 3,6	27,9 ± 3,8

Tabelle 12 zeigt den Basischarakter des Gesamtkollektivs, aufgeteilt nach Störungen im Glukosestoffwechsel. Alter, Größe, Gewicht und BMI sind als Mittelwert und Standardabweichung dargestellt. Die Anzahl der Raucher sind als Absolutwert und in Klammern in Prozent angegeben.

Die Unterschiede in Alter, Größe, Gewicht und BMI liegen statistisch im zufälligen Bereich.

### 3.2. Vorerkrankungen

Die Vorerkrankungen sind in Tabelle 13 gezeigt.

Tabelle 13 Vorerkrankungen

Erkrankung	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT
	n=27	n=30
Hypertonus (n)	5 (18,5%)	10 (33,3%)
KHK (n)	1 (3,7%)	5 (16,7%)
Schilddrüse (n)	1 (3,7%)	2 (6,7%)
Harnsäure (n)	9 (33,3%)	11 (36,7%)
Leber (n)	2 (7,4%)	9 (30%)

Tabelle 13 zeigt die Anzahl der erkrankten Patienten, in Klammern sind die prozentualen Werte angegeben.

### 3.3. Fett- und Glukosestoffwechsel in den Diabetes mellitus-Gruppen

In Tabelle 14 sind Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels im Gesamtkollektiv, aufgeteilt nach Störungen im Glukosestoffwechsel dargestellt.

**Tabelle 14 : Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels in den Diabetes mellitus-Gruppen**

Parameter	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n=30	
Cholesterin (mg/dl)	260 ±71	277 ±90	0,565
HDL (mg/dl)	40,9 ±9,0	43,5 ±10,8	0,2842
LDL (mg/dl)	156,4 ±56,3	164,8 ±68,6	0,5762
VLDL (mg/dl)	41,5 ±18,4	46,4 ±15,6	0,3087
Triglyceride (mg/dl)	406 ±391	513 ±501	0,2736
Apo B100 (mg/dl)	119,8 ±32,0	128,9 ±34,0	0,3837
Apo A1 (mg/dl)	129,1 ±22,2	136,5 ±30,8	0,3257
Lp(a) (mg/dl)	13,0 ±20	20,0 ±35	0,643
Nüchternlukose (mg/dl)	92 ±12	107 ±23	*0,0101
Insulin (mg/dl)	12,0 ±6,9	12,8 ±6,0	0,3171
HbA1C (%)	5,6 ±0,3	5,9 ±0,5	*0,0159
C-Peptid (ng/ml)	2,8 ±1,3	3,7 ±1,6	*0,0121
ApoE-Gesamt (µl/ml)	107,6±80,9	98,7±56,8	0,8949

Tabelle 14 zeigt die Mittelwerte mit Standardabweichung von Parametern des Fett- und Glukosestoffwechsels. Die dritte Spalte zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs.

\* steht für  $p < 0,05$

Wie zu erwarten, sind die Nüchtern glukose, der HbA1C und das C-Peptid in den pathologischen OGTT-Gruppen (Gruppe F) höher als in den anderen Gruppen. Diese Unterschiede sind statistisch signifikant.

### 3.4. Dichtegradienten

#### 3.4.1. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen der Dichtegradienten

Um zu prüfen, ob es spezifische Veränderungen der Dichtegradienten bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz im Vergleich zu Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz gibt, wurden zunächst die Cholesterin- und Triglyceridwerte in den Lipoproteinklassen miteinander verglichen. Die Gruppe mit pathologischen OGTTs hatte im Vergleich mit der Gruppe von Patienten mit physiologischen OGTTs gering erhöhte Cholesterinspiegel in den HDL-, LDL- und IDL-Fraktionen. Diese Unterschiede waren statistisch nicht signifikant ( $p= 0,43$  Kruskal-Wallis-Test).

Tabelle 26 und 27 im Anhang zeigen die Chol- und TG-Konzentrationen der Lipoproteinklassen im Überblick.

#### 3.4.2. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen der Lipoproteinklassen

Es wurden die einzelnen Fraktionen der Lipoproteinklassen in den DM-Gruppen verglichen.

Tabelle 15 zeigt die Cholesterinspiegel der Fraktionen 10-19 (LDL-Bereich) in den jeweiligen Gruppen und das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs.

**Tabelle 15 : Cholesterinverteilung in den Fraktionen 10-19 des Dichtegradienten (LDL-Bereich)**

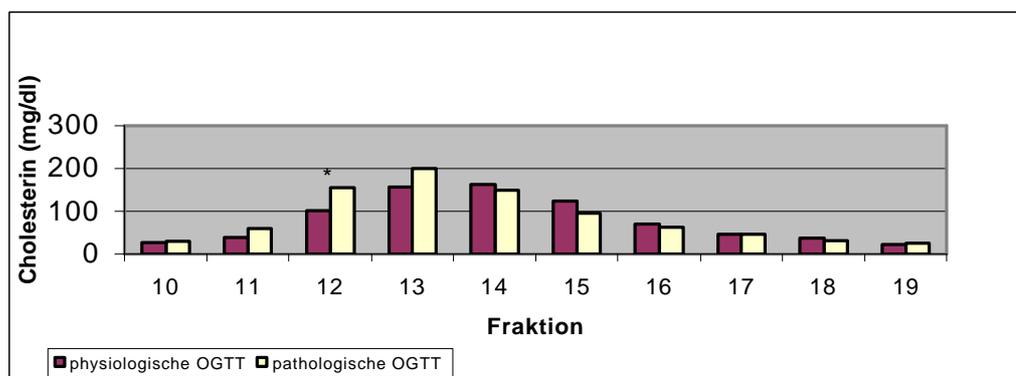
Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n=30	
10 (mg/dl)	27,7 ±20,4	30,5 ±38,7	0,8934
11 (mg/dl)	37,9 ±28,0	59,7 ±58,0	0,0594
12 (mg/dl)	100,5 ±98,9	155,3 ±111,5	*0,0399
13 (mg/dl)	156,6 ±136,1	200,9 ±142,3	0,1773
14 (mg/dl)	162,0 ±124,2	149,0 ±99,5	0,7887
15 (mg/dl)	123,3 ±108,4	96,2 ±74,9	0,5675
16 (mg/dl)	70,7 ±63,2	63,2 ±48,0	0,8025
17 (mg/dl)	47,0 ±47,3	47,2 ±36,8	0,741
18 (mg/dl)	37,5 ±40,0	32,5 ±26,1	0,7613
19 (mg/dl)	21,7 ±20,4	25,0 ±19,1	0,6168

Tabelle 15 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Cholesterinspiegel in den einzelnen Fraktionen der LDL, der mit \* markierte Wert ist signifikant unterschiedlich.

Die Gradienten der Patienten mit Glukosestoffwechselstörung haben in Fraktion 11, 12, und 13 einen höheren mittleren Cholesteringehalt als die Patienten ohne Glukosestoffwechselstörungen. Dieser Unterschied des Cholesteringehalts ist in Fraktion 12 statistisch signifikant ( $p=0,0399$ , Mann-Whitney U-Test).

Abbildung 4 verdeutlicht den höheren Cholesteringehalt der Fraktionen 11, 12 und 13 in der Gruppe mit pathologischen OGTTs.

Abb. 4 : Cholesterinverteilung in den Fraktionen 10-19 des Dichtegradienten (LDL-Bereich)



Die Abbildung 4 verdeutlicht die Daten aus Tabelle 15. Der markierte Wert ist in der Gruppe der pathologischen OGTTs signifikant erhöht.

Alle anderen Fraktionen zeigten keine statistisch signifikanten Unterschiede der Cholesterin- oder Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen.

Tabellen 28-32 im Anhang zeigen die Chol- und TG-Konzentrationen der einzelnen Fraktionen im Überblick.

### 3.4.3. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen 10-19

(LDL-Bereich) von Gruppe A und Gruppe C nach OGTT getrennt

Die Fraktionen 11, 12, 13 des Dichtegradienten sind bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz cholesterinreicher als bei Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz. In Gruppe A (gem.HLP) und Gruppe C (HTG) ist der Cholesteringehalt in diesen Fraktionen höher als in Gruppe B (Hypercholesterinämie) (nicht signifikant). Um herauszufinden, ob diese Veränderungen durch Störungen im Glukosestoffwechsel oder durch Störungen des Fettstoffwechsels bedingt sind, wurden die Gruppen A und C zusammen betrachtet und nach OGTT-Ergebnissen getrennt. Die

Cholesterinverteilung der Fraktionen 10-19 (LDL-Bereich) in diesem Subkollektiv ist in Tabelle 16 dargestellt.

**Tabelle 16: Cholesterinverteilung der Fraktionen 10-19 in Gruppe A+C, aufgeteilt nach OGTT-Ergebnis**

Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n=19	n=27	
10 (mg/dl)	24,0 ±14,7	29,8 ±40,7	0,756
11 (mg/dl)	36,9 ±29,7	64,0 ±59,7	0,052
12 (mg/dl)	103,4 ±107,8	166,3 ±111,8	*0,045
13 (mg/dl)	182,6 ±157,4	203,1 ±144,9	0,422
14 (mg/dl)	151,6 ±118,9	129,2 ±83,8	0,755
15 (mg/dl)	103,4 ±85,5	81,3 ±53,8	0,707
16 (mg/dl)	70,2 ±69,4	57,7 ±44,5	0,907
17 (mg/dl)	49,5 ±56,5	46,0 ±37,7	0,786
18 (mg/dl)	34,2 ±38,5	32,2 ±26,7	0,756
19 (mg/dl)	23,6 ±24,6	24,9 ±18,6	0,492

Tabelle 16 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Cholesterinspiegel in den Fraktionen 10-19. Die dritte Spalte zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs, die mit \* markierte Fraktion ist signifikant unterschiedlich.

Der Cholesteringehalt in Fraktion 10-13 ist bei den Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz in Gruppe A und C höher als bei Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz. Dieser Unterschied des Cholesteringehalts ist in Fraktion 12 statistisch signifikant ( $p=0,045$ , Mann-Whitney U-Test).

Abbildung 5 verdeutlicht diese Unterschiede.

Die Fraktionen 11, 12 und 13 sind also im Gesamtkollektiv und auch in der Subgruppe A+C (gem. HLP+HTG) bei Patienten mit pathologischer

Glukosetoleranz erhöht gegenüber Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz. Sowohl im Gesamtkollektiv als auch in der Subgruppe A+C sind diese Unterschiede in Fraktion 12 statistisch signifikant.

Die Unterschiede des Cholesteringehalts in den Gruppen A und C entsprechen denen des Gesamtkollektivs.

**Abb. 5 : Cholesterinverteilung der Fraktionen 10-19 in Gruppe A+C, aufgeteilt nach OGTT-Ergebnis**

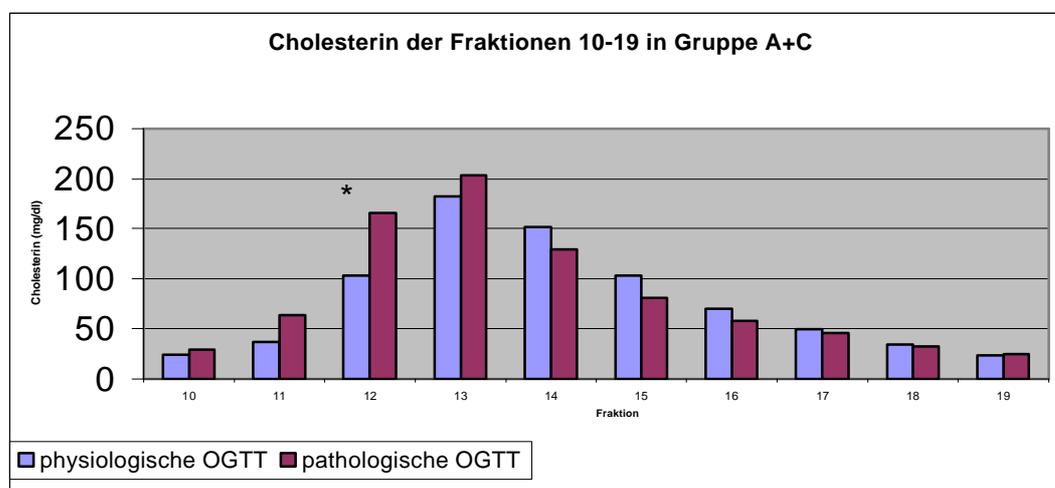


Abbildung 5 verdeutlicht die Daten aus Tabelle 16, die mit \* gekennzeichnete Fraktion ist signifikant unterschiedlich.

### 3.5. ApoE-Masse

Um zu prüfen, ob die ApoE-Masse bei Patienten mit physiologischem OGTT (Gruppe E) anders verteilt ist als bei Patienten mit pathologischem OGTT (Gruppe F), wurde die Apo E-Masse des Gesamtserums und der Lipoproteinklassen in diesen Gruppen miteinander verglichen.

Tabelle 17 zeigt die ApoE-Massenkonzentrationen der Lipoproteinklassen im Überblick.

Tabelle 17 : **ApoE-Massenverteilung in den Lipoproteinklassen**

Parameter	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n=27	n=30	
ApoE-Gesamt ( $\mu\text{l/ml}$ )	107,6 $\pm$ 80,9	98,7 $\pm$ 56,8	0,8949
HDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	12,3 $\pm$ 13,2	17,5 $\pm$ 17,6	0,322
LDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	1,9 $\pm$ 1,6	2,4 $\pm$ 2,9	0,7766
IDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	3,1 $\pm$ 4,2	2,7 $\pm$ 3,7	0,7609
VLDL-E ( $\mu\text{l/ml}$ )	17,5 $\pm$ 15,0	19,0 $\pm$ 13,3	0,8949

Tabelle 17 zeigt Mittelwert mit Standardabweichung der ApoE-Massenkonzentrationen. Die letzte Spalte zeigt das p-Niveau des Mann Whitney U Test.

Es konnten keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Kruskal-Wallis-Test). In diesem Kollektiv bestehen also keine signifikanten Unterschiede der ApoE-Massenverteilung zwischen Patienten mit physiologischer und pathologischer Glukosetoleranz.

### 3.6. Apo E/Cholesterin- und Triglyceridquotient

Um zu prüfen, ob Patienten mit Glukosetoleranzstörungen weniger Apo E-Masse im Verhältnis zum Gesamtcholesterin als Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz haben, also ob sie einen relativen Apo E-Mangel haben, wurden die Apo E/Cholesterin bzw. Apo E/Triglyceridquotienten für Gesamt-ApoE, HDL-ApoE, LDL-ApoE, IDL-ApoE und VLDL-ApoE gebildet. Anschließend wurden die Quotienten in Gruppe E (physiologische OGTTs) und Gruppe F (pathologische OGTTs) miteinander verglichen.

Die Apo E/Cholesterin- bzw. Apo E/Triglyceridquotienten sind in Tabelle 18 dargestellt.

**Tabelle 18: ApoE/Cholesterin-Quotienten**

ApoE/Chol-Ratio	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n=27	n=30	
ApoE/Chol-Gesamt	0,0448 ±0,0268	0,0375 ±0,0213	0,593
ApoE/Chol-HDL	0,3452 ±0,3872	0,3532 ±0,6086	0,622
ApoE/Chol-LDL	0,0009 ±0,0009	0,0012 ±0,0014	0,091
ApoE/Chol-IDL	0,0005 ±0,0004	0,0004 ±0,0004	0,661
ApoE/Chol-VLDL	0,0018 ±0,0015	0,0028 ±0,0304	0,058

Tabelle 18 zeigt die ApoE/Cholesterinquotienten in µg/dl. Die dritte Spalte zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs.

**Tabelle 18.1: ApoE/Triglyceridquotienten**

ApoE/TG-Ratio	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F+F2 pathologische OGTT	p-Niveau
	n=27	n=30	
ApoE/TG-Gesamt	0,0042 ±0,0041	0,0032 ±0,0026	0,902
ApoE/TG-HDL	0,0151 ±0,0489	0,0804 ±0,0072	*0,042
ApoE/TG-LDL	0,0039 ±0,0039	0,0052 ±0,0059	0,064
ApoE/TG-IDL	0,0011 ±0,0014	0,0011 ±0,0010	0,594
ApoE/TG-VLDL	0,0001 ±0,0002	0,0002 ±0,0005	0,163

Tabelle 18.1 zeigt die ApoE/Triglyceridquotienten in µg/dl. Die dritte Spalte zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs, \* steht für  $p < 0,05$ .

Nur der ApoE/Triglyceridquotient in der HDL ist in der Gruppe mit pathologischen OGTTs signifikant erhöht gegenüber der Gruppe mit

physiologischen OGTTs ( $p=0,042$ , Mann-Whitney U-Test). Bei allen anderen Quotienten besteht kein signifikanter Unterschied in diesen beiden Gruppen. ( $p>0,1$ , Kruskal-Wallis Test). Ein relativer ApoE-Mangel bzw. Überschuss bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz kann also mit diesem Kollektiv nicht nachgewiesen werden. In der HDL haben die Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz einen relativ höheren ApoE-Gehalt als die Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz.

#### **4. ApoE-Genotyp-Gruppen**

Um zu prüfen, ob sich die OGTT-Ergebnisse abhängig von den ApoE-Genotypen der Patienten sind und ob es Unterschiede in den Dichtegradienten gibt in diesen Gruppen, wurde das Gesamtkollektiv nach ApoE-Genotypen aufgeteilt.

Von den 57 Patienten haben 35 einen Apo E-Normaltyp (3/3), 6 Patienten haben das Apo E-2-Allel und 13 Patienten haben das Apo E-4-Allel. Weitere 3 Patienten haben sowohl das ApoE-2-Allel als auch das ApoE-4-Allel und wurden aufgrund der kleinen Gruppengröße nicht bei der Auswertung berücksichtigt.

Diese Häufigkeiten der ApoE-Verteilung entsprechen denen der Normalbevölkerung in Deutschland nach Uterman 1982 {Utermann, Steinmetz, et al. 1982 55 /id}.

##### **4.1. Basischarakterisierung**

Tabelle 19 zeigt die kategorialen Daten dieser Gruppen.

Tabelle 19: **Basischarakterisierung**

Parameter	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel
	n = 35	n = 6	n = 13
<b>Geschlecht (n)</b>	19m/16w	4m/2w	11m/2w
<b>Raucher (n)</b>	11 (31,4%)	1 R (16,7%)	5 (38,5%)
<b>Alter (Jahre)</b>	51 ± 11	51,3 ± 5,9	48,5 ± 8,6
<b>Größe (cm)</b>	171,4 ± 7,6	168,2 ± 6,0	174,6 ± 9,2
<b>Gewicht (kg)</b>	82,5 ± 14,5	78,7 ± 11,0	80,3 ± 10,0
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	27,9 ± 4,2	27,8 ± 2,8	26,3 ± 1,9

Tabelle 19 zeigt den Basischarakter des Gesamtkollektivs, aufgeteilt nach ApoE-Genotyp. Alter, Größe, Gewicht und BMI sind als Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die Anzahl der Raucher sind als Absolutwert und in Klammern in Prozent angegeben.

#### 4.2. Vorerkrankungen

Die Vorerkrankungen sind in Tabelle 20 dargestellt.

Tabelle 20: **Vorerkrankungen**

Erkrankung	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel
	n = 35	n = 6	n = 13
<b>Hypertonus (n)</b>	11 (31,4%)	2 (33,3%)	2 (15,4%)
<b>KHK (n)</b>	5 (14,2%)	0 (0%)	1 (7,7%)
<b>Schilddrüse (n)</b>	3 (8,6%)	0 (0%)	0 (0%)
<b>Harnsäure (n)</b>	9 (25,7%)	2 (33,3%)	8 (61,5%)
<b>Leber (n)</b>	4 (11,4%)	0 (0%)	2 (15,4%)

Tabelle 20 zeigt die Anzahl der erkrankten Patienten, in Klammern sind die prozentualen Werte angegeben.

### 4.3. Fett- und Glukosestoffwechsel in den ApoE-Genotyp-Gruppen

Tabelle 21 zeigt Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels in diesen Gruppen.

**Tabelle 21 : Parameter des Fett- und Glukosestoffwechsels im Gesamtkollektiv, aufgeteilt nach ApoE-Genotyp**

Parameter	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE2-Allel	Gruppe I ApoE4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n=6	n=13	
Cholesterin (mg/dl)	255,0 ±65,0	309,8 ±121,5	257,8 ±32,7	0,68
HDL (mg/dl)	42,0 ±9,3	41,7 ±11,8	41,2 ±9,3	0,587
LDL (mg/dl)	162,5 ±58,4	162,5 ±123,3	152,8 ±39,8	0,413
VLDL (mg/dl)	43,4 ±16,4	54,0 ±16,4	40,4 ±18,4	0,125
Triglyceride (mg/dl)	385,0 ±425,0	641,8 ±490,1	470,5 ±424,4	0,214
Apo B100 (mg/dl)	124,1 ±36,9	123,0 ±34,6	126,3 ±20,7	1
Apo A1 (mg/dl)	130,9 ±26,4	132,3 ±23,0	132,0 ±23,6	0,777
Lp(a) (mg/dl)	18,0 ±29,0	24,8 ±44,3	11,2 ±21,0	0,688
Glukose (mg/dl)	99 ±16	103 ±10	96 ±21	0,118
Insulin (mg/dl)	14,0 ±6,7	9,6 ±4,0	8,9 ±4,3	0,776
HbA1C (%)	5,9 ±0,5	5,5 ±0,2	5,5 ±0,3	0,103
C-Peptid (mg/dl)	3,7 ±1,6	3,1 ±1,4	2,5 ±1,1	0,222
ApoE-Gesamt (µl/ml)	99,4 ±55,3	123,7 ±105,9	117,6 ±98,1	0,630

Tabelle 21 zeigt Mittelwert und Standardabweichung von Parametern des Fett- und Glukosestoffwechsels. Die vierte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests, die mit \* markierten p-Werte verdeutlichen die tendenziellen Unterschiede in diesen Gruppen.

Die Gesamtcholesterinspiegel, die Gesamttriglyceridspiegel und die Nüchternglukose sind bei den Patienten mit einem ApoE-2-Allel am höchsten. Diese Unterschiede sind nicht signifikant.

#### 4.4. OGTT

In Gruppe G (Apo E 3/3) sind 17(48,6%) OGTTs pathologisch, in Gruppe H (Apo E-2 Allel) sind 2 (33,3%) der OGTTs pathologisch und in Gruppe I (Apo E-4Allel) sind 5 (38,5%) OGTTs pathologisch.

Es besteht keine signifikante Häufung der pathologischen OGTTs in den verschiedenen ApoE-Genotypgruppen (  $p=0,406$  Fishers exakt-Test).

#### 4.5. Dichtegradienten

##### 4.5.1. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Lipoproteinklassen der Dichtegradienten

Genau wie in den anderen Gruppen wurden auch hier zunächst die Chol- und TG-Konzentrationen der Lipoproteinklassen und dann die der einzelnen Fraktionen des Dichtegradienten in den Gruppen verglichen. Es konnten dabei keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

Tabelle 33-34 im Anhang zeigt die Chol- und TG-Konzentrationen in den Lipoproteinklassen dieser Gruppen im Überblick.

##### 4.5.2. Cholesterin- und Triglyceridverteilung in den Fraktionen der Lipoproteinklassen der Dichtegradienten

Anschließend wurden die einzelnen Fraktionen der Lipoproteinklassen in den Gruppen G-I miteinander verglichen. Dabei wurden keine signifikanten Unterschiede gefunden.

In Tabelle 35-40 im Anhang sind die Chol- und TG-Konzentrationen der einzelnen Fraktionen im Überblick dargestellt.

#### 4.6. Apo E-Masse

Die Apo E-Masse im Gesamtserum und in den Lipoproteinklassen wurde in den Gruppen G-I miteinander verglichen. Dabei konnten keine signifikanten Unterschiede gefunden werden.

Tabelle 41 zeigt die ApoE-Massenkonzentrationen im Gesamtserum und in den Lipoproteinklassen im Überblick

## V. Diskussion

Hyperlipoproteinämien und Diabetes mellitus sind häufige Erkrankungen in der modernen Wohlstandsgesellschaft. Die Pathogenese dieser Erkrankungen ist multifaktoriell und beinhaltet genetische sowie alimentäre Faktoren. Hyperlipoproteinämien und Diabetes mellitus sind u.a. durch quantitative als auch durch qualitative Veränderungen der Lipidzusammensetzungen ursächlich an der Entstehung der Arteriosklerose beteiligt. Laut Statistischem Jahrbuch für die BRD sterben allein in Deutschland jährlich mehr als 425.000 Menschen an den Folgeerkrankungen der Arteriosklerose. Diese fatalen Folgen für die Gesellschaft sind auch wegen der daraus entstehenden hohen Kosten am sinnvollsten durch primäre und sekundäre Präventionsmaßnahmen zu verhindern bzw. einzudämmen. Dazu gehört die frühe Diagnose des Diabetes mellitus.

### 1. Diabetes mellitus, Bedeutung der frühen Diagnostik

Während die Manifestation des Typ 1-Diabetes relativ rasch verläuft, manifestiert sich der Typ 2 Diabetes schleichend und unbemerkt. Häufig wird die Diagnose zufallsmäßig bei einer Routineuntersuchung, bei anderen Erkrankungen oder bei der Manifestation diabetischer Folgeerkrankungen gestellt. Ein Drittel der Typ-2-Diabetiker hat bei Diagnosestellung bereits diabetische Folgeschäden (Ruigomez 1998). Ziel der Diabetesdiagnostik muß es also sein, Diabetiker möglichst früh zu erkennen, um sie durch rechtzeitige Gegenmaßnahmen vor den mikro- und makrovaskulären Folgeschäden zu bewahren. Ein Ansatz, um dies zu erreichen, sind die 1998 von der WHO empfohlenen strengeren

Diagnosekriterien für Diabetes mellitus. Nach der WHO sind grundsätzlich drei Wege zur Diagnose eines Diabetes mellitus möglich:

1. Symptome, wie Polyurie, Polydipsie und nicht gekläarter

Gewichtsverlust plus eine aktuelle Plasmaglukose von  $>200$  mg/dl.

2. Nüchternplasmaglukose  $>126$  mg/dl.

3. Eine Plasmaglukose  $> 200$  mg/dl zwei Stunden nach einer oralen Glukosebelastung von 75 g.

Zusätzlich wurde eine Gruppe von Menschen definiert, deren Werte nicht die Kriterien eines Diabetes mellitus erfüllen, deren Glukosewerte aber 2 Stunden nach oraler Glukosebelastung  $>140$  mg/dl sind. Bei diesen Personen liegt eine IGT (impaired glucoetolerance) vor. Außerdem wurde eine Gruppe definiert, die Nüchternglukosewerte von  $>110$  mg/dl und  $<126$  mg/dl aufweist und mit IFG (impaired fasting glucose) bezeichnet wird (Alberti u. Zimmet 1998).

Der OGTT kann also physiologisch ausfallen, wenn die Blutglukose 2 Stunden nach Glukosebelastung  $<140$  mg/dl liegt. Wenn die Blutglukose 2 Stunden nach Glukosebelastung noch  $> 140$  mg/dl, aber noch unter 200 mg/dl beträgt, liegt eine eingeschränkte Glukosetoleranz (IGT) vor. Wird die Lebensweise dieser Patienten nicht geändert, besteht für sie ein hohes Risiko, einen Diabetes mellitus zu entwickeln (Sartor et al. 1980; Warram et al. 1996). Zusätzlich haben Patienten mit IGT ein deutlich erhöhtes Arterioskleroserisiko und eine hohe Koinzidenz mit Dyslipoproteinämien (Fontbonne et al. 1989; Jarrett et al. 1982). Eine Blutglukose 2 Stunden nach Glukosebelastung von  $>200$  mg/dl erbringt den Nachweis eines manifesten Diabetes mellitus (Tominaga 1999).

Über 10% der Gesamtbevölkerung weisen eine gestörte Glukosetoleranz (impaired glucose tolerance, IGT) auf. In Risikogruppen, wie Adipösen,

Hypertonikern, bei Patienten mit Hypertriglyceridämie oder Fettleber findet man sogar in 40-50% eine IGT (Hanefeld 1995).

## 2. Metabolisches Syndrom

Reaven faßt die Befunde Adipositas, Insulinresistenz, bzw. Hyperinsulinämie, Glukoseintoleranz, Hypertriglyceridämie, Hypo-HDL-Cholesterinämie und Hypertonie unter dem Begriff „Syndrom X“ oder „metabolisches Syndrom zusammen. Sie gehen anerkannterweise mit einem erhöhten Risiko für die koronare Herzerkrankung einher (Reaven 1988)

Das Gesamtkollektiv dieser Studie ist mit einem BMI von  $27,6 \pm 3,7$  im Mittel übergewichtig. Dies entspricht nach den WHO-Kriterien einer „Präadipositas“ (WHO 1997). Die Cholesterinspiegel und die Triglyceridspiegel des Gesamtkollektivs sind entsprechend den Einschlußkriterien im Mittel erhöht. Der leicht pathologische mittlere OGTT-2- Stunden-Wert von  $142,0 \pm 41$  kann durch den hohen Anteil von pathologischen Glukosetoleranzen (52,6%) erklärt werden.

In der Subgruppe F (pathologische OGTT) sind die Triglyceride, die Nüchternglukose, das Insulin, der HbA1C und das C-Peptid gegenüber der Gruppe E (physiologische OGTT) erhöht. Der Anteil an Patienten mit Hypertonus ist in Gruppe F höher als in Gruppe E. Die Gruppe F, Patienten mit pathologischem OGTT zeigt also tendenziell die Befunde Glukoseintoleranz, Hyperinsulinämie, Hypertriglyceridämie und Hypertonie des metabolischen Syndroms. Demzufolge ist auch der Anteil der Patienten, die eine Koronare Herzkrankheit haben, in der Gruppe F

erhöht gegenüber der Gruppe E. Es handelt sich bei der Gruppe F also um ein Hochrisikokollektiv.

In dieser Studie sind im Gesamtkollektiv 48,1% der neu durchgeführten OGTT pathologisch. Diese setzten sich aus 20 (38,5%) IGT und 5 (9,6%) Diabetes mellitus zusammen. Da Patienten in die Studie eingeschlossen wurden, die sich in der Lipidambulanz des Universitätsklinikums Eppendorf mit einer Hyperlipoproteinämie vorstellten, entsprechen diese Ergebnisse den in der Literatur bekannten Zahlen (Misra et al. 1999).

Die meisten pathologischen OGTT befanden sich in Gruppe A (gem. HLP) und in Gruppe C (Hypertriglyceridämie). Es ergab sich jedoch keine Signifikanz für die Häufung der pathologischen OGTT in diesen Gruppen, was wahrscheinlich mit der niedrigen Fallzahl (n=57) des Gesamtkollektivs und insbesondere der kleinen Größe der Gruppe B (Hypercholesterinämie) und Gruppe D (Kontrolle) zu erklären ist. Die Indikation für den OGTT wurde in dieser Studie bei Patienten, die sich wegen Hyperlipoproteinämie vorstellten und die zusätzlich grenzwertige Nüchternglukosewerte aufwiesen, gestellt. Grenzwertige Nüchternglukosewerte wurden definiert durch Nüchternglukosespiegel von >90 mg/dl.

Da bei 48,1 % der mit einem OGTT untersuchten Patienten ein pathologischer OGTT auftrat und da die frühe Diagnosestellung des Diabetes mellitus im Rahmen der Primärprophylaxe von kardiovaskulären Erkrankungen eine bedeutende Rolle spielt, erscheint diese großzügige Indikationsstellung bei Patienten mit Fettstoffwechselstörungen gerechtfertigt.

### 3. Die Bedeutung der Dichtegradientenzentrifugation für den Nachweis spezifischer Veränderungen der Lipoproteine

Die Größe und die Dichte der Lipoproteinklassen sind abhängig von ihrem Cholesterin- und Triglyceridgehalt sowie dem Anteil von Apoproteinen.

Kleine dichte LDL-Partikel sind mit Arteriosklerose in Verbindung gebracht worden und treten häufig zusammen mit anderen Risikofaktoren für koronare Herzkrankheit auf (Marais 2000).

In den letzten Jahren haben verschiedene Studien gezeigt, daß kleine dichte LDL-Partikel hauptsächlich durch Hypertriglyceridämie und Übergewicht, Insulinresistenz, Diabetes mellitus und einige noch unvollständig untersuchte Genabschnitte beeinflusst werden (Marais 2000). Austin et al konnten in Zwillingsstudien zeigen, daß bis zu 50 % dieser LDL-Partikel auf genetische Einflüsse zurückzuführen sind (Austin et al. 1993).

Um zu untersuchen, inwieweit solche Veränderungen der Lipoproteine in den Dichtegradienten sichtbar sind und ob sie sich insbesondere bei Patienten mit pathologischem OGTT häufen, wurden die Dichtegradienten in den verschiedenen Subgruppen miteinander verglichen.

Zunächst wurden die Dichtegradienten in den HLP-Gruppen miteinander verglichen. Dabei wurde in Gruppe B (Hypercholesterinämie) eine signifikante Erhöhung des Cholesterins in den Fraktionen 8 und 9 (HDL-Bereich), in den Fraktionen 14 und 15 (LDL-Bereich) gegenüber Gruppe A sowie in Fraktion 14, 15 und 16 gegenüber Gruppe C gefunden. Diese Unterschiede entsprechen den Fettstoffwechselstörungen, nach denen diese Gruppen klassifiziert wurden.

Bei Typ 2 Diabetikern ist eine Hypertriglyceridämie häufig und ist mit der Akkumulation von IDL (intermediate density Lipoprotein), nichtnormalem postprandialen Fettstoffwechsel und kleinen dichten LDL-Partikeln

assoziiert (Betteridge 1996). Die Insulinresistenz bzw. der Insulinmangel bei Diabetes mellitus ist pathophysiologisch wichtig für die Entstehung von kleinen dichten LDL-Partikeln, denn Insulinresistenz bzw. Insulinmangel haben eine Reihe von Folgen für den Fettstoffwechsel (Howard 1987; Taskinen et al. 1996). Durch die fehlende insulinabhängige Hemmung der Lipolyse im Fettgewebe kommt es zu erhöhten Konzentrationen an Fettsäuren im Plasma. Vermehrter Transport von Glukose und Fettsäuren erhöht die Synthese von VLDL, was in dem diabetestypischen Anstieg der Plasmatriglyceride resultiert. Bei Hypertriglyceridämie kommt es durch das Cholesterinester-Transfer-Protein (CETP) zu einem vermehrten Austausch zwischen HDL und LDL mit den triglyceridreichen Lipoproteinen von Cholesterinestern gegen Triglyceride (Tan et al. 1995). Dadurch werden Chylomikronen und VLDL cholesterinreich und atherogen, HDL und LDL werden mit Triglyceriden angereichert. Diese Triglyceride können durch die hepatische Lipase hydrolysiert werden, so daß kleine dichte LDL und die kleinen HDL3 entstehen. Deswegen werden niedrige Spiegel des HDL-Cholesterins gemessen. Die Fraktion der LDL kann bei Diabetes mellitus durch verringerte Hydrolyse der VLDL vermindert oder durch gestörte LDL-Rezeptorbindung erhöht sein. Die veränderte Komposition der LDL kann zu pathologischen Interaktionen mit Endothelzellen führen. Dies könnte der Arteriosklerose Vorschub leisten. Dazu mag auch die Glukosylierung des Proteinanteils der LDL beitragen (Graier u. Kostner 1997). Diabetes kann also zu einer Reihe von Veränderungen der LDL in Partikelzahl und Struktur führen und damit die Arteriosklerose begünstigen.

Die Patienten dieser Studie mit pathologischer Glukosetoleranz (n=27) zeigten in Fraktion 11, 12 und 13 (LDL-Bereich) einen höheren mittleren Cholesteringehalt als die Patienten ohne Glukosestoffwechselstörung. Dieser Unterschied ist in Fraktion 12 signifikant. Nach Zusammenfassung

der Gruppe A (gem.HLP) und C (Hypertriglyceridämie) und Auftrennung nach OGTT-Ergebnis waren die Fraktionen 11, 12 und 13 in der Gruppe mit pathologischer Glukosetoleranz weiterhin erhöht gegenüber der Gruppe mit physiologischen Glukosetoleranzen. Diese Unterschiede waren ebenfalls in Fraktion 12 signifikant und zeigen somit den gleichen Trend in den Gruppen A und C wie im Gesamtkollektiv. Daraus kann geschlossen werden, daß die kleinen dichten LDL-Partikel in diesem Kollektiv eher von den Folgen des gestörten Glukosestoffwechsels als von den Fettstoffwechselstörungen abhängen.

Die in verschiedenen Studien beschriebenen kleinen und dichten LDL-Partikel bei Patienten mit Diabetes mellitus bzw. bei Patienten mit gemischter Hyperlipoproteinämie (Kreisberg 1998; Packard et al. 2000) sind sowohl im Gesamtkollektiv als auch in den Gruppen A und C bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz sichtbar.

Wegen des Problems der multiplen Testung sind die gefundenen Signifikanzen nur eingeschränkt statistisch aussagekräftig. Um die gefundenen Unterschiede zu verifizieren, wäre eine Studie mit höheren Fallzahlen wünschenswert. Es konnten jedoch zumindest tendenziell bei den Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz kleine dichte LDL-Partikel nachgewiesen werden. Das bedeutet, daß bereits vor Manifestation des Diabetes typische atherogene Veränderungen des Lipidprofils nachgewiesen werden konnten.

#### 4. Liefert die Kombination eines OGTT und der

Dichtegradientenzentrifugation zusätzliche Informationen ?

Der OGTT liefert prognostische Informationen, die es ermöglichen, Individuen mit 'impaired glucose tolerance' (IGT) zu erfassen, bei denen

ein hohes Risiko vorliegt, einen Diabetes mellitus oder eine arteriosklerotische Folgeerkrankung zu entwickeln. Dabei ist angesichts des hohen Anteils an pathologischen Glukosetoleranzen in diesem Kollektiv für den OGTT eine umfassendere Indikationsstellung als bisher sinnvoll.

Die Dichtegradientenzentrifugation macht es möglich, die kleinen dichten LDL-Partikel, die die Arteriosklerose über multiple, noch nicht im Detail aufgeklärte Mechanismen beeinflussen können, zu erkennen. Es ist jedoch nicht möglich von den im Dichtegradienten entdeckten Abweichungen in der Lipoproteinzusammensetzung auf eventuelle Störungen des Glukosestoffwechsels zu schließen. Die Kombination eines OGTT mit einer Dichtegradientenzentrifugation verbessert die Diagnostik bei Patienten mit Hyperlipoproteinämien. Insbesondere wird die prognostische Information bezüglich des Risikos einer Arteriosklerosentwicklung durch die Kombination beider Untersuchungen verbessert.

##### 5. Welche Rolle spielt Apolipoprotein E ?

Es ist bekannt, daß Apolipoprotein E aufgrund seiner Fähigkeit, an Rezeptoren zu binden, eine wichtige Rolle im Lipoproteinstoffwechsel spielt. Die drei Hauptisoformen der ApoE-Allele haben einen signifikanten Einfluß auf die Serumlipidspiegel bei gesunden Normalpersonen. Das E-3-Allel ist das am häufigsten vorkommende und wird deshalb als Normaltyp angesehen. Verglichen mit dem E-3-Allel ist das E-2-Allel mit niedrigeren Cholesterin-, LDL-Cholesterin- und ApoB-Spiegeln und höheren Triglycerid- und ApoE-Spiegeln assoziiert. Das E-4-Allel zeigt einen gegensätzlichen Effekt mit einer Assoziation mit erhöhten

Cholesterinspiegeln und erniedrigten ApoE-Spiegeln (Davignon u. Roederer 1988; Dallongeville et al. 1992; de Knijff et al. 1994).

Der ApoE-Polymorphismus beeinflusst auch bei Diabetikern Typ 2 den Lipoproteinstoffwechsel, bestimmte Allele sind eventuell als Risikofaktor für renale und peripher nervöse Spätkomplikationen anzusehen (Werle et al. 1998; Tsuzuki et al. 1998; Ha et al. 1999).

Um zu untersuchen, ob die ApoE-Masse in den Subgruppen unterschiedlich verteilt ist, wurde die ApoE-Masse in den einzelnen Lipoproteinklassen, dargestellt im Dichtegradienten, mit einem ApoE-Elisa bestimmt. Anschließend wurde die ApoE-Massenverteilung in den Subgruppen miteinander verglichen.

Die ApoE-Masse im Gesamtserum war in Gruppe A (gem. HLP) signifikant erhöht gegenüber Gruppe C (HTG) und D (normales Chol und TG). Die ApoE-Masse in der HDL und in der LDL war in Gruppe A signifikant erhöht gegenüber Gruppe B (Hypercholesterinämie) und C. Die ApoE-Masse der IDL und VLDL war in Gruppe A signifikant erhöht gegenüber Gruppe B. Die Gruppe von Patienten mit einer gem. HLP weist also höhere ApoE-Spiegel auf als die übrigen Patientengruppen.

Weiterhin wurden die ApoE-Massenverteilungen in den Lipoproteinklassen zwischen Patienten mit pathologischem OGTT und physiologischem OGTT verglichen. Die Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz (20 IGT und 10 Diabetiker) zeigten keine signifikanten Unterschiede der ApoE-Massenverteilung in den Lipoproteinklassen im Vergleich zu den Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz.

Um zu prüfen, ob Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz ein anderes Verhältnis von ApoE zum Cholesterin- bzw. zum Triglyceridspiegel aufweisen als Patienten mit physiologischer Glukosetoleranz, wurden Quotienten im Gesamtserum sowie in den Lipoproteinklassen aus der ApoE-Masse und den Cholesterin- bzw. Triglyceridspiegeln gebildet. Es

wurden dabei keine signifikanten Unterschiede zwischen Gruppe E und F im Verhältnis von ApoE-Masse zum Cholesterin- bzw. Triglyceridspiegel gefunden.

Die ApoE-Phenotypen entsprechen bei Diabetikern denen der Normalbevölkerung, es gibt also keine Unterschiede der ApoE-Genetik zwischen Diabetikern und Gesunden. (Inamdar et al. 2000). Die häufigen Fettstoffwechselstörungen bei Diabetikern können daher nicht durch unterschiedliche ApoE-Phänotypen erklärt werden. Die ApoE-Masse wurde in diesem Kollektiv zwischen Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz (Diabetiker und Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz) und Patienten mit physiologischen OGTT verglichen. Dabei wurden in der Gruppe von Patienten mit pathologischem OGTT weder im Gesamtserum noch in den einzelnen Lipoproteinklassen signifikant unterschiedliche ApoE-Spiegel gegenüber der Gruppe mit physiologischem OGTT gefunden. Die Daten dieser Studie weisen also keine unterschiedlichen ApoE-Masseverteilungen zwischen Patienten mit pathologischer bzw. physiologischer Glukosetoleranz auf. Unterschiede in der ApoE-Massenverteilung können daher nicht als Erklärungsansatz für die häufigen Fettstoffwechselstörungen bei Diabetikern oder bei Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz (IGT) dienen. Wahrscheinlich sind andere Mechanismen für die charakteristischen Lipidstoffwechselstörungen bei Diabetikern verantwortlich. Hier sind in erster Linie Insulinresistenz bzw. Insulinmangel und die daraus entstehenden multiplen Folgen für den Fettstoffwechsel zu nennen.

Einen weiteren Erklärungsansatz könnte auch die zwei- bis dreifach erhöhte ApoE-Glykolysierung bei Diabetikern mit Hyperglykämien liefern, die die ApoE-Heparinbindungsaktivität reduziert und auch die Lipoproteinzellinteraktionen verschlechtern könnte. (Shuvaev et al. 1999). Mit Hilfe einer elektrophoretischen Methode (isoelektrische Fokussierung)

konnte in unseren Patienten kein Zusammenhang zwischen ApoE-Modifikation und Diabetes nachgewiesen werden (persönliche Kommunikation mit Dr. Mann). Shuvaev und Mitarbeiter haben andere Analysemethoden eingesetzt, die diesen diskrepanten Befund erklären könnten. Hier sind weitere Untersuchungen zum Vergleich der eingesetzten Methoden erforderlich.

## 6. Schlußfolgerung

Die Daten dieser Arbeit zeigen, daß bei Patienten mit Fettstoffwechselstörungen bereits bei hochnormalen Nüchternblutzuckerwerten  $>90$  mg/dl ein OGTT zur frühen Diagnosestellung eines Diabetes mellitus bzw einer IGT durchgeführt werden sollte. Bei pathologischen OGTT sollte durch Ernährung, ergänzt durch ausreichende körperliche Aktivität, eine normoglykämische Stoffwechsellage angestrebt werden. Findet man bei Patienten mit pathologischen OGTT im Dichtegradienten die kleinen dichten LDL-Partikel, sollte zusätzlich eine LDL-cholesterin-senkende Therapie mit Cholesterinsyntheseenzymhemmern durchgeführt werden, um das hohe Risiko einer Arterioskleroseentwicklung zu senken.

## V. Zusammenfassung

Thema der Arbeit ist die diagnostische Bedeutung der Kombination eines oralen Glukosetoleranztests und der Dichtegradientenzentrifugation bei Patienten mit Hyperlipoproteinämie und grenzwertigen Glukosespiegeln. Darüber hinaus sollte untersucht werden, ob sich die ApoE-Masse in den HLP-Gruppen bzw. den DM-Gruppen oder in den ApoE-Genotyp-Gruppen unterschiedlich verteilen.

Von den 57 teilnehmenden Patienten hatten 39 eine gemischte HLP, 7 hatten eine reine Hypercholesterinämie, 7 hatten eine reine Hypertriglyceridämie und 4 Patienten waren zum Zeitpunkt der Untersuchung normolipämisch. Bei 5 Patienten war ein Diabetes mellitus bereits bekannt, bei den anderen 52 Patienten wurde ein oraler Glukosetoleranztest durchgeführt. Insgesamt waren 25 OGTTs (48,1%) pathologisch, davon hatten 20 Patienten eine pathologische Glukosetoleranz (IGT) und bei 5 Patienten wurde ein Diabetes mellitus neu nachgewiesen. Die meisten pathologischen OGTTs traten bei den Patienten mit gemischter HLP auf, eine signifikante Häufung der pathologischen OGTTs zeigte sich jedoch in keiner der Fettstoffwechselgruppen.

Die Patienten mit gem. HLP wiesen in 2 Fraktionen der HDL und in 3 Fraktionen der LDL höhere Cholesterinkonzentrationen auf als die übrigen HLP-Gruppen.

Es wurde bei insgesamt 51 Patienten die ApoE-Masse im Gesamtserum sowie in den Lipoproteinklassen, die mit Hilfe der Dichtegradientenzentrifugation getrennt wurden, durch einen ApoE-Elisa bestimmt.

Die Patienten mit gemischter HLP hatten gegenüber den anderen Fettstoffwechselgruppen signifikant erhöhte ApoE-Massenspiegel im Gesamtserum und in der HDL.

Die Patienten mit pathologischem OGTT wiesen in den ersten Fraktionen, die in den Dichtegradienten die LDL repräsentieren (Fraktion 11, 12, 13), höhere Cholesterinspiegel auf als die Patienten mit physiologischem OGTT. In Fraktion 12 waren diese Unterschiede signifikant.

Die Dichtegradientenzentrifugation macht es also möglich, die kleinen dichten LDL-Partikel, die als Risikofaktor für die Entwicklung einer Arteriosklerose angesehen werden, bei Patienten mit Diabetes mellitus bzw IGT zu erkennen. Sowohl der OGTT als auch die Dichtegradientenzentrifugation liefern prognostische Informationen bezüglich des Risikos, eine Arteriosklerose zu entwickeln und verbessern damit die Primär- und Sekundärprävention. Dies ist besonders für Diabetiker bzw. Patienten mit IGT wichtig, da sie ein vielfach erhöhtes Risiko aufweisen, eine Arteriosklerose zu entwickeln und an ihren Folgeerkrankungen zu sterben.

Die Patienten mit pathologischer Glukosetoleranz zeigten keine signifikanten Unterschiede in der ApoE-Massenverteilung, verglichen mit den im Glukosestoffwechsel gesunden Patienten.

In den ApoE-Genotyp-Gruppen waren die pathologischen OGTTs in keiner Gruppe signifikant gehäuft, die Dichtegradienten zeigten keine spezifischen Muster und die ApoE-Massenverteilung war in keiner der Gruppen signifikant unterschiedlich.

Die Daten dieser Arbeit zeigen, daß bei Patienten mit gemischter Hyperlipoproteinämie oder Hypertriglyceridämie der orale Glukosetoleranztest als Routine-Untersuchung, d.h. mit einer wesentlich umfassenderen Indikationsstellung als bisher durchgeführt werden sollte. Bei pathologischen OGTT sollte ein Dichtegradient durchgeführt werden, um zu klären, ob kleine dichte LDL-Partikel vorliegen. Eine Bestimmung der ApoE-Masse bei Diabetikern ist nach unseren Daten nicht routinemäßig angezeigt.

## VI. Abkürzungen

Abb	Abbildung
ADA	American Diabetes Association
Apo	Apolipoprotein
BMI	body-mass-index
CETP	Cholesterol-Ester-Transfer-Protein
CK	Creatinkinase
DCCT	Diabetes Control and Complication Study
DM	Diabetes Mellitus
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GOT	Glutamat-Oxalat-Dehydrogenase
GPT	Glutamat-Pyrovat-Dehydrogenase
HDL	high density lipoprotein
HLP	Hyperlipoproteinämie
HTG	Hypertriglyceridämie
IGT	impaired glucose tolerance
IDL	intermediate density lipoprotein
IFG	impaired fasting glucose
KBr	Kaliumbromid
KHK	Koronare Herzkrankheit
LCAT	Lecithin-Cholesterol-Acetyltransferase
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	low density lipoprotein
Lp(a)	Lipoprotein(a)
LPL	Lipoproteinlipase
LRP	LDL-rezeptor-related protein
MCH	mittlerer korpuskulärer Hämoglobingehalt
MCV	mittleres korpuskuläres Volumen
MRFIT	Multiple Risk Factor Intervention Trial
NIDDM	Non Insulin Dependent Diabetes mellitus
OGTT	Orales Glukose Toleranztest

RHS	Retikuläres Histozytäres System
Tab	Tabelle
TG	Triglyceride
TRL	Triglyceridreiche Lipoproteine
UKPDS	United Kingdom Prospective Diabetes Study
VLDL	very low density lipoprotein
WHO	World Health Organisation

## VII. Referenzen

Acton S, Rigotti A, Landschulz KT, Xu S, Hobbs HH, Krieger M. Identification of scavenger receptor SR-BI as a high density lipoprotein receptor [see comments]. *Science* 1996;271:518-20.

Aggerbeck LP, Wetterau JR, Weisgraber KH, Wu CS, Lindgren FT. Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. II. Properties of the amino- and carboxyl-terminal domains. *J.Biol.Chem.* 1988;263:6249-58.

Alberti KG, Zimmet PZ. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus provisional report of a WHO consultation. *Diabet.Med.* 1998;15:539-53.

Alper J. Biomedicine. New insights into type 2 diabetes [news]. *Science* 2000;289:37-39.

American Diabetes Association: Physicians guide to Non-Insulin-Dependent (Type 2) Diabetes mellitus: Diagnosis and Treatment, 2<sup>nd</sup> ed. VA, Amer. Diabetes Ass., Alexandria 1989.

American Diabetes Association: Detection and management of Lipid disorders in diabetes. *Diabetes care* 16 (1993) 828-834

Anonymous. Effect of intensive diabetes management on macrovascular events and risk factors in the diabetes control and complications trial. *Am.J.Cardiol.* 1995.

Anonymous. Intensive blood-glucose control with suphonylureas or insulin compared with conventional treated and risk of complications in patients with type 2 Diabetes. *Lancet* 1998;837-53.

Assmann G, Schulte H. Diabetes mellitus and hypertension in the elderly: concomitant hyperlipidemia and coronary heart disease risk. *Am.J Cardiol.* 1989;63:33H-7H.

Austin MA. Plasma triglyceride and coronary heart disease. *Arterioscler.Thromb.* 1991;11:2-14.

Austin MA, Newman B, Selby JV, Edwards K, Mayer EJ, Krauss RM. Genetics of LDL subclass phenotypes in women twins. Concordance, heritability, and commingling analysis. *Arterioscler.Thromb.* 1993;13:687-95.

Austin MA. Small, dense low-density lipoprotein as a risk factor for coronary heart disease. *Int.J Clin Lab Res.* 1994;24:187-92.

Bainton D, Miller NE, Bolton CH, Yarnell JW, Sweetnam PM, Baker IA *et al.* Plasma triglyceride and high density lipoprotein cholesterol as predictors of ischaemic heart disease in British men. The Caerphilly and Speedwell Collaborative Heart Disease Studies. *Br.Heart J.* 1992;68:60-66.

Barakat HA, Carpenter JW, McLendon VD, Khazanie P, Leggett N, Heath J *et al.* Influence of obesity, impaired glucose tolerance, and NIDDM on LDL structure and composition. Possible link between hyperinsulinemia and atherosclerosis. *Diabetes* 1990;39:1527-33.

Beisiegel U, Weber W, Ihrke G, Herz J, Stanley KK. The LDL-receptor-related protein, LRP, is an apolipoprotein E-binding protein. *Nature* 1989;341:162-64.

Beisiegel U, Krapp A, Weber W, Olivecrona G. The role of alpha 2M receptor/LRP in chylomicron remnant metabolism. *Ann.N.Y.Acad.Sci.* 1994;737:53-69.

- Betteridge, D.J. Lipids and atherogenesis in diabetes mellitus. *Atherosclerosis*. 1996; 124:43-44
- Borch-Johnsen K, Andersen PK, Deckert T. The effect of proteinuria on relative mortality in type 1 (insulin- dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia* 1985;28:590-96.
- Boyles JK, Pitas RE, Wilson E, Mahley RW, Taylor JM. Apolipoprotein E associated with astrocytic glia of the central nervous system and with nonmyelinating glia of the peripheral nervous system. *J.Clin.Invest* 1985;76:1501-13.
- Breckenridge WC, Little JA, Steiner G, Chow A, Poapst M. Hypertriglyceridemia associated with deficiency of apolipoprotein C-II. *N.Engl.J.Med.* 1978;298:1265-73.
- Brown MS, Goldstein JL. Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu.Rev.Biochem.* 1983;52:223-61.
- Brownlee M, Vlassara H, Cerami A. Nonenzymatic glycosylation products on collagen covalently trap low- density lipoprotein. *Diabetes* 1985;34:938-41.
- Dallongeville J, Lussier-Cacan S, Davignon J. Modulation of plasma triglyceride levels by apoE phenotype: a meta- analysis. *J.Lipid Res.* 1992;33:447-54.
- Davignon J, Roederer G. [Phenotype of apolipoprotein E, hyperlipidemia and atherosclerosis]. *Union Med.Can.* 1988;117:56-61.
- Davis BR, Cutler JA, Gordon DJ, Furberg CD, Wright JT, Jr., Cushman WC *et al.* Rationale and design for the Antihypertensive and Lipid Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT). ALLHAT Research Group [see comments]. *Am.J Hypertens.* 1996;9:342-60.

de Knijff P, van den Maagdenberg AM, Boomsma DI, Stalenhoef AF, Smelt AH, Kastelein JJ *et al.* Variable expression of familial dysbetalipoproteinemia in apolipoprotein E\*2 (Lys146-->Gln) Allele carriers. *J.Clin.Invest* 1994;94:1252-62.

Ebenbichler CF, Kirchmair R, Egger C, Patsch JR. Postprandial state and atherosclerosis. *Curr.Opin.Lipidol.* 1995;6:286-90.

Ehnholm C, Lukka M, Kuusi T, Nikkila E, Utermann G. Apolipoprotein E polymorphism in the Finnish population: gene frequencies and relation to lipoprotein concentrations. *J.Lipid Res.* 1986;27:227-35.

Eisenberg S. Very-low density lipoprotein metabolism. *Prog.Biochem.Pharmacol.* 1979;15:139-65.

Expert Committee on th Diagnosis and Classification of Diabetes mellitus. Report of the Expert Committee on the Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 1997;20:1183-97.

Fontbonne A, Eschwege E, Cambien F, Richard JL, Ducimetiere P, Thibault N *et al.* Hypertriglyceridaemia as a risk factor of coronary heart disease mortality in subjects with impaired glucose tolerance or diabetes. Results from the 11-year follow-up of the Paris Prospective Study. *Diabetologia* 1989;32:300-04.

Ginsberg HN. Diabetic dyslipidemia: basic mechanisms underlying the common hypertriglyceridemia and low HDL cholesterol levels. *Diabetes* 1996;45 Suppl 3:S27-S30.

Gofman JW, DeLalla O, Glazier F, Freeman NK, Lindgren FT, Nichols AV, Strisower B, Tamplin AR (1954). The serum lipoprotein transport system in health, metabolic disorders, atherosclerosis and coronary heart disease. *Plasma* 2:413

Goldstein JL, Brown MS. Atherosclerosis: the low-density lipoprotein receptor hypothesis. *Metabolism* 1977;26:1257-75.

Gotto AM, Jr., Pownall HJ, Havel RJ. Introduction to the plasma lipoproteins. *Methods Enzymol.* 1986;128:3-41.

Graier WF, Kostner GM. Glycated low-density lipoprotein and atherogenesis: the missing link between diabetes mellitus and hypercholesterolaemia? *Eur.J Clin Invest* 1997;27:457-59.

Gray RS, Robbins DC, Wang W, Yeh JL, Fabsitz RR, Cowan LD *et al.* Relation of LDL size to the insulin resistance syndrome and coronary heart disease in American Indians. The Strong Heart Study. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:2713-20.

Grundy SM. Oxidized LDL and atherogenesis: relation to risk factors for coronary heart disease. *Clin Cardiol.* 1993;16:I3-I5.

Gu K, Cowie CC, Harris MI. Diabetes and decline in heart disease mortality in US adults [see comments]. *JAMA* 1999;281:1291-97.

Ha SK, Park HS, Kim KW, Kim SJ, Kim DH, Kim JH *et al.* Association between apolipoprotein E polymorphism and macroalbuminuria in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *Nephrol.Dial.Transplant.* 1999;14:2144-49.

Hamosh M, Klaeveman HL, Wolf RO, Scow RO. Pharyngeal lipase and digestion of dietary triglyceride in man. *J.Clin.Invest* 1975;55:908-13.

Hamsten A, Walldius G, Dahlen G, Johansson B, de Faire U. Serum lipoproteins and apolipoproteins in young male survivors of myocardial infarction. *Atherosclerosis* 1986;59:223-35.

Hanefeld. Diabetes Mellitus und Dyslipoproteinämien. In: Schwandt/Richter Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. Schattauer, Stuttgart New York 1995, S 286f.

Harris MI. Hypercholesterolemia in diabetes and glucose intolerance in the U.S. population. *Diabetes Care* 1991;14:366-74.

Havel RJ EHB. The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipoproteins in human serum. *J Clin Invest* 1955;1345-53.

Havel RJ, Kane JP, Kashyap ML. Interchange of apolipoproteins between chylomicrons and high density lipoproteins during alimentary lipemia in man. *J.Clin.Invest* 1973;52:32-38.

Havel RJ. Postprandial hyperlipidemia and remnant lipoproteins. *Curr.Opin.Lipidol.* 1994;5:102-09.

Herz J, Goldstein JL, Strickland DK, Ho YK, Brown MS. 39-kDa protein modulates binding of ligands to low density lipoprotein receptor-related protein/alpha 2-macroglobulin receptor. *J Biol.Chem.* 1991;266:21232-38.

Hiramatsu K, Bierman EL, Chait A. Metabolism of low-density lipoprotein from patients with diabetic hypertriglyceridemia by cultured human skin fibroblasts. *Diabetes* 1985;34:8-14.

Howard BV. Lipoprotein metabolism in diabetes mellitus. *J Lipid Res.* 1987;28:613-28.

Hsueh WA, Anderson PW. Systemic hypertension and the renin-angiotensin system in diabetic vascular complications. *Am.J Cardiol.* 1993;72:14H-21H.

Huff MW, Evans AJ, Wolfe BM, Connelly PW, Maguire GF, Strong WL. Identification and metabolic characteristics of an apolipoprotein C-II variant isolated from a hypertriglyceridemic subject. *J.Lipid Res.* 1990;31:385-96.

Inamdar PA, Kelkar SM, Devasagayam TP, Bapat MM. Apolipoprotein E polymorphism in non-insulin-dependent diabetics of Mumbai, India and its effect on plasma lipids and lipoproteins. *Diabetes Res.Clin Pract.* 2000;47:217-23.

Jarrett RJ, McCartney P, Keen H. The Bedford survey: ten year mortality rates in newly diagnosed diabetics, borderline diabetics and normoglycaemic controls and risk indices for coronary heart disease in borderline diabetics. *Diabetologia* 1982;22:79-84.

Kannel WB, D'Agostino RB, Wilson PW, Belanger AJ, Gagnon DR. Diabetes, fibrinogen, and risk of cardiovascular disease: the Framingham experience. *Am.Heart J* 1990;120:672-76.

Katz RJ, Ratner RE, Cohen RM, Eisenhower E, Verme D. Are insulin and proinsulin independent risk markers for premature coronary artery disease ? *Diabetes* 1996;45:736-41.

Kawamura M, Heinecke JW, Chait A. Pathophysiological concentrations of glucose promote oxidative modification of low density lipoprotein by a superoxide-dependent pathway. *J Clin Invest* 1994;94:771-78.

Keen H, Jarrett RJ. The WHO multinational study of vascular disease in diabetes: 2. Macrovascular disease prevalence. *Diabetes Care* 1979;2:187-95.

Kimmerle R, Fettstoffwechselstörungen bei Diabetes Mellitus. In: Berger M, Diabetes mellitus Urban und Schwarzenberg, (1995), München, Wien, Baltimore, s.575.. 1995.

Kolb, H Diabetes. In: Gemsa D, Kalden JR, Resch (Hrsg): Immunologie. Grundlagen, Klinik, Praxis, Thieme, Stuttgart-New York 1990, S503-511.

Kostner GM, Karadi I. Lipoprotein alterations in diabetes mellitus. *Diabetologia* 1988;31:717-22.

Kraemer FB. Insulin deficiency alters cellular cholesterol metabolism in murine macrophages. *Diabetes* 1986;35:764-70.

Kreisberg RA. Diabetic dyslipidemia. *Am.J Cardiol.* 1998;82:67U-73U.

Krolewski AS, Kosinski EJ, Warram JH, Leland OS, Busick EJ, Asmal AC *et al.* Magnitude and determinants of coronary artery disease in juvenile-onset, insulin-dependent diabetes mellitus. *Am.J.Cardiol.* 1987;59:750-55.

Kunitake ST, Mendel CM, Hennessy LK. Interconversion between apolipoprotein A-I-containing lipoproteins of pre-beta and alpha electrophoretic mobilities. *J.Lipid Res.* 1992;33:1807-16.

Laakso M, Pyorala K. Plasma lipids and lipoproteins in diabetes: lessons from population-based studies. *J.Diabet.Complications* 1990;4:39-41.

Laakso M, Lehto S, Penttila I, Pyorala K. Lipids and lipoproteins predicting coronary heart disease mortality and morbidity in patients with non-insulin-dependent diabetes [see comments]. *Circulation* 1993;88:1421-30.

Lahdenpera S, Sane T, Vuorinen-Markkola H, Knudsen P, Taskinen MR. LDL particle size in mildly hypertriglyceridemic subjects: no relation to insulin resistance or diabetes. *Atherosclerosis* 1995;113:227-36.

Lanfredini M, Fiorina P, Peca MG, Veronelli A, Mello A, Astorri E *et al.* Fasting and post-methionine load homocyst(e)ine values are correlated with microalbuminuria and could contribute to worsening vascular damage in non-insulin-dependent diabetes mellitus patients. *Metabolism* 1998;47:915-21.

Lauer SJ, Walker D, Elshourbagy NA, Reardon CA, Levy-Wilson B, Taylor JM. Two copies of the human apolipoprotein C-I gene are linked closely to the apolipoprotein E gene. *J.Biol.Chem.* 1988;263:7277-86.

Li WH, Tanimura M, Luo CC, Datta S, Chan L. The apolipoprotein multigene family: biosynthesis, structure, structure- function relationships, and evolution. *J.Lipid Res.* 1988;29:245-71.

Lyons TJ, Klein RL, Baynes JW, Stevenson HC, Lopes-Virella MF. Stimulation of cholesteryl ester synthesis in human monocyte-derived macrophages by low-density

lipoproteins from type 1 (insulin-dependent) diabetic patients: the influence of non-enzymatic glycosylation of low-density lipoproteins. *Diabetologia* 1987;30:916-23.

Lyons TJ. Lipoprotein glycation and its metabolic consequences. *Diabetes* 1992;41 Suppl 2:67-73.

Lyons TJ, in Draznin B EReDaAAE. Glycation related mechanisms. 1993. p. 169-90.

Mahley RW, Hui DY, Innerarity TL, Beisiegel U. Chylomicron remnant metabolism. Role of hepatic lipoprotein receptors in mediating uptake. *Arteriosclerosis* 1989;9:114-118.

Mann CJ, Yen FT, Grant AM, Bihain BE. Mechanism of plasma cholesteryl ester transfer in hypertriglyceridemia. *J Clin Invest* 1991;88:2059-66.

Mann, WA. Die Bedeutung von Apolipoprotein E im Metabolismus triglyceridreicher Lipoproteine bei Hyperlipoproteinämie und Diabetes Mellitus. 1998  
Habilitationsschrift, Universität Hamburg

Marais AD. Therapeutic modulation of low-density lipoprotein size. *Curr.Opin.Lipidol.* 2000;11:597-602.

Metcalf PA, Scragg RK. Comparison of WHO and ADA criteria for diagnosis of glucose status in adults. *Diabetes Res.Clin Pract.* 2000;49:169-80.

Miller NE. Cholesterol in ischaemic heart disease [letter; comment]. *BMJ* 1989;298:1450.

Misra A, Reddy RB, Reddy KS, Mohan A, Bajaj JS. Clustering of impaired glucose tolerance, hyperinsulinemia and dyslipidemia in young north Indian patients with coronary heart disease: a preliminary case-control study. *Indian Heart J* 1999;51:275-80.

Murray CJ, Lopez AD. Evidence-based health policy--lessons from the Global Burden of Disease Study [see comments]. *Science* 1996;274:740-43.

Nordestgaard BG, Zilversmit DB. Large lipoproteins are excluded from the arterial wall in diabetic cholesterol-fed rabbits. *J Lipid Res.* 1988;29:1491-500.

Nordestgaard BG, Nielsen LB. Atherosclerosis and arterial influx of lipoproteins. *Curr.Opin.Lipidol.* 1994;5:252-57.

Olivecrona G, Beisiegel U. Lipid binding of apolipoprotein CII is required for stimulation of lipoprotein lipase activity against apolipoprotein CII-deficient chylomicrons. *Arterioscler.Thromb.Vasc.Biol.* 1997;17:1545-49.

Packard C, Caslake M, Shepherd J. The role of small, dense low density lipoprotein (LDL): a new look. *Int.J Cardiol.* 2000;74 Suppl 1:S17-S22.

Packard CJ, Munro A, Clegg RJ, Shepherd J. Metabolic channelling of apolipoprotein B in very low density lipoprotein. *Agents Actions Suppl* 1984;16:115-20.

Patsch JR, Prasad S, Gotto AM, Jr., Bengtsson-Olivecrona G. Postprandial lipemia. A key for the conversion of high density lipoprotein2 into high density lipoprotein3 by hepatic lipase. *J Clin Invest* 1984;74:2017-23.

Patsch JR, Miesenbock G, Hopferwieser T, Muhlberger V, Knapp E, Dunn JK *et al.*

Relation of triglyceride metabolism and coronary artery disease. Studies in the postprandial state. *Arterioscler.Thromb.* 1992;12:1336-45.

Reaven GM. Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 1988;37:1595-607.

Ruigomez A., Garcia Rodriguez, L.A. Presence of diabetes related complication at the time of NIDDM diagnosis: an important prognostic factor. *Eur.J Epidemiol* 1998,14: 439-445.

Sartor G, Schersten B, Carlstrom S, Melander A, Norden A, Persson G. Ten-year follow-up of subjects with impaired glucose tolerance: prevention of diabetes by tolbutamide and diet regulation. *Diabetes* 1980;29:41-49.

Schneeman BO, Kotite L, Todd KM, Havel RJ. Relationships between the responses of triglyceride-rich lipoproteins in blood plasma containing apolipoproteins B-48 and B-100 to a fat- containing meal in normolipidemic humans. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1993;90:2069-73.

Shuvaev, V.V.; Fujii, J.; Kawasaki, Y.; Itoh, H.; Hamaoka, R.; Barbier, A. *et al* Glycation of apolipoprotein E impairs its binding to heparin: identification of the major glycation site. *Biochim.Biophys.Acta* 1999;1454:296-308

Simpson HS, Williamson CM, Olivecrona T, Pringle S, Maclean J, Lorimer AR *et al.* Postprandial lipemia, fenofibrate and coronary artery disease. *Atherosclerosis* 1990;85:193-202.

Slyper AH. Low-density lipoprotein density and atherosclerosis. Unraveling the connection. *JAMA* 1994;272:305-08.

Standl E, Janka HU. High serum insulin concentrations in relation to other cardiovascular risk factors in macrovascular disease of type 2 diabetes. *Horm.Metab Res.Suppl* 1985;15:46-51.

Starke A.A.R 1995. Pathophysiologie, Pathogenese und Genetik des Stoffwechselsyndroms des Typ 2 Diabetes. In: Berger M Diabetes Mellitus. Urban und Schwarzenberg, München, Wien, Baltimore, S. 215f.

Steinbrecher UP, Witztum JL. Glucosylation of low-density lipoproteins to an extent comparable to that seen in diabetes slows their catabolism. *Diabetes* 1984;33:130-34.

Steiner G. Diabetes and atherosclerosis--a lipoprotein perspective. *Diabet.Med.* 1997;14 Suppl 3:S38-S44.

Stengard JH, Zerba KE, Pekkanen J, Ehnholm C, Nissinen A, Sing CF. Apolipoprotein E polymorphism predicts death from coronary heart disease in a longitudinal study of elderly Finnish men. *Circulation* 1995;91:265-69.

Takahashi S, Kawarabayasi Y, Nakai T, Sakai J, Yamamoto T. Rabbit very low density lipoprotein receptor: a low density lipoprotein receptor-like protein with distinct ligand specificity. *Proc.Natl.Acad.Sci.U.S.A* 1992;89:9252-56.

Tall AR. Plasma cholesteryl ester transfer protein. *J.Lipid Res.* 1993;34:1255-74.

Tan KC, Cooper MB, Ling KL, Griffin BA, Freeman DJ, Packard CJ *et al.* Fasting and postprandial determinants for the occurrence of small dense LDL species in non-insulin-dependent diabetic patients with and without hypertriglyceridaemia: the involvement of insulin, insulin precursor species and insulin resistance. *Atherosclerosis* 1995;113:273-87.

Taskinen MR, Lahdenpera S, Syvanne M. New insights into lipid metabolism in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Ann.Med.* 1996;28:335-40.

Tiret L, de Knijff P, Menzel HJ, Ehnholm C, Nicaud V, Havekes LM. ApoE polymorphism and predisposition to coronary heart disease in youths of different European populations. The EARS Study. European Atherosclerosis Research Study. *Arterioscler.Thromb.* 1994;14:1617-24.

Tominaga M. [Diagnostic criteria for diabetes mellitus]. *Rinsho Byori* 1999;47:901-08.

Tsuzuki S, Murano T, Watanabe H, Itoh Y, Miyashita Y, Shirai K. [The examination of apoE phenotypes in diabetic patients with peripheral neuropathy]. *Rinsho Byori* 1998;46:829-33.

Utermann G, Hees M, Steinmetz A. Polymorphism of apolipoprotein E and occurrence of dysbetalipoproteinaemia in man. *Nature* 1977;269:604-07.

Utermann G, Langenbeck U, Beisiegel U, Weber W. Genetics of the apolipoprotein E system in man. *Am.J.Hum.Genet.* 1980;32:339-47.

Utermann G, Steinmetz A, Weber W. Genetic control of human apolipoprotein E polymorphism: comparison of one- and two-dimensional techniques of isoprotein analysis. *Hum.Genet.* 1982;60:344-51.

Warram JH, Sigal RJ, Martin BC, Krolewski AS, Soeldner JS. Natural history of impaired glucose tolerance: follow-up at Joslin Clinic. *Diabet.Med.* 1996;13:S40-S45.

Weisgraber KH, Mahley RW, Kowal RC, Herz J, Goldstein JL, Brown MS.

Apolipoprotein C-I modulates the interaction of apolipoprotein E with beta-migrating

very low density lipoproteins (beta-VLDL) and inhibits binding of beta-VLDL to low density lipoprotein receptor-related protein. *J.Biol.Chem.* 1990;265:22453-59.

Werle E, Fiehn W, Hasslacher C. Apolipoprotein E polymorphism and renal function in German type 1 and type 2 diabetic patients. *Diabetes Care* 1998;21:994-98.

Wetterau JR, Aggerbeck LP, Rall SC, Jr., Weisgraber KH. Human apolipoprotein E3 in aqueous solution. I. Evidence for two structural domains. *J.Biol.Chem.* 1988;263:6240-48.

WHO/46 press release. Obesity Epidemic puts millions at risk from related diseases. 1997, [www.who.int/archives/inf-pr-1997/en/pr97-46.html](http://www.who.int/archives/inf-pr-1997/en/pr97-46.html)

Ref Type: Internet Communication

Windler E, Havel RJ. Inhibitory effects of C apolipoproteins from rats and humans on the uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants by the perfused rat liver. *J.Lipid Res.* 1985;26:556-65.

Zannis VI, Breslow JL, Utermann G, Mahley RW, Weisgraber KH, Havel RJ *et al.* Proposed nomenclature of apoE isoproteins, apoE genotypes, and phenotypes. *J.Lipid Res.* 1982;23:911-14.

## VI.Anhang

**Tabelle 10b: p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs der  
LDL-Fraktionen 14-16**

Fraktion	Gruppe A gegen B	Gruppe A gegen C	Gruppe A gegen D	Gruppe B gegen C	Gruppe B gegen D	Gruppe C gegen D
14 (mg/dl)	*0,00127	0,177	0,331	*0,0027	0,014	0,8501
15 (mg/dl)	*0,00079	0,0259	0,3085	*0,0017	0,089	0,7054
16 (mg/dl)	0,0217	*0,0062	0,2288	*0,0017	0,089	0,2568

Tabelle 10b zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs der LDL-Fraktionen. Signifikante p-Werte sind mit „\*“ markiert.

**Tabelle 11b: p-Niveau der ApoE-Massenverteilung in den HLP-Gruppen**

Fraktion	Gruppe A gegen B	Gruppe A gegen C	Gruppe A gegen D	Gruppe B gegen C	Gruppe B gegen D	Gruppe C gegen D
ApoE-Gesamt (µl/ml)	0,1456	0,0339	0,0636	0,1986	0,1859	0,6698
HDL-E (µl/ml)	0,0062	0,0064	0,2739	0,5677	0,5707	0,3938

Tabelle 11b zeigt das p-Niveau des paarweisen Gruppenvergleichs der ApoE-Masse in den HLP-Gruppen.

**Tabelle 22: Triglyceride in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Kontrolle	p-Niveau
	n = 39	n = 7	n = 7	n=4	
4 (mg/dl)	19,3 ±19,2	18,9 ±11,5	14,7 ±8,6	10,3 ±10,3	0,197
5 (mg/dl)	18,5 ±15,2	12,6 ±8,6	20,0 ±15,6	13,0 ±14,0	0,731
6 (mg/dl)	25,4 ±19,7	20,3 ±8,8	19,9 ±8,4	19,8 ±22,4	0,961
7 (mg/dl)	28,3 ±18,1	28,0 ±9,8	29,6 ±17,4	28,8 ±31,6	0,914
8 (mg/dl)	22,1 ±17,2	27,3 ±5,5	21,8 ±22,3	24,8 ±25,8	0,144
9 (mg/dl)	14,2 ±18,1	23,1 ±10,1	14,7 ±21,8	10,8 ±12,3	0,165

Tabelle 22 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 4-9 der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Test.

**Tabelle 23: Triglyceride in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Kontrolle	p-Niveau
	n = 39	n = 7	n = 7	n=7	
10 (mg/dl)	11,9 ±16,3	18,4 ±9,8	6,0 ±8,9	5,0 ±5,6	0,165
11 (mg/dl)	16,1 ±15,1	15,3 ±10,7	12,1 ±13,6	8,0 ±9,4	0,31
12 (mg/dl)	30,4 ±21,8	18,4 ±12,9	25,0 ±15,5	30,3 ±27,4	0,22
13 (mg/dl)	45,7 ±53,6	34,3 ±24,5	24,1 ±14,5	25,8 ±22,2	0,446
14 (mg/dl)	41,5 ±55,9	50,9 ±20,1	20,6 ±12,8	25,5 ±19,6	0,118
15 (mg/dl)	30,3 ±26,4	42,1 ±15,1	13,6 ±8,4	23,0 ±15,8	0,009
16 (mg/dl)	26,6 ±18,4	31,0 ±12,5	11,0 ±9,3	19,5 ±16,8	0,125
17 (mg/dl)	25,2 ±16,0	26,3 ±9,4	10,3 ±8,9	16,5 ±15,8	0,043
18 (mg/dl)	23,3 ±16,3	20,6 ±10,9	8,0 ±7,8	17,0 ±13,2	0,049
19 (mg/dl)	24,5 ±19,7	21,1 ±10,1	11,4 ±9,2	21,5 ±10,2	0,747

Tabelle 23 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 24 Cholesterin in Fraktionen 20-23 (VLDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Kontrolle	p-Niveau
	n = 39	n = 7	n = 7	n=4	
20 (mg/dl)	23,2 ±15,8	24,6 ±16,0	9,3 ±12,7	14,0 ±1,4	0,041
21 (mg/dl)	26,0 ±16,9	30,1 ±24,5	11,1 ±11,0	20,3 ±12,2	0,282
22 (mg/dl)	83,9 ±90,2	70,7 ±73,5	40,4 ±33,5	66,3 ±35,6	0,644
23 (mg/dl)	169,1 ±101,4	94,7 ±65,7	152,9 ±147,8	120,3 ±135,2	0,043

Tabelle 24 zeigt Mittelwert und Standardabweichung vom Cholesterin in Fraktionen 20-23 (VLDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 25: Triglyceride in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe A gem. HLP	Gruppe B Hypercholesterin- ämie	Gruppe C Hypertriglycerid- ämie	Gruppe D Kontrolle	p-Niveau
	n = 39	n = 7	n = 7	n=4	
20 (mg/dl)	23,7 ±15,1	20,1 ±9,8	11,6 ±6,8	16,3 ±14,9	0,267
21 (mg/dl)	51,0 ±37,8	49,3 ±33,3	51,3 ±55,7	57,5 ±42,1	0,731
22 (mg/dl)	298,2 ±400,9	214,1 ±178,6	245,4 ±187,9	258,5 ±146,6	0,961
23 (mg/dl)	692,8 ±401,5	353,4 ±209,3	770,7 ±566,1	572,3 ±711,8	0,107

Tabelle 25 zeigt Mittelwerte und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 26: Cholesterin in den Lipoproteinklassen**

Lipoproteinklasse	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n=27	n=30	
HDL (mg/dl)	41,0 ±13,6	42,6 ±15,4	0,696
LDL (mg/dl)	157,3 ±74,6	167,9 ±78,8	0,869
IDL (mg/dl)	44,4 ±35,5	57,1 ±33,8	0,157
VLDL (mg/dl)	108,4 ±95,0	83,4 ±49,4	0,633

Tabelle 26 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Cholesterinspiegel in den Lipoproteinklassen. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 27: Triglyceride in den Lipoproteinklassen**

Lipoproteinklasse	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n=27	n=30	
HDL (mg/dl)	26,7 ±16,7	24,5 ±13,1	0,709
LDL (mg/dl)	31,5 ±17,5	41,3 ±47,5	0,633
IDL (mg/dl)	19,2 ±14,6	25,6 ±17,3	0,274
VLDL (mg/dl)	418,8 ± 404,5	313,6 ±169,8	0,579

Tabelle 27 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in den Lipoproteinklassen. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 28: Cholesterin in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F+ F2 pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n=30	
4 (mg/dl)	20,3 ±11,4	25,9 ±13,7	0,041
5 (mg/dl)	24,5 ±13,9	29,0 ±12,4	0,172
6 (mg/dl)	36,3 ±14,4	37,9 ±14,8	0,509
7 (mg/dl)	47,2 ±17,4	47,0 ±19,1	0,922
8 (mg/dl)	37,5 ±16,9	39,8 ±21,9	0,789
9 (mg/dl)	27,5 ±18,3	29,5 ±122,1	0,9

Tabelle 28 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den Fraktionen 4-9 (HDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 29: Triglyceride in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F+ F2 pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n=30	
4 (mg/dl)	19,4 ±22,8	16,8 ±9,3	0,567
5 (mg/dl)	17,6 ±17,8	17,5 ±10,8	0,642
6 (mg/dl)	26,1 ±23,7	21,5 ±9,8	0,844
7 (mg/dl)	29,4 ±20,9	27,7 ±15,2	0,979
8 (mg/dl)	25,1 ±18,6	21,2 ±16,0	0,437
9 (mg/dl)	15,1 ±16,4	15,2 ±18,3	0,796

Tabelle 29 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 30: Triglyceride in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n = 30	
10 (mg/dl)	11,8 ±13,8	11,2 ±15,3	0,721
11 (mg/dl)	13,6 ±15,0	15,9 ±13,2	0,33
12 (mg/dl)	24,8 ±23,1	30,8 ±18,0	0,129
13 (mg/dl)	31,2 ±23,7	47,1 ±57,2	0,228
14 (mg/dl)	32,0 ±18,7	44,3 ±61,2	0,741
15 (mg/dl)	27,1 ±14,6	30,8 ±29,4	0,714
16 (mg/dl)	22,3 ±14,3	26,5 ±19,5	0,532
17 (mg/dl)	20,8 ±11,5	24,3 ±17,7	0,775
18 (mg/dl)	16,7 ±12,6	23,6 ±16,6	0,235
19 (mg/dl)	17,6 ±11,3	25,8 ±20,6	0,138

Tabelle 30 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 31: Cholesterin in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n=30	
20 (mg/dl)	19,6 ±15,7	21,9 ±15,3	0,555
21 (mg/dl)	24,0 ±20,3	24,3 ±15,4	0,079
22 (mg/dl)	83,4 ±108,3	68,3 ±45,6	0,308
23 (mg/dl)	160,9 ±113,0	147,3 ±103,9	0,555

Tabelle 31 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 32: Triglyceride in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe E physiologische OGTT	Gruppe F pathologische OGTT	p-Niveau
	n = 27	n=30	
20 (mg/dl)	18,1 ±12,2	23,6 ±15,1	0,362
21 (mg/dl)	49,3 ±42,8	53,0 ±36,5	0,296
22 (mg/dl)	316,0 ±475,9	245,0 ±159,1	0,381
23 (mg/dl)	692,1 ±482,7	613,7 ±434,8	0,503

Tabelle 32 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Mann-Whitney U-Tests.

**Tabelle 33: Cholesterin in Lipoproteinkassen**

Lipoproteinklasse	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE2-Allel	Gruppe I ApoE4-Allel	p-Niveau
	n=35	n=6	n=13	
HDL (mg/dl)	42,8 ±13,5	41,7 ±17,9	38,5 ±14,8	0,222
LDL (mg/dl)	177,4 ±70,9	128,7 ±83,5	168,9 ±67,1	0,222
IDL (mg/dl)	51,9 ±34,5	56,0 ±60,9	52,2 ±13,0	0,942
VLDL (mg/dl)	83,5 ±45,6	114,8 ±62,6	84,5 ±44,9	0,675

Tabelle 33 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den Lipoproteinklassen nach ApoE-Genotyp verglichen. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 34: Triglyceride in Lipoproteinklassen**

Lipoproteinklasse	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE2-Allel	Gruppe I ApoE4-Allel	p-Niveau
	n=35	n=6	n=13	
HDL (mg/dl)	25,3 ±15,0	17,4 ±7,7	25,4 ±9,9	0,675
LDL (mg/dl)	33,9 ±15,5	19,8 ±7,9	57,8 ±74,0	0,023
IDL (mg/dl)	20,7 ±12,6	12,6 ±10,7	33,8 ±21,2	0,021
VLDL (mg/dl)	338,1 ±189,2	367,6 ±146,6	307,2 ±165,2	0,675

Tabelle 34 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in den Lipoproteinklassen nach ApoE-Genotyp verglichen. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 35: Cholesterin in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n = 6	n = 13	
4 (mg/dl)	24,5 ±13,4	17,0 ±12,9	23,1 ±12,6	0,803
5 (mg/dl)	28,1 ±13,7	22,7 ±13,9	25,8 ±12,8	0,625
6 (mg/dl)	37,9 ±13,8	38,8 ±15,6	35,4 ±18,4	0,636
7 (mg/dl)	48,2 ±18,1	46,0 ±20,3	44,2 ±20,3	0,815
8 (mg/dl)	40,3 ±19,0	37,0 ±25,2	31,6 ±17,5	0,521
9 (mg/dl)	31,0 ±20,3	22,3 ±19,5	19,4 ±15,4	0,631

Tabelle 35 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den Fraktionen 4-9 (HDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 36: Triglyceride in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n = 6	n = 13	
4 (mg/dl)	16,4 ±16,1	9,3 ±6,5	27,4±21,0	0,038
5 (mg/dl)	18,3 ±16,0	7,7 ±6,9	18,9 ±10,2	0,05
6 (mg/dl)	23,7 ±20,4	15,0 ±6,3	25,9 ±9,7	0,113
7 (mg/dl)	28,1 ±19,7	21,5 ±10,1	29,6 ±13,5	0,584
8 (mg/dl)	22,5 ±17,6	16,3 ±13,4	21,7 ±10,7	0,521
9 (mg/dl)	13,9 ±15,8	19,6 ±28,6	15,9 ±11,4	0,118

Tabelle 36 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 4-9 (HDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt die p-Werte des Kruskal-Wallis Tests.

**Tabelle 37: Cholesterin in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n = 6	n = 13	
10 (mg/dl)	29,1 ±34,4	20,3 ±14,8	25,3 ±10,4	0,399
11 (mg/dl)	54,5 ±51,5	35,6 ±38,0	45,3 ±39,6	0,737
12 (mg/dl)	150,0 ±116,0	83,5 ±73,9	116,1 ±86,5	0,234
13 (mg/dl)	196,9 ±143,6	132,0 ±98,1	189,9 ±144,2	0,713
14 (mg/dl)	165,8 ±111,5	132,5 ±102,5	165,4 ±110,0	0,215
15 (mg/dl)	113,3 ±86,1	98,2 ±86,6	122,6 ±119,6	0,713
16 (mg/dl)	68,8 ±49,4	77,2 ±96,8	64,5 ±49,8	0,996
17 (mg/dl)	47,49 ±34,9	65,0 ±86,7	38,4 ±25,6	0,584
18 (mg/dl)	32,6 ±23,9	45,2 ±58,5	25,5 ±16,3	0,919
19 (mg/dl)	23,5 ±15,7	36,5 ±39,8	19,0 ±12,2	0,32

Tabelle 37 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt das p-Niveau des Kruskal-Wallis Test.

**Tabelle 38: Triglyceride in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n = 6	n = 13	
10 (mg/dl)	9,8 ±12,4	2,3 ±1,9	14,6 ±10,4	0,043
11 (mg/dl)	13,7 ±14,1	7,8 ±7,8	22,6 ±12,4	0,084
12 (mg/dl)	29,6 ±20,7	14,5 ±10,5	33,5 ±21,4	0,234
13 (mg/dl)	37,3 ±24,5	18,0 ±11,5	64,9 ±91,3	0,283
14 (mg/dl)	33,3 ±16,6	21,7 ±10,4	69,9 ±100,3	0,215
15 (mg/dl)	26,7 ±13,6	17,2 ±8,6	45,7 ±44,0	0,039
16 (mg/dl)	22,4 ±11,9	15,7 ±9,9	37,2 ±26,8	0,033
17 (mg/dl)	20,7 ±12,0	20,3 ±8,9	30,4 ±22,1	0,084
18 (mg/dl)	18,6 ±11,6	11,3 ±12,6	31,5 ±19,5	0,084
19 (mg/dl)	19,3 ±9,9	12,5 ±8,6	39,0 ±29,2	0,104

Tabelle 38 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 10-19 (LDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt das p-Niveau des Kruskal-Wallis Test.

**Tabelle 39: Cholesterin in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n = 6	n = 13	
20 (mg/dl)	20,8 ±13,1	29,5 ±29,6	17,9 ±11,3	0,345
21 (mg/dl)	24,2 ±17,7	33,3 ±37,2	18,5 ±10,5	0,358
22 (mg/dl)	72,3 ±63,9	68,0 ±62,0	55,9 ±58,9	0,399
23 (mg/dl)	147,1 ±100,5	183,2 ±123,8	121,4 ±43,4	0,636

Tabelle 39 zeigt Mittelwert und Standardabweichung des Cholesterins in den Fraktionen 20-23 (VLDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt das p-Niveau des Kruskal-Wallis Test.

**Tabelle 40: Triglyceride in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich)**

Fraktion	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE-2-Allel	Gruppe I ApoE-4-Allel	p-Niveau
	n = 35	n = 6	n = 13	
20 (mg/dl)	19,5 ±10,9	16,4 ±11,9	30,3 ±19,2	0,512
21 (mg/dl)	49,5 ±35,5	60,6 ±64,0	61,8 ±53,4	0,562
22 (mg/dl)	267,7 ±244,6	425,0 ±688,2	348,8 ±583,3	0,059
23 (mg/dl)	647,1 ±461,5	857,4 ±588,5	638,3 ±515,6	0,32

Tabelle 40 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der Triglyceride in Fraktion 20-23 (VLDL-Bereich) der Dichtegradienten. Die letzte Spalte zeigt das p-Niveau des Kruskal-Wallis Test.

**Tabelle 41: ApoE-Massenverteilung in den ApoE-Genotypgruppen**

Parameter	Gruppe G ApoE 3/3	Gruppe H ApoE 2-Allel	Gruppe I ApoE 4-Allel	p-Niveau
	n=35	n=6	n=13	
ApoE-Gesamt (µl/ml)	99,4 ±55,3	123,7 ±105,9	117,6 ±98,1	0,630
HDL-E (µl/ml)	15,3 ±13,1	15,0 ±13,6	15,7 ±22,0	0,374
LDL-E (µl/ml)	2,0 ±1,7	2,1 ±1,7	2,6 ±3,9	0,965
IDL-E (µl/ml)	2,5 ±3,7	6,4 ±7,0	2,7 ±2,2	0,701
VLDL-E (µl/ml)	18,4 ±12,9	16,9 ±17,8	22,6 ±16,4	0,198

Tabelle 41 zeigt Mittelwert und Standardabweichung der ApoE-Masse in den ApoE-Genotypgruppen. Die letzte Spalte zeigt das p-Niveau des Kruskal-Wallis Tests.

## **8. Danksagung**

Frau Prof. Dr. U. Beisiegel danke ich für die freundliche Überlassung des Themas und die ausgezeichnete Betreuung. Ganz herzlich möchte ich mich für die technische Unterstützung bei allen Mitarbeitern ihres Labors bedanken.

PD Dr. A. Mann danke ich für die hervorragende wissenschaftliche Betreuung und die gute Zusammenarbeit.

Den Mitarbeitern des Instituts für Mathematik und Datenverarbeitung in der Medizin (Leiter: Prof. Dr. J. Berger) danke ich für die Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Ferner gilt mein Dank den Patienten und Probanden, die an dieser Studie teilgenommen haben.

## Lebenslauf

Name: Carsten Wienbeck  
Wohnort: Lohkoppelstraße 20 b  
22083 Hamburg  
Tel. 040/2995995

Geburtstag: 20.02.1973  
Geburtsort: Hamburg (Marienkrankenhaus)  
Nationalität: deutsch

Schulbildung: 1979-1983 Grundschule  
1983-1992 Gymnasium  
05.06.1992 Abitur

Studium an der  
Universität Hamburg: 1992-1994 Vorklinisches Studium  
1994 Physikum  
1995 Erstes Staatsexamen  
1997/1998 Forschungsaufenthalt an der  
Universität Helsinki, Finnland,  
im Auftrag von Dr. Kluth, Kinderchirurgie; UKE  
1999 Zweites Staatsexamen  
März 1999 – März 2000 Praktisches Jahr  
Chirurgie, Durban, Südafrika  
Anästhesie, AK St. Georg  
Innere Medizin, AK Wandsbek  
Mai 2000 Drittes Staatsexamen

Nebentätigkeiten  
im Marienkrankenhaus: 1992-1994 Med. 4/5  
Med. 9  
Med.10/12  
1994-1996 Med. Notaufnahme  
1995-2000 Zentrale Notaufnahme

Promotion: April 2002  
Thema: Lipidstoffwechsel bei Patienten mit Diabetes Mellitus

AiP April 2001 bis September 2002 in der Inneren Medizin  
im Amalie-Sieveking-Krankenhaus, Hamburg

Fortbildungen: 31.10.01-27.03.2002 Ultraschall-Diagnostik , Grundkurs  
27.02.-02.03.2002 Grund- und Spezialkurs im Strahlenschutz  
04.-11.05.2002 Rettungsmedizin

Hamburg, den 25.06.2002

## ERLÄRUNG

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfaßt, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe, und daß ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

Carsten Wienbeck