

Aus der Medizinischen Kernklinik und Poliklinik des
Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf
Direktor: Prof. Dr. med. Heiner Greten

RT-PCR für LDL-Rezeptor-mRNA aus Lymphozyten von Patienten mit Familiärer und Polygener Hypercholesterinämie

D i s s e r t a t i o n
zur Erlangung der Doktorwürde der Medizin

Medizinische Fakultät der Universität Hamburg
vorgelegt von
Robert Baumbach
aus Hamburg

Hamburg 2001

Angenommen von dem Fachbereich Medizin der
Universität Hamburg am 08. Mai 2001

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der Universität Hamburg

Sprecher: Prof. Dr. H. - P. Leichtweiß

Referent: Prof. Dr. E. Windler

Korreferent: Prof. Dr. H. Greten

Meinem Großvater Walter Baumbach gewidmet

Inhaltsverzeichnis

1.	Einführung	1
1.1.	Bedeutung und Verbreitung von Hyperlipidämien	1
1.2.	Physiologie des Fettstoffwechsels und Bedeutung des LDL-Rezeptors	3
1.2.1.	Lipoproteine	3
1.2.2.	Transport der exogen zugeführten Lipide	5
1.2.3.	Transport der endogenen Lipide hepatischen Ursprungs	6
1.2.4.	Reverser Cholesterintransport	12
1.3.	Regulation der LDL-Rezeptor-Aktivität und der intrazellulären Cholesterinhomöostase	13
1.4.	Familiäre und polygene Hypercholesterinämie	15
1.5.	Fragestellung	22
2.	Material und Methoden	23
2.1.	Probanden	23
2.2.	Bestimmung der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentration aus Lymphozyten	23
2.2.1.	Präparation der Lymphozyten	23
2.2.2.	mRNA-Präparation aus Lymphozytenisolaten	24
2.2.3.	Kinasierung der Oligonukleotidprimer	26
2.2.4.	Reverse Transkription	27
2.2.5.	PCR	28
2.2.6.	Agarosegelelektrophorese	29
2.2.7.	Quantifizierung der endogenen LDL-Rezeptor-mRNA mittels internem Standard	30
2.3.	Klinische Probandenklassifikation	31
2.3.1.	Normocholesterinämische Probanden	31
2.3.2.	Hypercholesterinämische Probanden	32
2.4.	Statistische Analyse	33

3.	Ergebnisse	34
3.1.	Patientenkollektiv	34
3.1.1.	Klassifikation der Patienten	34
3.1.2.	LDL-Rezeptor-mRNA	45
3.1.3.	LDL-Rezeptor-Aktivität und LDL-Cholesterin	46
3.1.4.	LDL-Rezeptor-Aktivität und andere Serumlipidparameter	47
3.1.5.	LDL-Rezeptor-Aktivität und Alter	48
3.1.6.	LDL-Rezeptor-Aktivität und Geschlecht	49
3.1.7.	LDL-Rezeptor-Aktivität und medikamentöse bzw. diätetische Therapie	51
3.2.	Gesamtkollektiv	53
3.2.1.	Unterschiede zwischen Normalpersonen und Patientengruppen	53
3.2.2.	LDL-Rezeptor-mRNA	55
3.2.3.	LDL-Rezeptor-Aktivität und LDL-Cholesterin	57
4.	Diskussion	60
5.	Zusammenfassung	70
6.	Literaturangabe	71
7.	Anhang - Tabellen	85
8.	Danksagungen	90
9.	Lebenslauf	91
10.	Erklärung	92

1. Einführung

1.1. Bedeutung und Verbreitung von Hyperlipidämien

In den westlichen Industrienationen haben die Zivilisationskrankheiten einen herausragenden Stellenwert. Atherosklerose mit ihren Folgekrankheiten ist die bedeutendste Todesursache sowohl in den Altersgruppen unter als auch über 65 Jahre [Keil und Spelsberg 1995]. Der koronaren Herzkrankheit als häufigste klinische Manifestation der Atherosklerose und der Herz-Kreislauf-Erkrankungen der westlichen Industrienationen liegen etwa 30% aller Todesfälle zugrunde [Beaglehole 1990]. Die Risikofaktoren der Atherosklerose erlangen dabei eine immer größere Bedeutung, zumal ein allmählicher Wandel von einer nur die Folgen therapierenden Medizin zur Präventivmedizin erkennbar ist.

Ein Risikofaktor ist definiert als ein angeborenes oder vererbtes Merkmal, als ein bestimmtes Lebensstil- oder Verhaltensmuster oder als eine durch die Umwelt vermittelte Exposition, die auf der Basis von epidemiologischen Studien mit dem Auftreten bestimmter Erkrankungen assoziiert ist und deren Vermeidung oder Behandlung einen gesundheitlichen Nutzen bringt [Keys et al. 1971]. Hyperlipidämie, Zigarettenrauchen, Arterieller Hypertonus und Diabetes mellitus stellen die etablierten Risikofaktoren der Atherosklerose und insbesondere der koronaren Herzkrankheit da.

Die Hyperlipidämien haben hieran einen sehr bedeutenden und weit verbreiteten Anteil [Kannel 1983, Keil 1990]. Je nachdem, welche Lipidfraktion erhöht ist, spricht man von Hypercholesterinämie, Hypertriglyceridämie oder kombinierter Hyperlipidämie. Da die wasserunlöslichen Lipide im Plasma in mizellaren Komplexen gebunden an spezifischen Serumglobulinen (Apolipoproteine) transportiert werden, handelt es sich bei Hyperlipidämien gleichzeitig auch um Hyperlipoproteinämien [Kostner und Laggner 1989, Greten et al. 1990]. Die verwendete Bezeichnung ist lediglich abhängig von der tatsächlich bestimmten Substanz.

Zahlreiche Studien haben in der Vergangenheit den kausalen Zusammenhang zwischen pathologisch erhöhten Plasmalipoprotein-Konzentrationen (Hypercholesterinämie) und der Entstehung von atherosklerotischen Veränderungen belegt [*NIH LRCP 1984, Canner et al. 1986, Kannel et al. 1986, Frick et al. 1987, Billheimer 1988, Tyroler 1989, Wilson 1989, Havel 1989, Steinberg 1989a, La Rosa et al. 1990, Muldoon et al. 1990, Pekkanen et al. 1990, Kannel und Larson 1993, Scandinavian Simvastatin Survival Study Group 1994*]. Dieser Zusammenhang wurde durch Ländervergleiche [*Keys 1970, Robertson et al. 1977, Simons 1986*] und Studien zur Regression atherosklerotischer Veränderungen unter lipidsenkender Therapie unterstützt [*Brown et al. 1990, Blankenhorn et al. 1990, Kane et al. 1990, MAAS Investigators 1994*].

Hyperlipidämien gehören zu den häufigsten Stoffwechselstörungen und lassen sich in mäßiger Ausprägung bei etwa 50% und in starker Ausprägung bei etwa 20% der Bevölkerung nachweisen [*Greten et al. 1990*]. Der durchschnittliche Gesamtcholesterinwert liegt in den westlichen Industrienationen etwa bei 210 bis 220 mg/dl [*Windler und Greten 1998c*]. Früher wurden alle Cholesterinwerte oberhalb der 95. Perzentile als hypercholesterinämisch definiert [*Windler et al. 1994*]. In den letzten Jahren legen jedoch Studien nahe, die Gesamtcholesterin-Konzentration von 200 mg/dl als Grenzwert für die Definition der Hypercholesterinämie anzunehmen, da jenseits dieses Grenzwertes der erhöhte Plasmacholesterinspiegel mit klinisch signifikantem Risiko für die Entwicklung von Atherosklerose einhergeht [*Stamler et al. 1986, Assmann und Schulte 1993*]. In Deutschland wird dieser Wert in der mittleren Altersgruppe (40-60 Jahre) von ca. 60% der Frauen und 70% der Männer überschritten [*Luley und Wieland 1995*].

Die Höhe des Gesamtcholesterins wird hauptsächlich durch die Konzentration der Low-Density-Lipoproteine (LDL) bestimmt, die den überwiegenden Teil (ca. 75%) des Serum-Cholesterins transportieren [*Greten und Windler 1985*]. Daher hängt das Risiko der Entwicklung der Atherosklerose wesentlich vom LDL-Cholesterinspiegel ab [*Rudel et al. 1986*]. Als Grenzwert hat man 1992 den Serum-LDL-Cholesterinspiegel von 155 mg/dl definiert [*European Atherosclerosis Society 1992*]. Dieser wird in Deutschland in der mittleren Altersgruppe von 36% der Frauen und 40% der Männer überschritten. Als weitere Lipidfraktion ist erniedrigtes High-Density-Lipoprotein

(HDL) als Risikofaktor für die koronare Herzkrankheit anzusehen [Miller und Miller 1975, Gordon et al. 1977, Avogaro et al. 1978, Castelli et al. 1986, Gordon und Rifkind 1989, Gwynne 1991, Salonen et al. 1991, Stampfer et al. 1991, Buring et al. 1992]. In der deutschen Bevölkerung unterschreitet ca. jeder Fünfte den Grenzwert von 35 mg/dl [Windler et al. 1990b]. HDL-Cholesterin-Konzentrationen unterhalb dieses Grenzwertes bedeuten bei Gesamtcholesterinwerten zwischen 200 und 300 mg/dl ein fünffach erhöhtes KHK-Risiko [Kannel 1983].

Ferner stellt die Hypertriglyceridämie möglicherweise einen unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung einer koronaren Herzkrankheit dar [Wahrburg und Assmann 1999]. Allerdings korrelieren erhöhte Triglyzeride in der Regel mit erniedrigtem HDL-Cholesterin, so daß schwer zu entscheiden ist, welcher Fraktion die ungünstige Wirkung auf die Arterien zukommt. Daher ist es unklar, inwieweit eine Hypertriglyceridämie einen kausalen Risikofaktor darstellt.

1.2. Physiologie des Fettstoffwechsels und Bedeutung des LDL-Rezeptors

1.2.1. Lipoproteine

Lipoproteine stellen Komplexe aus Makromolekülen dar, deren Funktion es ist, hydrophobe Plasmalipide, insbesondere Cholesterin und Triglyceride, im Plasma zu transportieren [Brown und Goldstein 1987]. Lipoproteine sind zum größten Teil sphärische Gebilde und bestehen in ihrem Lipidanteil vor allem aus Cholesterin, Triglyceriden und Phospholipiden. Dabei machen Triglyceride und Cholesterinester den hydrophoben Kern (Core-Lipide) und den größten Teil der Lipoproteine aus. Hingegen besetzen Phospholipide (vor allem Lecithin und Sphingomyelin) und geringe Mengen von freiem Cholesterin als amphiphile Substanzen die Oberfläche der Lipoproteinpartikel und bilden somit die Schnittstelle zwischen Plasma und Lipoproteinkern. Zusätzlich befinden sich an der Lipoproteinoberfläche spezifische Proteine, die Apolipoproteine [Alaupovic et al. 1972, Chan und Dresel 1990]. Sie dienen als Strukturmoleküle, Enzyme, Aktivatoren von Enzymen, Lipidtransferfaktoren

oder Liganden für Zelloberflächenrezeptoren [Windler und Greten 1998c]. Die verschiedenen Lipoproteine unterscheiden sich in Ursprungsort, Apolipoproteinmuster, Zusammensetzung, Größe und Dichte [Silbernagel und Lang 1998]. Das ermöglicht die Auftrennung mittels Elektrophorese [Fredrickson et al. 1967, Neubeck et al. 1977] oder mit Hilfe von Ultrazentrifugation in verschiedene Dichteklassen (Tabelle 1.1.) [Gofman et al. 1954, Kostner 1976, März und Groß 1986].

Lipoprotein- klasse	Hauptlipid	Ursprung	Apolipo- proteine	Dichte [g/ml]	Durchmesser [10⁻⁹ m]
Chylomi- kronen	Triglyceride	Darm	B48,CI,CII, CIII,E	0,95	75-1200
VLDL	Triglyceride	Leber	B100,CI, CII,CIII,E	0,95-1,006	30-80
LDL	Cholesterin- ester	aus VLDL	B100	1,019-1,063	18-25
HDL	Cholesterin- ester	Leber, Darm	AI,AII, AIV, E	1,063-1,210	5-12

Tabelle 1.1.: Die vier wesentlichen Lipoproteinklassen und ihre Charakteristika [Windler et al. 1994].

Im Stoffwechsel der Lipoproteine werden ein Transportsystem für exogenes und endogenes Cholesterin von einem für den Rücktransport aus der Peripherie zur Leber unterschieden:

- Der exogene Weg transportiert im Wesentlichen Lipide, die mit der Nahrung aufgenommen wurden, vom Darm zur Leber.
- Der endogene Weg wird von den Lipoproteinen hepatischen Ursprungs beschritten.
- Der reverse Cholesterintransport dient dem Transport von Cholesterin aus der Peripherie, extrahepatischen Organen und Arterien zur Leber, die das einzige Organ ist, über das Cholesterin ausgeschieden werden kann.

1.2.2. Transport der exogen zugeführten Lipide

Einwohner der westlichen Industrienationen verzehren pro Tag ca. 50-100 g Fett und 600-800 mg Cholesterin. Zunächst resorbiert die Dünndarmmukosa voneinander unabhängig freies Cholesterin, freie Fettsäuren sowie Mono- und Diglyceride. Diese Lipide werden als Cholesterinester und Triglyceride in die Kerne entstehender Chylomikronen verpackt. Der Triglyceridanteil entspricht 85-90%. Der Mantel setzt sich aus Phospholipiden, freiem Cholesterin und Apolipoproteinen B-48, A-I, A-II und A-IV zusammen. Chylomikronen werden in die mesenteriale Lymphe sezerniert und gelangen über den Ductus thoracicus, also unter Umgehung der Leber, in den venösen Kreislauf.

Im Kreislauf werden die Apolipoproteine C-I, C-II und C-III von den HDL-Partikeln auf die Chylomikronen übertragen [*Havel und Hamilton 1988*]. In den Kapillaren der Skelettmuskulatur und des Fettgewebes dient Apolipoprotein C-II als Kofaktor der endothelständig an heparansulfatreiche Proteoglykane gebundenen Lipoproteinlipase (LPL). Die Lipoproteinlipase wird in Parenchymzellen des Fett- und Muskelgewebes synthetisiert und ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von 54 kDa, bestehend aus 427 Aminosäuren. Nach Bindung der Chylomikronen vermittelt die Lipoproteinlipase die Hydrolyse des größten Teils der Triglyceride in freie Fettsäuren und β -Monoglyceride. Sie diffundieren durch das Endothel in die Fett- und Muskelzellen und werden dort als Triglyceride gespeichert oder mitochondrial abgebaut. Apolipoprotein C-III moduliert wahrscheinlich das Ausmaß der Lipolyse [*Ginsberg und Goldberg 1998*].

Im Verlauf der Triglyceridhydrolyse nehmen die Chylomikronen Apolipoprotein E aus den HDL auf, während sie zunehmend überschüssige Oberflächenkomponenten (Phospholipide, Apolipoproteine A-I, A-II, C-I, C-II, C-III) als sogenannte surface remnants an den Pool der HDL wieder abgeben [*Windler et al. 1986, Kostner und März 1995*]. Durch den Verlust von Apolipoprotein C-II wird die Lipoproteinlipase inaktiviert und die Triglyceridhydrolyse terminiert. Übrig bleiben relativ cholesterinreiche und triglyceridarme Chylomikronen-Remnants [*Windler 1990a*].

Die Chylomikronen-Remnants werden nach Ablösung von der Endotheloberfläche mittels Apolipoprotein E über den LDL-Rezeptor und das LDL-receptor-related-protein sehr schnell von der Leber endozytiert. Apolipoprotein E hat ein Molekulargewicht von 34.145 Da. Aufgrund eines genetischen Polymorphismus findet sich Apolipoprotein E im Plasma in mehreren Isoformen (Allele E-2, E-3, E-4) [Hixon und Vernier 1990, März *et al.* 1991], die sowohl den exogenen als auch den endogenen Cholesterintransport und somit das Koronarrisiko beeinflussen [Davignon *et al.* 1988].

Zusammengefaßt werden die durch die Nahrung aufgenommenen Triglyceride als Energieträger an das Fett- und Muskelgewebe geliefert. Das mit der Nahrung aufgenommene Cholesterin wird der Leber zugeführt. Dort hemmt es die endogene hepatische Cholesterinbiosynthese. Das exogene Cholesterin wird entweder für die Gallensäurebiosynthese verwandt, als freies Cholesterin über die Galle ausgeschieden oder aber als Lipoprotein-gebundenes Cholesterin wieder zurück in den Blutkreislauf (endogener Weg) sezerniert.

1.2.3. Transport der endogenen Lipide hepatischen Ursprungs

In der Leber werden aus Fettsäuren, die entweder aus dem Plasma aufgenommen oder de novo synthetisiert worden sind, Triglyceride aufgebaut. Ebenso wird das mit den Chylomikronen-Remnants aufgenommene oder in der Leber synthetisierte Cholesterin verestert. Triglyceride und Cholesterinester bilden die Kernlipide der Very-Low-Density-Lipoproteine (VLDL). Sie werden aus Apolipoprotein B-100, Phospholipiden (vor allem de novo synthetisiertes Lecithin) und geringen Mengen Apolipoprotein E und C geformt und ins Plasma sezerniert [Gibbons 1990, Vance und Vance 1990].

Triglyceride machen den Hauptteil (55-80% des Gesamtgewichtes) der VLDL aus, wobei die Größe der Partikel von der verfügbaren Menge an Triglyceriden abhängig ist. Übermäßige Kalorienzufuhr, Diabetes mellitus oder Alkoholexzeß führen zu übermäßiger Triglyceridsynthese und großen VLDL. Hingegen führt Hunger zu verminderter Triglyceridsynthese und kleinen VLDL. In der Zirkulation nehmen VLDL weitere Moleküle Apolipoprotein E und C aus den HDL auf. Ähnlich den Chylomikronen verhindern die Apolipoproteine der C-Gruppe durch Maskierung der

rezeptorbindenden Domänen die Bindung an Rezeptoren der Leber und somit die vorzeitige hepatische Verstoffwechselung [Windler und Havel 1985]. Durch Interaktion der VLDL mit der Lipoproteinlipase werden ca. 90% der Triglyceride hydrolysiert. Währenddessen wird ein Großteil der Apolipoproteine C an HDL zurücktransferiert und übrig bleiben kleine VLDL-Remnants, auch Intermediate-Density-Lipoproteine (IDL) genannt.

Ein Teil der IDL wird mittels Apolipoprotein E und teilweise B-100 über den Low-Density-Lipoprotein(LDL)-Rezeptor hepatisch verstoffwechselt (10-50%). Die LDL-Rezeptor-Bindung von Apolipoprotein E und B-100 wird jeweils durch ionische Interaktion von basischen Aminosäuren (vor allem Arginin und Lysin) der Apolipoproteine ermöglicht [Yamamoto *et al.* 1984]. Die Bindungsdomäne des Apolipoprotein E-Moleküls befindet sich zwischen den Aminosäuren 140-160 und enthält 8 basische Aminosäuren [Mahley 1988, Mahley *et al.* 1990]. Die Bindungsdomäne des Apolipoprotein B-100-Moleküls liegt zwischen den Aminosäuren 3200-3600 am C-terminalen Ende [Law und Scott 1990, Ginsberg und Goldberg 1998].

VLDL-Remnants, die nicht direkt in die Leber aufgenommen wurden, werden in Low-Density-Lipoproteine (LDL) umgewandelt (50-90%). Aus den großen, triglyceridreichen VLDL, entstehen vorwiegend solche Remnants, die - aufgrund eines höheren Gehalts an Apolipoprotein E - direkt über LDL-Rezeptoren in Hepatozyten aufgenommen werden. Kleine VLDL werden dagegen bevorzugt in LDL umgewandelt. Dabei werden nahezu alle verbliebenen Triglyceride mittels hepatischer Triglyceridlipase (HTGL) entfernt. Die hepatische Triglyceridlipase gehört zur gleichen Enzymfamilie wie auch die Lipoproteinlipase und die pankreatische Lipase. Im Gegensatz zur Lipoproteinlipase benötigt die hepatische Triglyceridlipase keinen Kofaktor. Sie wird in der Leber gebildet und tritt mit IDL in hepatischen Sinusoiden in Kontakt. Apolipoprotein E moduliert diese Reaktionen und wird im Verlaufe auf HDL transferiert. Apolipoprotein B-100 ist somit das einzige Apolipoprotein der LDL [Scott 1989].

Apolipoprotein B-100 stellt das wichtigste Apolipoprotein von VLDL, IDL und LDL dar und macht dabei jeweils ca. 30, 60 und 95% des Proteinanteils aus. Es hat eine Molmasse von ca. 545 kDa und wird in der Leber gebildet. Neben seiner Funktion als

maßgeblicher Ligand bei der zellulären Aufnahme von LDL über den LDL-Rezeptor [Goldstein et al. 1983], ist Apolipoprotein B-100 für Synthese, Strukturstabilisierung und Sekretion der Lipoproteine notwendig. Apolipoprotein B-48 ist die intestinale Form von Apolipoprotein B und wird nur in der Dünndarmmukosa synthetisiert. Es kommt daher nur in Chylomikronen und Chylomikronen-Remnants vor. Apolipoprotein B-48 enthält 2152 Aminosäuren, deren Sequenz mit dem N-terminalen Abschnitt von Apolipoprotein B-100 übereinstimmt, da beide durch das gleiche Gen kodiert werden. In der Dünndarmmukosa erfährt die Apolipoprotein B-100-mRNA eine gewebespezifische posttranskriptionelle Modifikation: Cytidindesaminase ersetzt im Codon 2153 an Position 6666 Cytidin durch Uridin. Dadurch wird das für Glutamin kodierende Codon (CAA) in ein Stopcodon (UAA) umgewandelt, so daß Apolipoprotein B-48 lediglich aus 48% (264 kDa) des N-terminalen Teils von Apolipoprotein B-100 besteht [Scott 1990]. Daher fehlt bei Apolipoprotein B-48 die C-terminale LDL-Rezeptor bindende Domäne.

Apolipoprotein B-100 haltige Lipoproteine besitzen jeweils nur ein Molekül dieses Apolipoproteins. Es kommt deshalb zu einer monovalenten Bindung des Apolipoproteins mit dem LDL-Rezeptor. Chylomikronen- und VLDL-Remnants sind jedoch mit mehreren Apolipoproteinen E ausgestattet, so daß es zu einer polyvalenten, im Vergleich zu Apolipoprotein B-100 zehnfach stärkeren Bindung an den Rezeptor kommen kann [Pitas et al. 1980]. Das ist auch einer der Gründe, weshalb die Plasma-LDL-Halbwertszeit mit ca. 2 Tagen deutlich länger ist, als die Halbwertszeit der VLDL-Remnants von einigen Stunden. Auf der anderen Seite ist die LDL-Rezeptor-Kapazität für Apolipoprotein E bindende Lipoproteine durch die polyvalente Bindung vierfach niedriger als für LDL.

Da bei Menschen ein hoher Anteil des IDL der hepatischen Verstoffwechselung entgeht, besitzen wir im Vergleich zu den meisten Säugetieren einen relativ hohen LDL-Spiegel. Ca. 75% des gesamten Cholesterins im Blut des Menschen findet sich in LDL. Insgesamt werden etwa 70-80% der LDL-Partikel über LDL-Rezeptoren abgebaut [Brown und Goldstein 1987, Windler 1990a]. Das belegt, daß der LDL-Rezeptor den LDL-Cholesterin-Plasmaspiegel maßgeblich determiniert und somit eine überragende Bedeutung für den Fettstoffwechsel und seine Auswirkungen hat. Den größten Anteil

am LDL-Rezeptor-vermittelten Katabolismus hat die Leber mit ca. 70% [Windler 1998b]. Der restliche Anteil wird von extrahepatischen, peripheren Geweben aufgenommen, die Cholesterin zum Membranaufbau oder als Präkursor für die Steroidhormon- bzw. Vitamin D-Synthese verwenden. Die Nebennieren weisen dabei die höchste Konzentration von LDL-Rezeptoren pro Zelle im Körper auf. Desweiteren besitzen Leber und Gonaden hohe LDL-Rezeptor-Konzentrationen. Skelettmuskulatur und Gehirn decken hingegen ihren Cholesterinbedarf weitgehend LDL-Rezeptor unabhängig durch Eigensynthese.

Der LDL-Rezeptor (Apo-B,E-Rezeptor) ist ein Glykoprotein mit einem Molekulargewicht von ca. 160 kDa und befindet sich auf nahezu allen Körperzellen (glatte Muskelzellen, Endothelien, Monozyten, Makrophagen, Nebennierenrinde, Ovar, Lymphozyten, Adipozyten, Hepatozyten, Dünndarm) [Südhof et al. 1985]. Das LDL-Rezeptor-Gen ist auf Chromosom 19 lokalisiert [Francke et al. 1984], 50 kB lang und besteht aus 18 Exons und 17 Introns [Südhof et al. 1985]. Der LDL-Rezeptor besteht ohne Signalsequenz aus 839 Aminosäuren [Yamamoto et al. 1984] und 5 funktionellen Domänen [Goldstein und Brown 1989, Schneider 1989]:

- Die aminoterminal Domäne ist ligandenbindend. Sie besteht aus 292 Aminosäuren und sieben homologen, jeweils 40 Aminosäuren langen und cysteinreichen Sequenzen (complement-type repeats) [Goldstein et al. 1985, Südhof et al. 1985]. Die Cysteinreste stabilisieren die Domäne durch intramolekulare Disulfidbrücken. Die Bindung von Apolipoprotein B-100 und E an die Sequenzen erfolgt über ein Cluster negativ geladener Aminosäurereste (Aspartat und Glutamat). Die 2., 3., 6. und 7. Sequenz sind für die Bindung des Apolipoprotein B erforderlich, wogegen für die Bindung des Apolipoprotein E lediglich die 5. Sequenz benötigt wird [Esser et al. 1988, Russel et al. 1989].
- Die zweite Domäne besteht aus ca. 400 Aminosäuren, enthält drei cysteinreiche Repeats und besitzt eine hohe Homologie zur Vorstufe des Epidermal growth factor (EGF-Präkursor) [Yamamoto et al. 1984, Russell et al. 1984, Südhof et al. 1985].
- Die dritte Domäne besteht aus 58 Aminosäuren und enthält 18 Threonin- und Serinreste, die O-glykosidisch gebundene Kohlenhydrate tragen [Yamamoto et al. 1984, Südhof et al. 1985]. Diese Oligosaccharide haben eine Stützfunktion, die den Rezeptor in der Zellmembran aufrichten.

- Die vierte Domäne bildet die transmembranöse Region und besteht aus 22 hydrophoben Aminosäuren. Diese verankern den Rezeptor in der Zellmembran [Yamamoto et al. 1984, Russell et al. 1984].
- Die fünfte Domäne bildet das C-terminale Ende des Rezeptors, besteht aus 50 Aminosäuren und ragt ins Zytoplasma hinein [Yamamoto et al. 1984, Russell et al. 1984]. Die Funktion besteht in der clusterförmigen Anordnung von Rezeptormolekülen in den coated pits (Kapitel 1.3.).

Beim Gesunden werden 20-30% der LDL unabhängig vom LDL-Rezeptor im sogenannten Scavenger pathway abgebaut. Im Unterschied zum LDL-Rezeptor-vermitteltem LDL-Katabolismus, der durch Sättigung aller Rezeptoren ab einer bestimmten LDL-Konzentration nicht weiter zunehmen kann, ist der Scavenger pathway nicht sättigbar. D.h. ab einer LDL-Schwellenkonzentration erfolgt die weitere LDL-Aufnahme über den Scavenger pathway und mit steigender LDL-Konzentration sinkt der relative Anteil der LDL-Rezeptor-vermittelten LDL-Aufnahme. Dem Scavenger pathway liegen auf zellulärer Ebene drei Mechanismen zugrunde: Aufnahme von LDL über adsorptive Endozytose, Pinozytose und über Scavenger-Rezeptoren.

Scavenger(„Straßenkehrer“)-Rezeptoren kommen vor allem auf Makrophagen, Kupferschen Sternzellen und Endothelien vor. Sie bestehen aus jeweils drei identischen Ketten, welche kollagenartig verdreht und über eine transmembranöse Region an die Zelloberfläche geheftet sind. Scavenger-Rezeptoren haben zwar insgesamt nur einen kleinen Anteil am LDL-Rezeptor-unabhängigen LDL-Katabolismus, spielen jedoch eine große Rolle in der Genese atherosklerotischer Veränderungen.

Zum Beispiel auf dem Boden einer Hypercholesterinämie, anderer Faktoren oder einer Kombination von Faktoren kommt es initial zur Schädigung des Endothels [Brown und Goldstein 1986, Steinberg et al. 1989b, Berliner et al. 1990]. Akkumulierte LDL-Partikel werden durch Matrixkomponenten gebunden und verweilen dadurch länger in der Intima [Fry 1987, Schwenke und Carew 1988]. Die verlängerte Verweildauer führt zur zellinduzierten Oxidation von LDL [Steinberg und Witztum 1990]. Die so modifizierten LDL stimulieren u.a. die Produktion chemotaktischer Faktoren (monocyt chemotactic factor, MCF-1). Es kommt unter Mitwirkung von Adhäsions-

Glykoproteinen (z.B. ELAM = mononuclear endothelial leukocyte adhesion factor) zur Migration von Monozyten aus der Blutbahn in den subendothelialen Raum [Cybulski und Gimbrone 1991]. Dort differenzieren die Monozyten zu Makrophagen. Da Makrophagen unabhängig vom zellulären Cholesteringehalt Scavenger-Rezeptoren exprimieren, kommt es somit praktisch zur ungebremsten Aufnahme von modifizierten LDL [Steinberg 1989b, Kodama et al. 1990, Freeman et al. 1991]. Das führt zur Transformation in cholesterinbeladene Schaumzellen, die zusammen mit T-Lymphozyten [Munro et al. 1987, Katsuda et al. 1992] und glatten Muskelzellen die arteriosklerotischen Frühläsionen (fatty streaks) bilden. Neben der Schaumzellbildung vermittelt modifiziertes LDL an der Gefäßwand auch die vermehrte Ausschüttung von Zytokinen und Wachstumsfaktoren aus Endothelzellen, glatten Muskelzellen und Makrophagen. Die Folge ist eine weitere Akkumulation von Monozyten, eine Proliferation von glatten Muskelzellen und die Synthese von extrazellulären Matrixprodukten (Kollagen, Proteoglykane u.ä.). Es bildet sich eine fibrös-fettige Plaque (Intermediärläsion). Die unregelmäßige Oberfläche der Gefäßinnenwand führt zur Thrombozytenanlagerung und -aktivierung mit Freisetzung von Thromboxan (TXA₂) und Serotonin. Unter Mitwirkung einer Vielzahl weiterer Wachstumsfaktoren entsteht eine fibromuskuläre Plaque (komplexe arteriosklerotische Spätläsion) [Breithardt et al. 1998].

Zusammengefaßt versorgt der endogene Weg periphere Gewebe mit Triglyceriden als Substrate der Energiegewinnung und mit Cholesterin zum Membranaufbau oder zur Synthese von Steroidhormonen bzw. Vitamin D. Der endogene Weg beginnt mit der Produktion von VLDL in der Leber. Die Struktur der VLDL wird in einer Abfolge von Reaktionen so verändert, daß sie entweder als IDL aus der Zirkulation entfernt oder in LDL umgewandelt werden. LDL werden entweder über den LDL-Rezeptor oder über den Scavenger pathway aus der Zirkulation entfernt.

1.2.4. Reverser Cholesterintransport

High density Lipoproteine (HDL) (Tabelle 1.1.) nehmen eine Schlüsselstellung im reversen Cholesterintransport aus der Peripherie zur Leber ein [Glomset 1968, Ho et al. 1980, Badimore et al. 1989, Ferreri und Menon 1990, Slotte 1990, Johnson et al. 1991,

Schmitz und Williamson 1991]. HDL werden in der Leber und im Dünndarm synthetisiert und bestehen aus spezifischen Apolipoprotein-Phospholipid-Komplexen. HDL aus der Leber enthalten Apolipoprotein A-I, A-II und E. Intestinale HDL enthalten vor allem Apolipoprotein A-I und A-IV. Apolipoprotein A-I macht 70-80% des Proteinanteils von HDL aus und spielt eine entscheidende Rolle bei der Strukturstabilisierung.

Der erste Schritt im reversen Cholesterintransport ist die Übertragung von Cholesterin aus peripheren Zellen auf HDL. Dabei binden HDL₃ und insbesondere Prä- β -HDL [*Fielding und Fielding 1981*] an präsumptive HDL-Rezeptoren und entziehen Zellmembranen freies Cholesterin. Die an HDL gebundene und von Apolipoprotein A-I aktivierte Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) verestert daraufhin das aus den Zellen stammende freie Cholesterin. Dabei wird Linolsäure von Lecithin- auf Cholesterinmoleküle übertragen. Die entstandenen Cholesterinester werden als apolare Moleküle im Kern der wachsenden HDL angereichert, so daß aus den initial diskoidalen Partikeln größere, weniger dichte und sphärische HDL₂ entstehen.

HDL₂ wird über mehrere Wege verstoffwechselt: Zum einen können Cholesterinester des HDL₂ auf Apolipoprotein-B-haltige Lipoproteine transferiert werden (Cholesterinester-Recycling). Dieser Transfer wird durch das Cholesterin-Ester-Transfer-Protein (CETP) vermittelt, das wie die Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase in der Leber synthetisiert wird und im Plasma an HDL bindet. Dabei werden Triglyceride und Phospholipide aus den Triglycerid-reichen Lipoproteinen (Chylomikronen und VLDL) im Austausch gegen Cholesterinester auf HDL übertragen. Als Folge wird HDL₂ wieder zu HDL₃ umgewandelt. Die Triglyceride und Phospholipide werden durch die von Apolipoprotein CII aktivierte Lipoproteinlipase oder durch die von Apolipoprotein A-IV aktivierte hepatische Triglyceridlipase hydrolysiert. Die auf die Apolipoprotein-B-haltigen Lipoproteine transferierten Cholesterinester werden über den LDL-Rezeptor aus der Zirkulation entfernt. Cholesterinester können auch selektiv über den Scavenger-Rezeptor SR B-I von HDL auf Hepatozyten übertragen werden [*Varban et al. 1998*]. Des weiteren können Apolipoprotein E enthaltene HDL (HDL_E) über LDL-Rezeptoren und LDL-receptor-related-protein durch Endozytose in toto in die Leber aufgenommen werden.

Zusammengefaßt wird beim reversen Cholesterintransport zunächst freies Cholesterin aus den Membranen nicht-hepatischer Zellen auf HDL übertragen und durch Lecithin-Cholesterin-Acyl-Transferase verestert. Ein Teil der Cholesterinester gelangt über HDL_E mittels Endozytose direkt zur Leber. Außerdem kann HDL Cholesterinester selektiv direkt an die Leber abgeben. Ein anderer Teil wird unter Vermittlung des Cholesterinester-Transfer-Proteins auf Apolipoprotein B enthaltene Lipoproteine übertragen, um über LDL entweder in die Leber oder erneut in periphere Gewebe zu gelangen (Cholesterinester-Recycling).

1.3. Regulation der LDL-Rezeptor-Aktivität und der intrazellulären Cholesterinhomöostase

Die Regulation der Serum-Cholesterin-Konzentration, der LDL-Rezeptor-Aktivität und der intrazellulären Cholesterinhomöostase sind eng miteinander verbunden. Der LDL-Rezeptor nimmt dabei eine zentrale Schlüsselstellung ein.

Die Versorgung der Zelle mit Cholesterin erfolgt über den LDL-Rezeptorzyklus: Neben LDL binden auch IDL [Windler *et al.* 1980] und Chylomikronen-Remnants an den LDL-Rezeptor [Windler *et al.* 1988]. Durch die Ligandenbindung kommt es mittels einer Thyrosinkinase zur Phosphorylierung eines Tyrosinrestes im zytoplasmatischen Teil des LDL-Rezeptors. Das bewirkt eine Konformationsänderung und führt zur Aggregation und Verankerung des Rezeptors in coated pits [Carpenter und Cohen 1990, Ullrich und Schlessinger 1990]. Coated pits stellen besondere, zytoplasmatisch umhüllte Membranabschnitte dar, durch die die Internalisation von Makromolekülen erfolgt [Fawcett 1964]. Sie bedecken ca. 1-2% der Zelloberfläche eukaryonter Zellen [Brown *et al.* 1983] und bestehen aus einem Gerüst von Clathrinmolekülen, welche aus jeweils drei Proteinen bestehen. Weitere Proteinkomplexe, sogenannte Adaptine, stellen die Verbindung der Rezeptoren mit dem Clathrin her. Die coated pits werden internalisiert und es entstehen coated vesicles. Unter Einwirkung einer uncoating-ATPase verlieren die coated vesicles die Clathrin-haltige Umhüllung [Pearse und Crowther 1987, Greene und Eisenberg 1990]. Dies ermöglicht die Fusion untereinander und mit glatten Vesikeln. Daraus entstehen sogenannte Endosomen.

Eine ATP-abhängige Protonenpumpe bewirkt eine intraendosomale pH-Wert Absenkung auf ca. 6, wodurch es zur Dissoziation von LDL und LDL-Rezeptoren kommt [Maxfield 1982, Marsh et al. 1983, Van Dyke et al. 1985, Fuchs et al. 1989]. Die regenerierten Rezeptoren akkumulieren in tubulären Aussackungen, während die LDL im Lumen dieser Compartment of uncoupling receptor and ligand (CURL) genannten Kompartimente verbleiben. Die tubulösen Fortsätze schnüren sich ab und wandern als Receptor-recycling-compartment (RRC) zurück zur Zellmembran [Goldstein et al. 1976, Jäckle et al. 1991a, b], wo die LDL-Rezeptoren erneut LDL binden können. Für einen Zyklus benötigt ein Rezeptormolekül ca. 12 Minuten. Davon befindet es sich ca. 3 Minuten in der Zelle, weitere 3 Minuten in der Zellmembran und 6 Minuten in coated pits. Insgesamt rezirkuliert ein LDL-Rezeptor etwa 100mal und wird nach ca. 20 Stunden abgebaut [Brown et al. 1983]. Durch charakteristische vesikuläre Einschlüsse werden aus dem CURL sogenannte Multivesicular Bodies (MVB). Diese verschmelzen mit Primärlysosomen zu Sekundärlysosomen, in denen der endgültige Abbau stattfindet [Havel und Hamilton 1988]. Der Proteinanteil der LDL, das Apolipoprotein B-100, wird durch lysosomale Proteasen hydrolysiert. Die Cholesterinester werden durch die lysosomale saure Lipase in Fettsäuren und Cholesterin gespalten.

Das freigesetzte Cholesterin löst eine Reihe regulatorischer Reaktionen in der Zelle aus: Zum einen wird die Acyl-CoA-Cholesterin-Acyltransferase (ACAT) aktiviert [Goldstein et al. 1974]. Dieses Enzym vermittelt die erneute Veresterung des freien Cholesterins und überführt es in seine Speicherform. Zum anderen wird die mRNA der Enzyme der Cholesterinbiosynthese, insbesondere der HMG-CoA-Reduktase und HMG-CoA-Synthase, supprimiert [Luskey et al. 1983, Metherall et al. 1989, Goldstein und Brown 1990, Osborne 1991]. Ferner wird der Abbau bereits vorhandener HMG-CoA-Reduktase-Moleküle beschleunigt [Gil et al. 1985]. Desweiteren reguliert der Pool freien Cholesterins die Expression des LDL-Rezeptors [Brown und Goldstein 1975, Russell et al. 1983]. Ist der Cholesteringehalt der Zelle gering, so binden die Transkriptionsfaktoren Sp1 und TF am Promotor des LDL-Rezeptorgens und geben die Initiation zur Transkription des LDL-Rezeptorgens frei. Ist hingegen der Cholesteringehalt der Zelle hoch, so binden Cholesterinmoleküle an ein Sterol-bindendes-Protein (SBP), wodurch es zu einer Konformationsänderung dieses Proteins

kommt. Das hebt die positive Wirkung des Transkriptionsfaktors TF am Sterol-regulatory-element (SRE-1) des LDL-Rezeptor-Promotors auf, so daß insgesamt die Transkription des LDL-Rezeptorgens blockiert ist [Kostner und März 1995]. Es besteht somit eine negative Rückkopplung zwischen intrazellulärem Cholesteringehalt und LDL-Rezeptor-Aktivität. Eine erhöhte LDL-Rezeptor-Aktivität führt zu einer verstärkten zellulären Aufnahme extrazellulären Cholesterins und somit zur Senkung des Serum-Cholesterinspiegels. Eine niedrige LDL-Rezeptor-Aktivität bewirkt hingegen eine verminderte zelluläre Aufnahme extrazellulären Cholesterins und dadurch eine Erhöhung der Serum-Cholesterin-Konzentration.

1.4. Familiäre und polygene Hypercholesterinämie

Krankheiten, die mit erhöhten Nüchterncholesterinwerten einhergehen, werden in primäre und sekundäre Hypercholesterinämien unterteilt. Sekundäre Hypercholesterinämien sind Begleiterscheinungen von anderweitigen Grunderkrankungen (z.B. Hypothyreose, nephrotisches Syndrom, cholestatische Lebererkrankungen, Diabetes mellitus, Anorexia nervosa, Arzneimittelnebenwirkungen). Sekundäre Hypercholesterinämien führen häufig zu denselben Lipoproteinmustern und Risiken wie die primären, sind jedoch durch eine Behandlung der Grundkrankheit zu beseitigen [Henkin *et al.* 1992]. Bei den primären Hypercholesterinämien werden monogene Defekte von der polygenen Hypercholesterinämie unterschieden.

Die klinisch bedeutsamste monogene Hypercholesterinämie ist die familiäre Hypercholesterinämie. Sie beruht auf einem kodominant vererbten genetischen Defekt des LDL-Rezeptors. Als eigenständiges Krankheitsbild wurde die familiäre Hypercholesterinämie erstmalig 1938 beschrieben [Thannhauser und Magendantz 1938, Müller 1938]. Der autosomal dominante Erbgang wurde 1964 nachgewiesen [Khachadurian 1964]. Brown und Goldstein charakterisierten Ätiologie und Pathogenese der Krankheit biochemisch und molekulargenetisch als einen Defekt des LDL-Rezeptors [Brown und Goldstein 1986]. Von der heterozygoten Form ist ca. jeder 500. betroffen [Goldstein *et al.* 1973c]. Damit handelt es sich um eine der häufigsten

Erkrankungen des Menschen, die durch eine einzige Genmutation verursacht wird [Luley und Wieland 1995]. Die homozygote Form ist mit einer Häufigkeit von ca. 1:1.000.000 sehr selten [Slack 1979]. Bei jedem 20. Herzinfarkt bis zum 60. Lebensjahr liegt eine familiäre Hypercholesterinämie zugrunde. Bislang sind mehr als 200 verschiedene Mutationen des LDL-Rezeptorgens identifiziert worden. Sie führen zu unterschiedlichen Störungen von Struktur und Funktion des LDL-Rezeptors [Russell et al. 1986, Goldstein und Brown 1989, Myant 1990, Mahley et al. 1991]:

- Bei der häufigsten Form bleibt die LDL-Rezeptorsynthese aus. Bei einem Teil der Mutanten findet man auch keine LDL-Rezeptor-mRNA. Bei anderen Mutanten ist zwar LDL-Rezeptor-mRNA nachweisbar, jedoch sind die Genprodukte aufgrund vorzeitiger Stop-Codons oder größerer Deletionen extrem instabil und werden sofort katabolisiert.
- Bei der zweiten Form führen die Mutationen zu einer Hemmung des Transports synthetisierter LDL-Rezeptoren zur Plasmamembran. Insbesondere der Transport vom endoplasmatischen Retikulum zum Golgi-Apparat wird durch unvollständig ausgebildete Disulfidbrücken und veränderte Tertiärstrukturen so stark verzögert, daß es zum vorzeitigen intrazellulären Abbau der LDL-Rezeptoren kommt.
- Bei der dritten Form ist die Bindungsfähigkeit für LDL herabgesetzt.
- Bei der vierten Form können sich die LDL-Rezeptoren durch Mutationen im zytoplasmatischen Teil nicht in coated pits anreichern. Bei einem Teil der Mutationen fehlt auch der transmembranöse Abschnitt, so daß der größte Teil der Rezeptoren von den Zellen sezerniert wird.

Bei heterozygoten Merkmalsträgern ist die LDL-Rezeptor-Aktivität um 50% reduziert. Dementsprechend verringert sich die LDL-Clearance. Zudem ist die LDL-Produktion gesteigert, da mehr VLDL und IDL von der Leber sezerniert werden und IDL vermehrt durch längere Plasmaverweildauer in LDL konvertieren. Das führt bei unbehandelten Erwachsenen zu Gesamtcholesterin-Konzentrationen von 275-500 mg/dl. Das LDL-Cholesterin steigt auf 230-450 mg/dl. Die HDL-Cholesterin-Konzentration ist häufig erniedrigt. Die Konzentrationen von VLDL-Cholesterin und Triglyceriden sind üblicherweise normal. In 8-29% der Fälle sind die Triglyceridspiegel mäßig erhöht [Jensen et al. 1967, Goldstein et al. 1973b]. Bei Homozygoten wird LDL-Cholesterin

ausschließlich über den Scavenger pathway katabolisiert und steigt meist auf über 600 mg/dl.

Für die heterozygote familiäre Hypercholesterinämie sind tendinöse Xanthome der Fingerstrecksehnen und der Achillessehne fast pathognomonisch. Sie bilden sich bei 75% der Merkmalsträger in der dritten Lebensdekade aus [Windler und Greten 1998c]. Des weiteren können tuberöse Xanthome an Ellenbogen und in der Glutealregion sowie subperiostale Xanthome in der Tuberositas tibiae und über dem Olecranon entstehen. Ablagerungen in der Plantaraponeurose und in den Zehenstrecksehnen sind sehr viel seltener [Keller und Zöllner 1995]. Jenseits des 30. Lebensjahres bilden sich bei 50% der heterozygoten Merkmalsträger Xanthelasmen oder Arcus lipoides corneae. Diese sind jedoch nicht pathognomonisch für die familiäre Hypercholesterinämie. Nicht selten ist eine Oligoarthritis, eine Polyarthritis mit symmetrischem Gelenkbefall oder eine Tendosynovitis besonders im Bereich der Sprunggelenke und der Achillessehne Erstsymptom einer heterozygoten familiären Hypercholesterinämie [Glueck et al. 1968]. Homozygote Merkmalsträger fallen bereits als Kinder auf. In den ersten 4 Lebensjahren, häufig schon pränatal, bilden sich pathognomonische planare, erhabene, orange-gelbe Xanthome an Extremitäten, Gesäß und Händen, insbesondere zwischen Daumen und Zeigefinger aus. Xanthelasmen sind hingegen selten, während Arcus lipoides corneae bereits in der ersten Lebensdekade auftreten können.

Wegweisend für die Diagnose einer familiären Hypercholesterinämie ist die Familienanamnese. Bei heterozygoten Merkmalsträgern weist obligat ein Elternteil erhöhte Cholesterinwerte auf, bei Homozygoten beide. Wenn zusätzlich zur Familienanamnese ungewöhnlich hohe Gesamtcholesterinwerte zusammen mit pathognomonischen Xanthomen vorliegen, läßt sich die klinische Diagnose einer heterozygoten familiären Hypercholesterinämie mit hoher Sicherheit stellen. Klinisch im Vordergrund und für die klinische Diagnose ebenfalls bedeutsam ist die frühzeitige Entwicklung der Arteriosklerose, insbesondere der Koronararterien. Die koronare Herzkrankheit tritt bei heterozygoten Männern im 4. oder 5. Lebensjahrzehnt und bei heterozygoten Frauen im 5. oder 6. Lebensjahrzehnt auf [Goff und Gotto 1995]. Beweisend für die Diagnose einer familiären Hypercholesterinämie ist der Nachweis des LDL-Rezeptor-Defektes auf kultivierten Fibroblasten [Goldstein und Brown 1973a]

oder isolierten Lymphozyten [Billheimer et al. 1978, Cuthberth et al. 1986]. Diese klassischen zellbiochemischen Untersuchungen sind jedoch schwer durchzuführen und eignen sich daher nicht zur Untersuchung von größeren Patientenzahlen. Der molekulargenetische Beweis defekter LDL-Rezeptor-Gene beruht auf dem Nachweis größerer struktureller Veränderungen wie Deletionen oder Insertionen [Schuster et al. 1989] sowie dem Nachweis von Punktmutationen [Soutar et al. 1989].

Die ersten therapeutischen Maßnahmen beinhalten eine an langkettigen gesättigten Fettsäuren- und Cholesterin-arme Diät, eine Steigerung der körperlichen Aktivität und gegebenenfalls eine Gewichtsreduktion. Diese Maßnahmen sind jedoch bei den meisten Patienten nicht ausreichend, so daß in der Regel zusätzlich eine kombinierte medikamentöse Therapie mit einem HMG-CoA-Reduktase-Hemmer und einem gallensäurenbindenden Ionenaustauscher indiziert ist. HMG-CoA-Reduktase-Hemmer inhibieren im Hepatozyten die Konversion von HMG-CoA zur Mevalonsäure. Durch die Verringerung der Cholesterinbiosynthese wird kompensatorisch die Anzahl der LDL-Rezeptoren an der Leberzelloberfläche erhöht [Billheimer et al. 1983, Nagata et al. 1990]. Durch Verringerung der LDL-Produktionsrate, Anstieg der fraktionellen LDL-Abbaurate und Abnahme des Cholesteringehaltes der LDL führen HMG-CoA-Reduktase-Hemmer zur Senkung der LDL-Cholesterin-Konzentration [Ojala et al. 1990]. Gallensäure-bindende Ionenaustauscher unterbrechen den enterohepatischen Kreislauf der Gallensäuren und werden mit dem Stuhl ausgeschieden [Hashim et al. 1961, Moore et al. 1968, Parkinson et al. 1970, Grundy et al. 1971]. Die Gallensäuren können daher nicht mehr in die Dünndarmmukosa aufgenommen und zur Leber zurücktransportiert werden. Folge ist eine Verminderung der Gallensäure-Konzentration in der Leber. Das stimuliert die Aktivität der 7 α -Hydroxylase, das wichtigste Enzym in der Konversion von Cholesterin in Gallensäuren [Danielsson und Sjövall 1975, Myant und Mitropoulos 1977, Chiang et al. 1990]. Der dadurch erhöhte Cholesterinbedarf wird sowohl durch vermehrte Expression von LDL-Rezeptoren an der Leberzelloberfläche als auch durch eine vermehrte hepatozelluläre Cholesterinbiosynthese durch Aktivierung der HMG-CoA-Reduktase gedeckt [Goldfarb und Pitot 1972, Brown et al. 1978, Shepherd et al. 1980, Shepherd und Packard 1983, Brown und Goldstein 1986, Reihner et al. 1990]. Das führt insgesamt zur Senkung des Serum-LDL-Cholesterins. Der synergistische Effekt beider Medikamente bewirkt eine maximale Stimulation der

LDL-Rezeptoren und eine Absenkung des LDL-Cholesterins zwischen 29 und 61% [Grundy et al. 1985b, Leren et al. 1988, Witztum et al. 1989, Emmerich et al. 1990, Geisel et al. 1990, Jacob et al. 1992, Tonstad et al. 1993]. Die infauste Prognose der homozygoten Form kann nur durch frühzeitig und dauerhaft angewandte heparininduzierte [Thompson et al. 1975, Stoffel et al. 1981, Baeyer et al. 1983, Yokoyama et al. 1985, Study Group-European Atherosclerosis Society 1988] oder immunoabsorptive [Stoffel et al. 1981] extrakorporale LDL-Elimination verbessert werden.

Unbehandelt erleiden bis zum 60. Lebensjahr 85% der Männer und 50% der Frauen mit heterozygoter familiärer Hypercholesterinämie einen Herzinfarkt gegenüber 15% bzw. 10% bei Normalpersonen [Windler und Greten 1998c]. Bei homozygoten Kindern entwickelt sich bereits bis zum 10. Lebensjahr eine koronare Herzkrankheit, die zuweilen bereits im 2. Lebensjahr zu Herzinfarkt und Tod führt [Windler und Greten 1998c]. Einzelne Homozygote überleben dagegen das 50. Lebensjahr [Seftel et al. 1980, Yamashita et al. 1986, Mabuchi et al. 1989].

Die polygene Hypercholesterinämie umfaßt alle Erhöhungen des LDL-Cholesterins aus nicht näher bekannter Ursache [Windler und Greten 1998c]. Es handelt sich um eine Volkskrankheit, die erst mit zunehmender Überernährung in den Industrienationen an Bedeutung gewonnen hat. Oberhalb der 95. Perzentile der Cholesterinverteilung in der Bevölkerung haben 80% eine polygene Hypercholesterinämie. Der Grenzwert von 200 mg/dl wird von ca. 2/3 der Bevölkerung in der mittleren Altersgruppe überschritten (Kapitel 1.1.). Äthiologisch prädisponiert die Kombination von geringen genetischen Abweichungen einer Vielzahl von Apolipoproteinen, Enzymen, Rezeptoren und Transferfaktoren innerhalb des Cholesterinstoffwechsels zu einem erhöhten LDL-Cholesterinspiegel. Externe Faktoren wie Übergewicht, Bewegungsmangel und insbesondere Fehlernährung (gesättigte Fettsäuren, Cholesterin und wenig Ballaststoffe) bedingen die Manifestation einer polygenen Hypercholesterinämie.

Der Gesamtcholesterinspiegel bewegt sich bei Patienten mit polygener Hypercholesterinämie zwischen 200 und 350 mg/dl. HDL-Cholesterin- und Triglycerid-Konzentrationen befinden sich üblicherweise im Normbereich. Im Gegensatz zur

familiären Hypercholesterinämie treten Sehnenxanthome nicht auf [Ginsberg und Goldberg 1998]. Xanthelasmen und Arcus lipoides corneae fehlen häufig, sind zu unspezifisch und kommen auch bei normolipämischen Personen vor. Häufig weisen erst kardiovaskuläre Komplikationen auf die Stoffwechselstörung hin. Die klinische Diagnose kann erst gestellt werden, wenn sich kein Anhalt für eine sekundäre LDL-Cholesterin-Erhöhung oder für eine monogene primäre Hypercholesterinämie ergibt.

Therapeutisch stellt eine Ernährungsumstellung die wichtigste Maßnahme dar. Dabei spielt die Cholesterinaufnahme eine gewisse Rolle. Eine geringere Aufnahme an Nahrungscholesterin wird aber weitgehend durch die endogene Cholesterinsynthese ausgeglichen. Deshalb ist der Effekt einer Reduktion des Nahrungscholesterins sehr beschränkt. Die tägliche Fettzufuhr sollte 80 g nicht übersteigen. Die internationalen Empfehlungen beinhalten eine allgemeine Reduktion des Fettverzehrs auf unter 30% der Kalorien. Das ist im allgemeinen unzureichend [Barr et al. 1992, Clarke et al. 1997, Walden et al. 1997]. Länder mit niedriger Inzidenz an koronarer Herzkrankheit liegen im Fettverzehr in der Regel um 15%. In erster Linie erhöhen gesättigte Fette wie Palmitat die Cholesterinsynthese in der Leber, vermindern die Aktivität des LDL-Rezeptors [Woollett et al. 1992, Glatz und Katan 1993] und stehen in direkter Beziehung zur koronaren Herzkrankheit [Keys 1970, Shekelle et al. 1981]. Diese Tatsache wurde am eindrucksvollsten in der Ernährungsgeschichte der Japaner belegt. Aufgrund des steigenden Wohlstandes hat sich in den Jahren 1960 bis 1980 der Verzehr tierischer Fette verdoppelt. Im selben Zeitraum nahm die durchschnittliche Cholesterinkonzentration um 10 mg/dl zu. Die Myokardinfarktrate ist währenddessen um das Fünffache angestiegen [Goto und Moriguchi 1990]. Der Anteil von gesättigten Fettsäuren an den Gesamtfettsäuren sollte darum unter 30% liegen. Die Quelle gesättigter Fette sind in erster Linie die Produkte der Viehzucht. Daher sollte der Genuß von Wurstwaren, fettem Fleisch, Käse und Vollmilchprodukten eingeschränkt werden. Hingegen vermindert der Verbrauch von ein- und mehrfach ungesättigten Fettsäuren wie Linol- und Linolensäure die Cholesterinsynthese und aktiviert den LDL-Rezeptor [Howard et al. 1995, Hu et al. 1995]. Getreideprodukte, Gemüse und Obst sollten daher die Basis der Ernährung bilden. Damit wird gleichzeitig auch das Ziel einer cholesterinarmen und ballaststoffreichen Ernährung erreicht [Ornish et al. 1990, Watts et al. 1994, Ornish et al. 1998, Windler und Greten 1998c]. Auch Fisch, insbesondere

Seefisch, kann ausgesprochen arm an gesättigtem Fett sein. Da Adipositas ein Manifestationsfaktor für die Hypercholesterinämie [Wattigney *et al.* 1991] und möglicherweise einen unabhängigen Risikofaktor für die koronare Herzkrankheit darstellt [Wolfram 1990], sollte bei übergewichtigen Patienten die Kost zugleich hypokalorisch sein, um das Körpergewicht zu normalisieren. Ferner wirkt sich ausreichende körperliche Aktivität positiv auf das Lipoproteinprofil aus [Dufaux *et al.* 1982, Weisweiler *et al.* 1985, Berg *et al.* 1988, Williams *et al.* 1990, Wood *et al.* 1991]. Im Gegensatz zur familiären Hypercholesterinämie können die meisten Patienten mit polygener Hypercholesterinämie ihren LDL-Cholesterinspiegel mit oben genannten Maßnahmen ausreichend senken. Sollten diese Maßnahmen nicht ausreichen, wäre ebenfalls eine zusätzliche medikamentöse Therapie indiziert.

1.5. Fragestellung

In dieser Arbeit wurden klinische Untersuchungen der LDL-Rezeptor-Aktivität mittels einer RT-PCR für LDL-Rezeptor-mRNA in Lymphozyten durchgeführt. Mit Hilfe dieses Assays sollte die Beziehung zwischen der LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten und dem Serum LDL-Cholesterinspiegel untersucht werden. Eine mögliche klinische Applikation ist die Unterscheidung von polygener und familiärer Hypercholesterinämie. Grundlage ist die Tatsache, daß die LDL-Rezeptor-Aktivität von Zellen vom intrazellulären Pool freien Cholesterins reguliert wird. Während es bei Patienten mit polygener Hypercholesterinämie aufgrund des hohen intrazellulären Anteils freien Cholesterins zu einer Herabregulation der LDL-Rezeptor-Aktivität kommt, könnte bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie der LDL-Rezeptor-Defekt zu einem niedrigen intrazellulären freien Cholesterin führen und dadurch die LDL-Rezeptor-Aktivität und die LDL-Rezeptor-mRNA hoch regulieren. Das ist allerdings in vivo bisher nicht gezeigt worden. Eine denkbare Alternative besteht darin, daß auch bei LDL-Rezeptor-Mangel aufgrund der sehr hohen Plasma-Cholesterinspiegel über unspezifische Aufnahmemechanismen genügend oder sogar vermehrt Cholesterin in die Zellen fließt, so daß auch bei der familiären Hypercholesterinämie wie bei der polygenen Hypercholesterinämie die LDL-Rezeptor-mRNA supprimiert ist. Deshalb sollte untersucht werden, ob die Messung der LDL-Rezeptor-mRNA von humanen Lymphozyten aufgrund der unterschiedlich regulierten LDL-Rezeptor-Aktivität zu einer Unterscheidung der verschiedenen Hypercholesterinämien beitragen kann. Dabei sollte auch untersucht werden, ob sich für die LDL-Rezeptor-mRNA Unterschiede hinsichtlich Alter, Geschlecht oder Medikation bzw. Diät ergeben. Ferner war in dieser Arbeit von Interesse, ob eine Serum-LDL-Cholesterin-Konzentration bestimmt werden kann, ab welcher die LDL-Rezeptor-Aktivität supprimiert wird. LDL-Konzentrationen könnten ab einer gewissen Schwelle aufgrund eines Mangels an physiologisch Rezeptor-vermitteltem Katabolismus atherogen wirken. Im Umkehrschluß würde damit eine Konzentration für das LDL-Cholesterin bestimmt, die nicht überschritten werden dürfte bzw. unter Therapie unterschritten werden müßte, um einen physiologischen Abbau von LDL zu gewährleisten und die Entwicklung von Arteriosklerose zu verhindern bzw. zum Stillstand zu bringen.

2. Material und Methoden

2.1. Probanden

In dieser Arbeit wurde das Plasma von 50 Patienten mit Hypercholesterinämie untersucht. Die Patienten gaben ihr schriftliches Einverständnis gemäß dem Votum der Ethik-Kommission der Ärztekammer Hamburg zu einer Blutentnahme sowie der Bestimmung von LDL-Rezeptor-mRNA und einem Lipoproteinprofil. Die in der Lipidambulanz der Medizinischen Kernlinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf bekannten Patienten stellten sich zwischen Januar und Oktober 1996 zur Kontrolluntersuchung und im Rahmen dieser Arbeit erneut in der Lipidambulanz vor. Zusätzlich wurden die Ergebnisse von 21 normocholesterinämischen Probanden zu den Untersuchungen herangezogen. Diese Probanden waren von Herrn Daniel Puchta im Rahmen seiner Dissertationsarbeit zum Aufbau des hier angewendeten Assays zur Bestimmung der Aktivität des LDL-Rezeptors aus Lymphozyten verwandt worden.

2.2. Bestimmung der LDL-Rezeptor-mRNA Konzentration aus Lymphozyten

2.2.1. Präparation der Lymphozyten

Es wurden mit fünf Serum-Röhrchen (S-Monovette, 9 ml; Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) ca. 45 ml Blut von jedem Probanden abgenommen. Ein Serum-Röhrchen wurde zur Bestimmung des Lipidstatus und die weiteren zur Gewinnung der Lymphozyten verwendet. Bei den Patienten mit Hypercholesterinämie wurden zusätzlich mit einem weiteren Serum-Röhrchen und einem NH₄/Heparin-Röhrchen (S-Monovette, 5,5 ml; Fa. Sarstedt, Nümbrecht, Deutschland) ca. 14,5 ml Blut zusätzlich abgenommen. Dieses diente durch Bestimmung von Schilddrüsenfunktionsparametern, Transaminasen, Elektrolyten, Kreatinin und Harnstoff dem Ausschluß einer sekundären Hypercholesterinämie. Ca. 36 ml Blut

wurden in einem Becherglas mit Hanks-Solution[®] (Fa. Biotest, Dreieich, Deutschland) 1:1 verdünnt. Jeweils 4 ml der erhaltenen Verdünnung wurden über 3 ml Lymphoprep[®] (Fa. NYCOMED-Pharma AS, Oslo, Norwegen) in Reagenzgläsern geschichtet. Diese wurden bei Raumtemperatur mit 400 g für 30 Minuten zentrifugiert (Beckmann J2-HC; Rotor: JS 4,3; Fa. Beckmann, München, Deutschland). Von den sich gebildeten Schichtungen wurde die oberste mit einer Pasteurpipette abgenommen und verworfen. Die darunter befindliche Schicht wurde abpipettiert und in weitere Reagenzgläser übertragen. Nachdem diese zu ca. 25% gefüllt waren, wurde das Restvolumen mit Hanks Solution aufgefüllt. Nach mehrfachen Inversionen wurde mit 200 g für 15 Minuten zentrifugiert. Am Boden der Reagenzgläser setzten sich die Lymphozyten als Pellets ab. Der sich darüber befindliche Puffer wurde bis auf eine Höhe von 2 cm über den Pellets abgenommen und verworfen. Die Lymphozyten-Pellets wurden mit einer Pipette vorsichtig resuspendiert, in einem Reagenzglas zusammengeführt, sorgfältig gemischt und auf Eis gestellt.

Von dieser Lymphozytensuspension wurden 50 µl mit 450 µl 0,9%iger NaCl-Lösung in einem 1500 µl Eppendorf-Röhrchen (Fa. Eppendorf, Hamburg, Deutschland) verdünnt und die enthaltenen Zellen maschinell (H3; Bayer Dianostics, Leverkusen, Deutschland) differenziert und quantifiziert. Um den Einfluß von Beimengungen anderer korpuskulärer Bestandteile auf die Quantifizierung der LDL-Rezeptor-mRNA gering zu halten, wurden nur Isolate mit einem Lymphozytenanteil von mehr als 80% weiterverwendet.

2.2.2. mRNA-Präparation aus Lymphozytenisolaten

Zur Präparation der mRNA wurde ein Säulenkit (QuickPrep[®] Micro; Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland) auf Oligo-dT-Zellulosebasis verwendet. Um bei einer maximalen Säulenkapazität von 10^7 Zellen eine Überladung zu vermeiden, wurden jeweils 8×10^6 Zellen pro Säule eingesetzt. Es wurde eine entsprechende Menge Zellsuspension in ein 1500 µl Eppendorf-Röhrchen pipettiert und 30 Sekunden mit 12000 U/min (Biofuge 13; Fa. Haereus, Hanau, Deutschland) zentrifugiert. Der zellfreie Überstand wurde abgenommen und verworfen. Nach Zugabe von 0,4 ml Extraktionspuffer (Guanidiniumthiozyanat, N-Laurolylsarkosin in gepufferter wässriger

Lösung) wurde das Zellpellet durch einen Vortexer 1 Minute homogen gelöst, danach 0,8 ml Elutionspuffer (10mmol Tris-HCL (pH 7,5), 1 mmol EDTA) zugesetzt und erneut sorgfältig gemischt. In ein weiteres 1500 µl Eppendorf-Röhrchen wurde 1 ml vorher ausgiebig gemischte Oligo-dT-Zellulose-Lösung (25 mg/ml Puffer einschließlich 0,15% Kathon) pipettiert. Anschließend wurden beide Eppendorf-Röhrchen 1 Minute mit 13000 U/min zentrifugiert. Danach wurde der Überstand der Oligo-dT-Zellulose-Lösung abgenommen und verworfen. Es folgte das Abpipettieren von 1 ml Probenmenge. Dabei war darauf zu achten, den Zelldetritus im unteren Bereich des Eppendorf-Röhrchens nicht mit aufzunehmen.

Die abgenommene Probenmenge wurde auf das Oligo-dT-Zellulose-Pellet gegeben und beides wurde durch Schwenken 5 Minuten gemischt, damit sich die mRNA mit ihrer Poly-A-Sequenz an das Oligo-dT der Zellulose binden konnte. Nach einer Zentrifugation für 45 Sekunden mit 13000 U/min wurde der Überstand unter Schonung der Zellulose abgenommen und verworfen. In einem folgendem Waschschrift wurde 1 ml High-Salt Buffer (10 mmol Tris-HCL (pH 7,5), 1 mmol EDTA, 0,5 mol NaCl) zur Zellulose pipettiert. Nach sorgfältiger Resuspendierung wurde 45 Sekunden mit 13000 U/min zentrifugiert und der Überstand erneut unter Schonung der Zellulose abgenommen und verworfen. Dieser Waschschrift wurde insgesamt fünfmal durchgeführt. Anschließend wurde zweimal mit Low-Salt Buffer (10 mmol Tris-HCL (pH 7,5), 1 mmol EDTA, 0,1 mol NaCl) gewaschen.

Darauf wurde die Zellulose jeweils in 0,3 ml Low-Salt Buffer mit einer Pipette resuspendiert und auf MicroSpin™ Columns (Polypropylenfiltersäulen) gegeben. Diese wurden in 1500 µl Eppendorf-Röhrchen gestellt und mit 13000 U/min 15 Sekunden zentrifugiert. Der abzentrifugierte Puffer wurde verworfen. Als weitere Waschschriffe wurden bei Raumtemperatur jeweils 0,5 ml Low-Salt Buffer ohne Pipettenberührung des Zellulosebettes auf die MicroSpin™ Columns pipettiert und mit 13000 U/min für 15 Sekunden zentrifugiert und der so gewonnene Puffer erneut verworfen. Dieser Arbeitsschrift wurde insgesamt dreimal durchgeführt.

Die Eppendorf Röhrchen wurden gegen neue Röhrchen ausgetauscht und die mRNA wurde durch zweimaliges zentrifugieren mit jeweils 0,2 ml im Wasserbad auf 65°C erwärmten Elutionspuffer aus den Zellulosebindungen gelöst. Zur Präzipitation der in 0,4 ml Elutionspuffer gelösten mRNA wurden anschließend 10 µl Glykogenlösung (10 mg/ml in DEPC behandeltem Wasser), 40 µl Kaliumazetatlösung (2,5 mol (pH 5,0)) und 1 ml 98%iges, -20°C kaltes Ethanol (Ethanol abs. z. A.; Fa. Merck, Darmstadt, Deutschland) zupipettiert. Bis zur Weiterverwendung wurde die mRNA unter Ethanol bei -20°C aufbewahrt.

2.2.3. Kinasierung der Oligonukleotidprimer

In ein 1500 µl Eppendorf-Röhrchen wurden 1 µl One-Phor-All-Puffer (OPA⁺-Puffer, 100 mmol tris-Acetate (pH 7,5), 100 mmol Magnesiumacetat, 500 mmol Kaliumacetat; Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland), 1 µl sense-Oligonucleotid-Primer (EW II; Sequenz: 5'CGGAATTCTGGTGAACAAACATTTCAG3'; 20 pmol/µl), 1 µl T4 Polynukleotidkinase (Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland), 5 µl ATP (γ -³³P) (2000 Ci/mmol; Fa. NEN, Boston, USA) und 2 µl ddH₂O pipettiert. Dieser Ansatz wurde 2 Stunden bei 37°C in einem Wasserbad inkubiert. Während der Inkubationszeit wurde eine NICK Spin Säule (Sephadex 50 fine; Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland) zum Abtrennen der nach der Kinasierung noch vorhandenen freien Aktivität vorbereitet. Dazu wurde die Sepharose durch mehrfache Inversionen der Säule suspendiert und mit 2 ml ddH₂O drainiert. Nach Zentrifugation der in ein Reagenzglas gestellten NICK Spin Säule mit 500 g für 4 Minuten bei 20°C wurde das herauszentrifugierte Wasser verworfen. Der bei 37°C inkubierte Ansatz wurde mit 90 µl ddH₂O auf 100 µl ergänzt, auf die vorbereitete Säule pipettiert und anschließend mit 500 g für 5 Minuten bei 20°C durch die Säule in ein 1,8 ml Cryo-Röhrchen mit Schraubverschluß (Fa. NUNC, Wiesbaden, Deutschland) zentrifugiert. Bis zur weiteren Verwendung wurden die kinasierten Oligonukleotide bei -20°C aufbewahrt.

2.2.4. Reverse Transkription

Zur cDNA-Synthese wurden für jede Probe zunächst 2,5 µl PEB-Lösung (50 mmol Tris-Cl (pH 7,6), 10 mmol MgCl₂), 1 µl Polymerisation Mix (20 mmol dATP, 20 mmol dCTP, 20 mmol dGTP, 20 mmol dTTP in ddH₂O (pH 7,5); Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland) und 1 µl antisense-Oligonukleotid-Primer (EW I; Sequenz: 5'ATGCGGCCGCGGACCATATCCTCTGGGGAC3'; 20 pmol/µl) in ein 1500 µl Eppendorf-Röhrchen pipettiert, ausgiebig gemischt und jeweils 4,5 µl dieses Mixes in ein 500 µl Röhrchen gegeben. Die bei -20°C unter Ethanol aufbewahrte mRNA aus 8x10⁶ Lymphozyten wurde 1 Minute mit 13000 U/min zentrifugiert und der Überstand wurde verworfen. Die mRNA-Pellets wurden in 30 µl ddH₂O mit der Pipette resuspendiert. Auf Eis wurden nun bei einer Probe mit mRNA aus 0,5x10⁶ Lymphozyten entsprechend 1,875 µl dieser Suspension und 12,625 µl ddH₂O bzw. bei einer Probe mit mRNA aus 1x10⁶ Lymphozyten entsprechend 3,75 µl dieser Suspension und 10,75 µl ddH₂O hinzupipettiert. Der interne Standard stand zur Verfügung und wurde bei -80°C aufbewahrt. Er bestand aus gereinigter und quantifizierter mRNA, die von D. Puchta aus einer in Bluescript-Plasmide geklonten 5'-Region des LDL-Rezeptor-Gens transkribiert wurde. Jeder Probe wurde die angegebene Menge des internen Standards (2 µl) hinzugegeben (Abbildung 2.1.). Im vortemperierten Heizblock (Cepus-DNA-Thermal-Cycler 480; Fa. Perkin Elmer, Vaterstetten, Deutschland) wurde die mRNA bei 65°C für 15 Minuten denaturiert. Anschließend erfolgte bei 42°C zum Schutz der mRNA vor RNase-Kontamination die Zugabe von 2 µl (12,5 Units) RNAGuard (20 mmol Hepes-KOH (pH 7,6), 50 mmol KCL, 5 mmol Dithiothreitol, 50% Glycerin; Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland). Der Kontrollprobe wurden 2 µl ddH₂O zugegeben. Danach erfolgte für 15 Minuten der Bindungs-Schritt, bei dem die antisense-Oligonucleotid-Primer an den komplementären Abschnitt der endogenen bzw. Standard LDL-Rezeptor-mRNA binden. Nach dem Zusatz von 2 µl (3,5 Units) AMV reverse Transkriptase (Reverse Transcriptase, AMV; Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland), bzw. 2 µl ddH₂O zur Kontrollprobe, erfolgte bei 42°C der Polymerisationsschritt. Ausgehend vom antisense-Oligonukleotid-Primer wurde die LDL-Rezeptor-mRNA in 3'-5'-Richtung in Form eines cDNA-Stranges revers transkribiert. Nach Ablauf der Transkriptionszeit wurden die Proben kurz zentrifugiert und bis zur Weiterverwendung auf Eis gestellt.

2.2.5. PCR

In einem 1500 µl Eppendorf-Röhrchen wurden für jede Probe 2,5 µl PCR-Puffer (100 mmol Tris-Cl (pH 8,3 bei Raumtemperatur), 15 mmol MgCl₂), 1 µl Polymerisation Mix (20 mmol dATP, 20 mmol dCTP, 20 mol dGTP, 20 mmol dTTP in ddH₂O (pH 7,5); Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland), 0,5 µl unmarkierter sense-Oligonukleotid-Primer (20 pmol/µl), 1,25 µl 1 molare KCl-Lösung, 2,5 µl ³³P-sense-Oligonukleotid-Primer (0,2 pmol/µl) und 16,25 ml ddH₂O zusammenpipettiert und gemischt. Auf Eis wurden diesem Mix für jede Probe 1 µl Taq DNA-Polymerase (5 units/µl; Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland) zugesetzt und mit einer Pipette erneut gemischt. In die auf Eis stehenden 500 µl Röhrchen mit der cDNA aus der reversen Transkription wurden anschließend jeweils 25 µl des PCR-Mixes übertragen, vorsichtig gemischt und erneut auf Eis gestellt. Zur Verringerung der Verdunstung wurden vor der PCR jeweils 50 µl Mineralöl (Nujol Oil; Fa. Perkin Elmer, Vaterstetten, Deutschland) über die Proben geschichtet. Anschließend wurde die cDNA im Cepus-DNA-Thermal-Cycler 480 (Fa. Perkin Elmer, Vaterstetten, Deutschland) unter folgenden Bedingungen amplifiziert:

Zyklen	Denaturierung	Bindung	Polymerisation
erster Zyklus	4' bei 94°C	2' bei 65°C	3' bei 72°C
22 folgende Zyklen	1' bei 92°C	2' bei 65°C	3'30" bei 72°C
letzter Zyklus	1' bei 92°C	2' bei 65°C	10' bei 72°C

Nach Abschluß der Amplifikation wurden die Proben bis zur Weiterverarbeitung bei -20°C aufbewahrt.

2.2.6. Agarosegelelektrophorese

Jeweils 15 µl der PCR-Produkte wurden in 500 µl Röhrchen mit 1,5 µl Laufpuffer Typ III (0,25% Bromphenolblau, 0,25% Xylencyanol FF, 30% Glyzerin in ddH₂O) übertragen und mit der Pipette gemischt. Anschließend wurden die Proben in die Probetaschen eines 1,2%igen Agarosegels (1,2 g Agarose (Standard Low-mr; Fa. Bio-Rad, München, Deutschland), 100 ml 0,5xTBE-Lösung (0,045 Mol Tris Borat, 0,001 mol EDTA), 7 µl Ethidiumbromid (10 mg/ml)) pipettiert. Als Laufstandard wurde 1 µl Lambda DNA-Hind III/φX-174 DNA-Hinc II (Fa. Pharmacia, Freiburg, Deutschland) mit 1 µl Laufpuffer und 8 µl ddH₂O versetzt. Nach ca. 60 Minuten Laufzeit bei 80 mA und 100 V wurde das Agarosegel unter UV-Licht begutachtet und fotografiert (Polaroid Film 667) (Abbildung 2.1.).

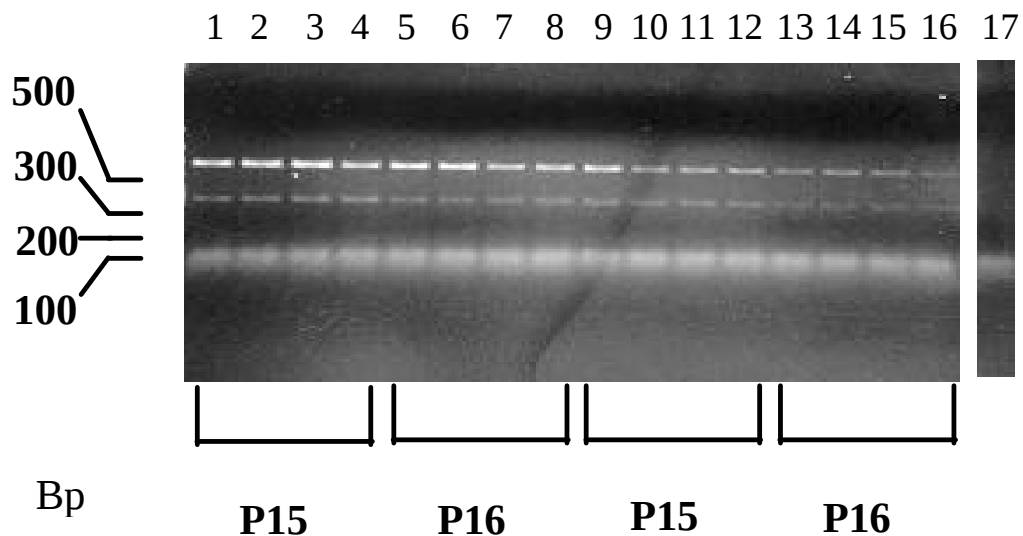


Abbildung 2.1.: Agarosegelelektrophorese der Coamplifikationsprodukte aus internem Standard und LDL-Rezeptor-mRNA. Spurbelegung interner Standard (obere Banden): 1 - 3, 50 pg; 4 - 6, 25 pg; 7 - 9, 12,5 pg; 10 - 12, 6,25 pg; 13 - 15, 3,125 pg; 16, 1,58 pg. Spurbelegung endogene mRNA: 1 - 8, 1 x 10⁶ Lymphozyten; 9 - 16, 0,5 x 10⁶ Lymphozyten. Vergleich der Patienten P15 und P16. Spur 17, Negativkontrolle. Größenstandard Hind III/φX-174 DNA-Hinc II

2.2.7. Quantifizierung der endogenen LDL-Rezeptor-mRNA mittels internem Standard

Die Banden des internen Standards und der endogenen LDL-Rezeptor-mRNA wurden mit einem Skalpell ausgeschnitten und in zuvor beschriftete Countergefäße (20 ml; Fa. Packard, Dreieich, Deutschland) gegeben. Nach Zugabe von 1 ml Natriumhypochlorid (Fa. Riedel-de-Haën, Seelze, Deutschland) wurden die Agarosegelwürfel im Wärmeschrank bei 65°C für 60 Minuten aufgelöst. Nach Abkühlung auf Raumtemperatur wurde unter einem Abzug jeweils 20 ml Szintillationslösung (Ultima Gold; Fa. Packard, Dreieich, Deutschland) hinzugegeben und durch ausgiebiges Schütteln gemischt. Nach Temperaturangleichung der Proben wurde der Zählvorgang im β -Counter (A-300-C-D; Fa. Packard, Dreieich, Deutschland) gestartet. Die jeweiligen Mittelwerte der Zerfallsergebnisse des internen Standards wurden als Funktion der eingesetzten Menge des internen Standards in pmol rechnergestützt graphisch dargestellt und als Standardkurve miteinander verbunden. Anschließend wurden die jeweiligen Mittelwerte der Zerfallsergebnisse der endogenen LDL-Rezeptor-mRNA über die Standardkurve in pmol umgerechnet (Abbildung 2.2.).

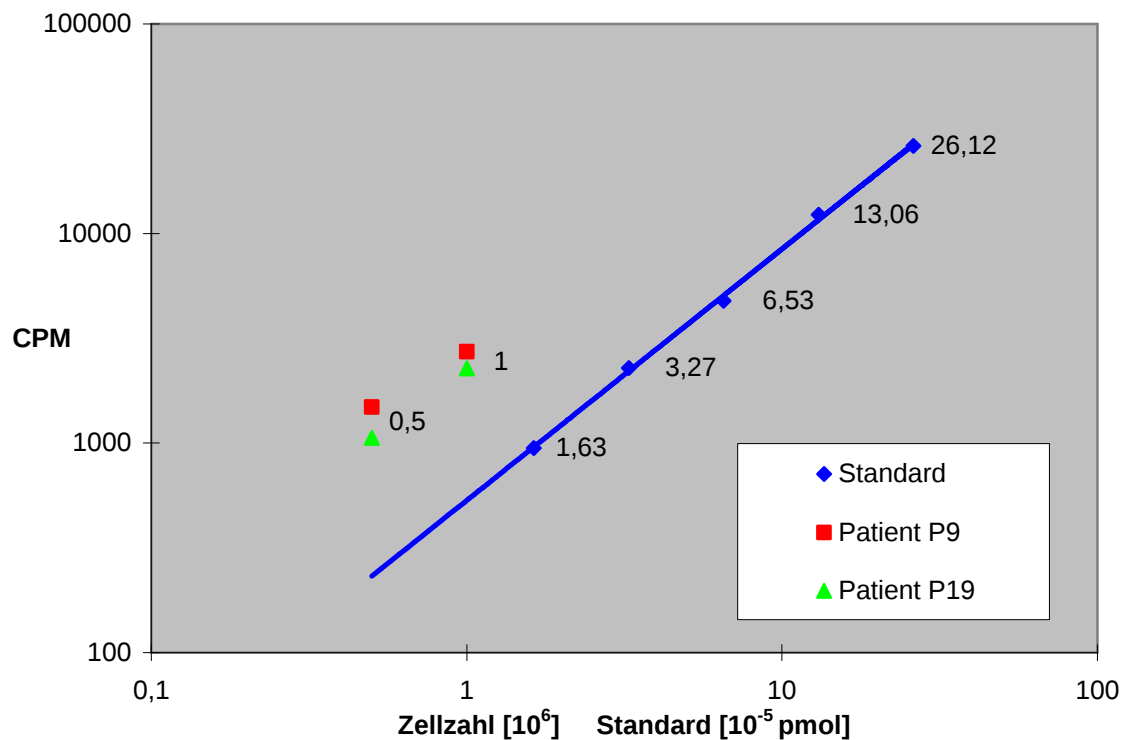


Abbildung 2.2.: Quantifizierung der lymphozytären LDL-Rezeptor-mRNA zweier Probanden über die Kurve des internen Standards. Quantifiziert wurde jeweils die LDL-Rezeptor-mRNA aus 0,5 und 1 x 10^6 Lymphozyten.

2.3. Klinische Probandenklassifikation

2.3.1. Normocholesterinämische Probanden

Hierbei handelte es sich um zufällig ausgewählte Probanden ohne Hinweise auf kardiovaskuläre Risikofaktoren. Zu den erhobenen Daten gehörten neben der bestimmten LDL-Rezeptor-mRNA Alter, Geschlecht und klinische Laborparameter. Bestimmt wurden Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, VLDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin und Triglyceride. Zur Studie wurden nur Probanden herangezogen, deren Gesamtcholesterin-Konzentration unter 240 mg/dl lag.

2.3.2. Hypercholesterinämische Probanden

Zur Studie wurden in der Lipidambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf bekannte hypercholesterinämische Patienten herangezogen, bei denen sich der Verdacht auf eine familiäre Hypercholesterinämie ergab. Alle, bis auf eine Probandin standen entweder unter diätetischer oder medikamentöser lipidsenkender Therapie mit Lovastatin, Simvastatin oder Cholestyramin von unterschiedlicher Dauer. Zu den erhobenen Patientendaten gehörten neben der bestimmten LDL-Rezeptor-mRNA persönliche Daten, Eigen- und Familienanamnese, körperlicher Untersuchungsstatus und klinische Laborparameter. Die persönlichen Daten umfassten Alter und Geschlechtsangaben. Die Eigenanamnese beinhaltete den Gesamtcholesterinwert vor Therapiebeginn, die Therapieart, die Therapiedauer und die Frage nach dem Vorliegen einer koronaren Herzkrankheit. Die Familienanamnese umfaßte Fragen nach Vorkommen von kardiovaskulären Ereignissen und deren Risikofaktoren, insbesondere dem Vorliegen von Hypercholesterinämien. Bezüglich des körperlichen Untersuchungsstatus interessierte besonders das Vorliegen von tendinösen Xanthomen, Xanthelasma oder Arcus lipoides corneae als klinische Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie. Der Lipidstatus umfaßte die Bestimmung von Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, HDL-Cholesterin, VLDL-Cholesterin, Triglyceriden, Apolipoprotein B, Lipoprotein(a) und Apolipoprotein E. Zum Ausschluß einer sekundären Genese der Hyperlipoproteinämie durch Leber-, Nieren- oder Schilddrüsenerkrankungen wurden neben dem Lipidstatus Transaminasen, Elektrolyte, Retentionsparameter und Schilddrüsenfunktionswerte bestimmt.

Auf der Grundlage aller oben genannten Daten wurden die hypercholesterinämischen Probanden in zwei Gruppen klassifiziert:

- Patienten mit klinisch diagnostizierter familiärer Hypercholesterinämie
- Patienten mit klinisch diagnostizierter polygener Hypercholesterinämie

Die klinische Diagnose einer familiären Hypercholesterinämie wurde gestellt, wenn das Gesamtcholesterin vor oder unter Therapie >300 mg/dl betrug und zusätzlich

- entweder eine positive Familienanamnese
- oder typische klinische Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie

vorhanden waren.

Als positive Familienanamnese wurde das Vorliegen eines Myokardinfarktes bei mindestens einem Verwandten 1. Grades unter 55 Jahren gewertet. Typische klinische Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie lagen vor, wenn tendinöse Xanthome und eventuell zusätzlich Xanthelasmen und/oder Arcus lipoides corneae nachweisbar waren. Xanthelasmen oder Arcus lipoides corneae ohne tendinöse Xanthome wurden als nicht typische klinische Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie gewertet.

2.4. Statistische Analyse

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt. Die Signifikanzen wurden mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test, dem Fisher-Exact-Test und dem Korrelations-Koeffizienz-Test nach Spearman berechnet. Das Signifikantsniveau lag bei $p < 0,05$.

3. Ergebnisse

3.1. Patientenkollektiv

3.1.1. Klassifikation der Patienten

Insgesamt wurden 50 Patienten mit Hypercholesterinämie aus der Lipidambulanz des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf zu den Untersuchungen herangezogen und nach oben genannten Kriterien in zwei Gruppen klassifiziert:

- Patienten mit klinisch diagnostizierter familiärer Hypercholesterinämie
- Patienten mit klinisch diagnostizierter polygener Hypercholesterinämie

Eine familiäre Hypercholesterinämie wurde bei 18 Patienten klinisch diagnostiziert (Tabelle 3.1.). Alle Patienten hatten ein Gesamtcholesterin >300 mg/dl. 3 Patienten wiesen zusätzlich eine positive Familienanamnese und typische klinische Zeichen auf. Weitere 10 Patienten hatten zusätzlich eine positive Familienanamnese. 1 Patient wies neben dem erhöhten Gesamtcholesterin typische klinische Zeichen und eine koronare Herzkrankheit auf. Weitere 4 Patienten hatte neben erhöhtem Gesamtcholesterin zusätzlich typische klinische Zeichen (Anhang - Tabelle 2).

Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie:						
Anzahl (n)	Anteil (%)	Gesamtcholesterin >300 mg/dl	FA	typische klinische Zeichen	KHK	Patientennummern
3	17	+	+	+	-	37, 46, 50
10	56	+	+	-	-	4, 7, 15, 19, 24, 32, 38, 42, 52, 58
1	6	+	-	+	+	13
4	22	+	-	+	-	20, 31, 53, 54
18	100					

Tabelle 3.1.: Zusammenfassung der Verteilung der Klassifikationskriterien in der Patientengruppe mit familiärer Hypercholesterinämie.

FA = Familienanamnese, + = positiv, - = negativ, positive Familienanamnese bedeutete mindestens ein Verwandter 1. Grades mit Myokardinfarkt vor dem 55. Lebensjahr; typische klinische Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie waren tendinöse Xanthome und evtl. zusätzlich Xanthlasmen und Arcus lipoides; Patientennummer = chronologische Folgennummer der in dieser Arbeit untersuchten Patienten.

Eine polygene Hypercholesterinämie wurde bei 32 Patienten klinisch diagnostiziert (Tabelle 3.2.). 1 Patient hatte eine positive Familienanamnese und eine koronare Herzkrankheit, das Gesamtcholesterin war jedoch unter 300 mg/dl und der Patient wies keine typischen klinischen Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie auf. Eine 78jährige Patientin hatte ein Gesamtcholesterin von >300mg/dl und eine koronare Herzkrankheit, wies jedoch keine typischen klinischen Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie auf. Die Familienanamnese ist unbekannt. Weitere 13 Patienten wiesen lediglich Gesamtcholesterinwerte >300 mg/dl auf. Eine positive Familienanamnese, koronare Herzkrankheit oder typische klinische Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie lagen nicht vor. Bei 2 Patienten lagen typische klinische Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie ohne Gesamtcholesterinwerte >300 mg/dl, positive Familienanamnese oder koronare Herzkrankheit vor. Weitere 4 Patienten hatten eine koronare Herzkrankheit, jedoch keine positive Familienanamnese, Gesamtcholesterinwerte >300 mg/dl, oder typische klinische Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie. Bei 11 Patienten lagen weder Gesamtcholesterinwerte >300 mg/dl, noch positive Familienanamnese, typische klinische Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie oder koronare Herzkrankheit vor (Anhang - Tabelle 3).

Patienten mit polygener Hypercholesterinämie:						
Anzahl (n)	Anteil (%)	Gescholesterin >300 mg/dl	FA	typische klinische Zeichen	KHK	Patientennummern
1	3	-	+	-	+	39
1	3	+	unbek.	-	+	14
13	41	+	-	-	-	5, 11, 12, 23, 27, 28, 30, 35, 36, 45, 48, 51, 55
2	6	-	-	+	-	3, 33
4	13	-	-	-	+	9, 10, 25, 34
11	34	-	-	-	-	6, 8, 16, 21, 22, 26, 40, 41, 44, 56, 57
32	100					

Tabelle 3.2.: Zusammenfassung der Verteilung der Klassifikationskriterien in der Patientengruppe mit klinisch diagnostizierter polygener Hypercholesterinämie.

FA = Familienanamnese, + = positiv, - = negativ, positive Familienanamnese bedeutete mindestens ein Verwandter 1. Grades mit Myokardinfarkt vor dem 55. Lebensjahr; typische klinische Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie waren tendinöse Xanthome und evtl. zusätzlich Xanthlasmen und Arcus lipoides; Patientennummer = chronologische Folgenummer der in dieser Arbeit untersuchten Patienten.

In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie (18 Patienten, 100%) waren 11 Patienten (61%) männlich und 7 Patienten (39%) weiblich. In der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie waren 19 Patienten (59%) männlich und 13 Patienten (41%) weiblich, so daß eine vergleichbare Geschlechtsverteilung mit leichtem Überwiegen der männlichen Patienten in beiden Patientengruppen vorlag.

In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie hatte die Mehrheit der Patienten eine positive Familienanamnese. Hingegen war in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie die Familienanamnese fast ausschließlich negativ. Bei einer Patientin dieser Gruppe blieb die Familienanamnese unklar. Der Unterschied zwischen beiden Gruppen war hoch signifikant ($p < 0,00001$) (Tabelle 3.3.).

	Familienanamnese				
Patientengruppe	positiv [n]	negativ [n]			
FH	13 (72,2%)	5 (27,8%)	18 (36,7%)		
PH	2 (6,5%)	29 (93,5%)	31 (63,3%)		
	15 (30,6%)	34 (69,4%)	49 (100%)	Signifikanz:	<0,00001

Tabelle 3.3.: Vergleich der Verteilung positiver Familienanamnesen zwischen beiden Patientengruppen.

In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie war die Familienanamnese überwiegend positiv, in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie überwiegend negativ. Dieser Unterschied war hoch signifikant ($p < 0,00001$).

Die Familienanamnese galt als positiv, wenn ein Verwandter 1. Grades vor dem 55. Lebensjahr einen Myokardinfarkt oder einen Apoplex erlitten hatte.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Signifikanz wurde mit dem Fisher's-Exact-Test berechnet; das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

Typische klinische Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie lagen in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie bei etwas weniger als der Hälfte der Patienten vor, in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie bei lediglich 2 Patienten. Auch dieser Unterschied war hoch signifikant ($p = 0,00227$) (Tabelle 3.4.).

	Klinische Zeichen				
Patientengruppe	positiv	negativ			
FH	8 (44,4%)	10 (55,6%)	18 (36%)		
PH	2 (6,3%)	30 (93,8%)	32 (64%)		
	10 (20%)	40 (80%)	50 (100%)	Signifikanz:	0,00227

Tabelle 3.4.: Vergleich der Verteilung typischer klinischer Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie in beiden Patientengruppen.

In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie wies fast die Hälfte der Patienten typische klinische Zeichen auf, in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie nur 6,3%. Dieser Unterschied war hoch signifikant ($p = 0,00227$).

Typische klinische Zeichen für familiäre Hypercholesterinämie waren tendinöse Xanthome und evtl. zusätzlich Xanthlasmen und Arcus lipoides.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Signifikanz wurde mit dem Fisher's-Exact-Test berechnet; das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

Eine koronare Herzkrankheit lag in beiden Patientengruppen selten vor. In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie nur bei einem Patienten, in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie bei fast einem Fünftel der Patienten. Der Unterschied war jedoch nicht signifikant ($p=0,39776$) (Tabelle 3.5.).

Patientengruppe	KHK				
	positiv	negativ			
FH	1 (5,6%)	17 (94,4%)	18 (36%)		
PH	6 (18,8%)	26 (81,3%)	32 (64%)		
	7 (14%)	43 (86%)	50 (100%)	Signifikanz:	0,39776

Tabelle 3.5.: Vergleich des Vorliegens einer koronaren Herzkrankheit in beiden Patientengruppen.

Eine koronare Herzkrankheit war in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie häufiger, als in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie, jedoch nicht signifikant ($p=0,39776$).

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Signifikanz wurde mit dem Fisher's-Exact-Test berechnet; das Signifikanzniveau war $p<0,05$.

Alle bis auf eine Patientin hatten bis zum Zeitpunkt der Wiedervorstellung im Rahmen dieser Arbeit in der Lipidambulanz der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf entweder eine medikamentöse oder diätetische Therapie unterschiedlicher Dauer durchgeführt (Anhang - Tabelle 2 und 3). Die Verteilung der Therapieformen war in beiden Patientengruppen gleichmäßig ($p=1,00000$) (Tabelle 3.6.).

Patientengruppe	Therapieform				
	Medikament	Diät			
FH	9 (50%)	9 (50%)	18 (36,7%)	Signifikanz:	1,00000
PH	15 (48,4%)	16 (51,6%)	31 (63,3%)		
	24 (49%)	25 (51%)	49 (100%)		

Tabelle 3.6.: Vergleich der Therapieformen in beiden Patientengruppen.

Die Patienten hatten bis zum Zeitpunkt der Wiedervorstellung im Rahmen dieser Arbeit in der Lipidambulanz der Medizinischen Klinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf entweder eine medikamentöse oder eine diätetische Therapie durchgeführt. Die Verteilung der Therapieformen war in beiden Gruppen gleichmäßig ($p=1,00000$).

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Signifikanz wurde mit dem Fisher's-Exact-Test berechnet; das Signifikanzniveau war $p<0,05$.

Vor Therapiebeginn wurde das Gesamtcholesterin bestimmt. Unter der Therapie wurden zum Zeitpunkt der Wiedervorstellung im Rahmen dieser Arbeit neben Gesamtcholesterin LDL-, HDL- und VLDL-Cholesterin, Triglyceride, Apolipoprotein B, Apolipoprotein E, Lipoprotein(a) und LDL-Rezeptor-mRNA bestimmt.

Die Apolipoprotein-E-Genotyp-Verteilung beider Patientengruppen zeigte geringe Unterschiede. In beiden Patientengruppen war Apolipoprotein E-3/E-3 die häufigste Variante, gefolgt von Apolipoprotein E-3/E-4. Während in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie Apolipoprotein E-3/E-3 und Apolipoprotein E-3/E-4 ähnlich häufig vorlagen, war Apolipoprotein E-3/E-3 in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie mehr als doppelt so häufig vorhanden als Apolipoprotein E-3/E-4. Apolipoprotein E-4/E-4 und Apolipoprotein E-2/E-3 waren in beiden Gruppen ähnlich häufig verteilt. Apolipoprotein E-2/E-4 fehlte in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie, während Apolipoprotein E-2/E-2 in keiner der Gruppen vorlag (Tabelle 3.7.).

Apo E-Genotyp	FH [n] (%)	PH [n] (%)
E-2/E-2	-	-
E-2/E-3	1 (5)	2 (7)
E-2/E-4	-	1 (3)
E-3/E-3	9 (45)	18 (60)
E-3/E-4	8 (40)	8 (27)
E-4/E-4	2 (10)	1 (3)

Tabelle 3.7.: Apolipoprotein E-Genotyp Verteilung in beiden Patientengruppen.

In beiden Patientengruppen waren Apolipoprotein E 3/3 und Apolipoprotein E 3/4 am häufigsten und in der Patientengruppe mit familiärer Hypercholesterinämie annähernd gleich häufig. In der Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie war Apolipoprotein E 3/3 jedoch fast doppelt so häufig wie Apolipoprotein E 3/4.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Beim Vergleich der Mittelwerte quantitativ bestimmter Parameter der beiden Patientengruppen zeigten sich in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie signifikant höhere Werte im Gesamtcholesterin ohne lipidsenkende Therapie ($p=0,0014$), im Gesamtcholesterin unter lipidsenkender Therapie ($p=0,007$) und am deutlichsten im LDL-Cholesterin unter Therapie ($p=0,0006$). Die Triglyceridwerte unter Therapie waren deutlich niedriger, die VLDL-Cholesterinwerte unter Therapie, die HDL-Cholesterinwerte unter Therapie sowie das Alter leicht niedriger, als in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie, jedoch für keinen Parameter signifikant. Die Altersverteilung beider Gruppen war homogen (Abbildung 3.1.). Die Apolipoprotein B- und Lipoprotein(a)-Werte unter Therapie lagen in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie nicht signifikant höher, als in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie. Die deutlich höhere, jedoch nicht signifikante Therapiezeit in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie kam durch einige Patienten (5, 21, 28, 30, 35, 57) zustande, die schon jahrelang unter bestimmter medikamentöser Therapie standen, als sie sich im Rahmen dieser Arbeit erneut in der Lipidambulanz vorstellten (Tabelle 3.8.).

Parameter	Patientengruppe mit FH		Patientengruppe mit PH		Signifikanz der Differenz (2-tailed-p)
	n	MW (S)	n	MW (S)	
Alter [Jahre]	18	40,9 (15,4)	32	46,1 (16,7)	0,3681
Therapiezeit [Wochen]	18	10,4 (12,8)	30	48,3 (89,9)	0,1422
Gesamtcholesterin vor Therapie [mg/dl]	17	338,8 (61,1)	29	282,7 (43,8)	0,0014
Gesamtcholesterin unter Therapie [mg/dl]	18	299,3 (59,1)	32	255,6 (60,2)	0,007
LDL-Cholesterin unter Therapie [mg/dl]	18	232,1 (59,6)	30	175,0 (44,9)	0,0006
HDL-Cholesterin unter Therapie [mg/dl]	18	45,6 (18,6)	32	46,4 (17,3)	0,7386
VLDL-Cholesterin unter Therapie [mg/dl]	17	21,6 (5,6)	29	25,5 (13,4)	0,6567
Triglyceride unter Therapie [mg/dl]	18	113,1 (34,7)	32	171,1 (185,3)	0,5376
Apolipoprotein B unter Therapie [mg/dl]	18	179,3 (45,6)	30	173,0 (43,5)	0,3597
Lipoprotein(a) unter Therapie [mg/dl]	18	25,9 (20,8)	27	19,3 (16,8)	0,1407

Tabelle 3.8.: Vergleich quantitativer Größen zwischen beiden Patientengruppen.

Die Unterschiede der Konzentrationen des Gesamtcholesterins vor Therapie ($p=0,0014$) und unter Therapie ($p=0,007$) sowie des LDL-Cholesterins unter Therapie ($p=0,0006$) zwischen beiden Patientengruppen waren hoch signifikant.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie, MW = Mittelwert, S = Standardabweichung.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanzen der Lageunterschiede der Größen wurden mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p<0,05$.

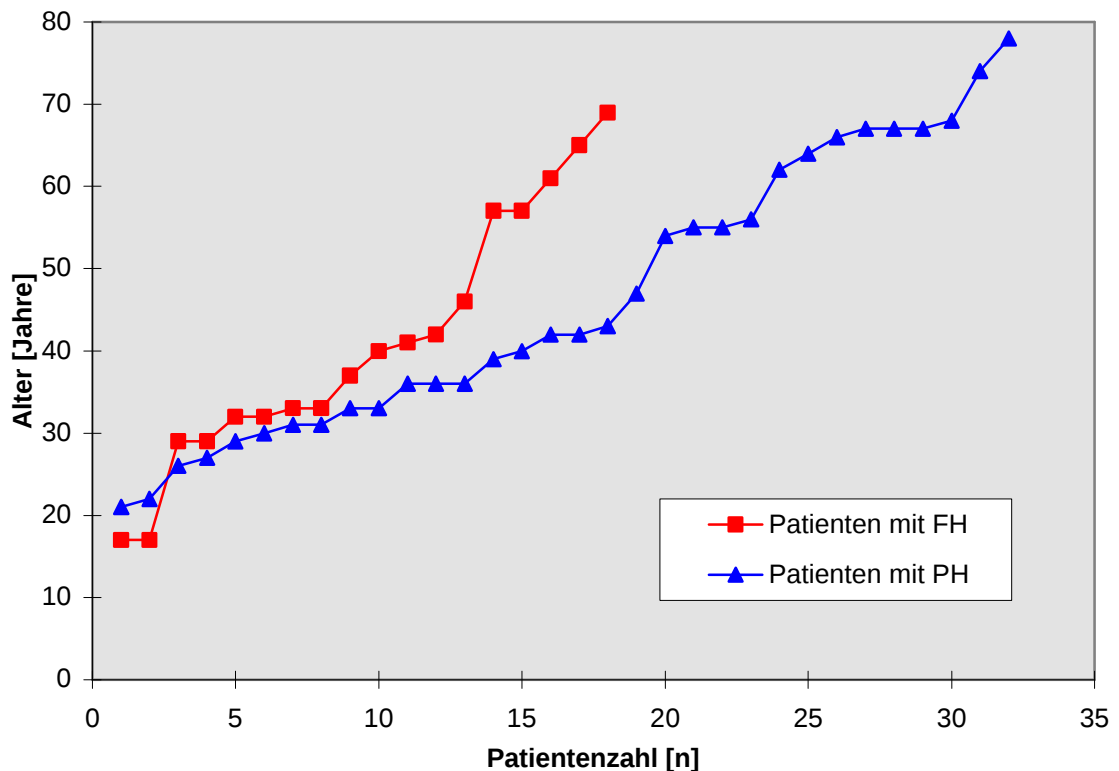


Abbildung 3.1.: Altersverteilung beider Patientengruppen.

Die Altersverteilung war in beiden Gruppen homogen.

Die Werte sind in aufsteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Hinsichtlich der Effektivität von medikamentöser und diätetischer Therapie in Form von Senkung der Gesamtcholesterin-Konzentration gab es deutliche Unterschiede. Berechnet wurden die Differenzen der Gesamtcholesterin-Konzentrationen vor Therapiebeginn und unter Therapie zum Zeitpunkt der Wiedervorstellung im Rahmen dieser Arbeit. Bei der Gesamtbetrachtung beider Patientengruppen wurden 21 Patienten (42%) mit medikamentöser Therapie in die Berechnung einbezogen. Bei diesen Patienten kam es bis zum Zeitpunkt der Wiedervorstellung im Rahmen dieser Arbeit zur durchschnittlichen Absenkung der Gesamtcholesterin-Konzentration von 65 mg/dl. Bei 3 weiteren Patienten (6%) mit medikamentöser Therapie lagen keine Gesamtcholesterinwerte vor Therapiebeginn vor. Weitere 25 Patienten (50%) standen unter diätetischer Therapie und bei diesen Patienten kam es zur durchschnittlichen Absenkung der Gesamtcholesterin-Konzentration von 1,5 mg/dl. Dieser Unterschied in der Gesamtcholesterin-Konzentrationssenkung unter medikamentöser und diätetischer Therapie im gesamten Patientenkollektiv war hoch signifikant ($p < 0,0001$) (Abbildung

3.2. und 3.3.). 36% der Patienten unter diätetischer Therapie und 10% der Patienten unter medikamentöser Therapie entwickelten einen Anstieg der Gesamtcholesterinkonzentration (Abbildung 3.2.). Eine Patientin (34) (2%) stand zum Zeitpunkt der Vorstellung im Rahmen dieser Arbeit unter keiner lipisenkenden Therapie.

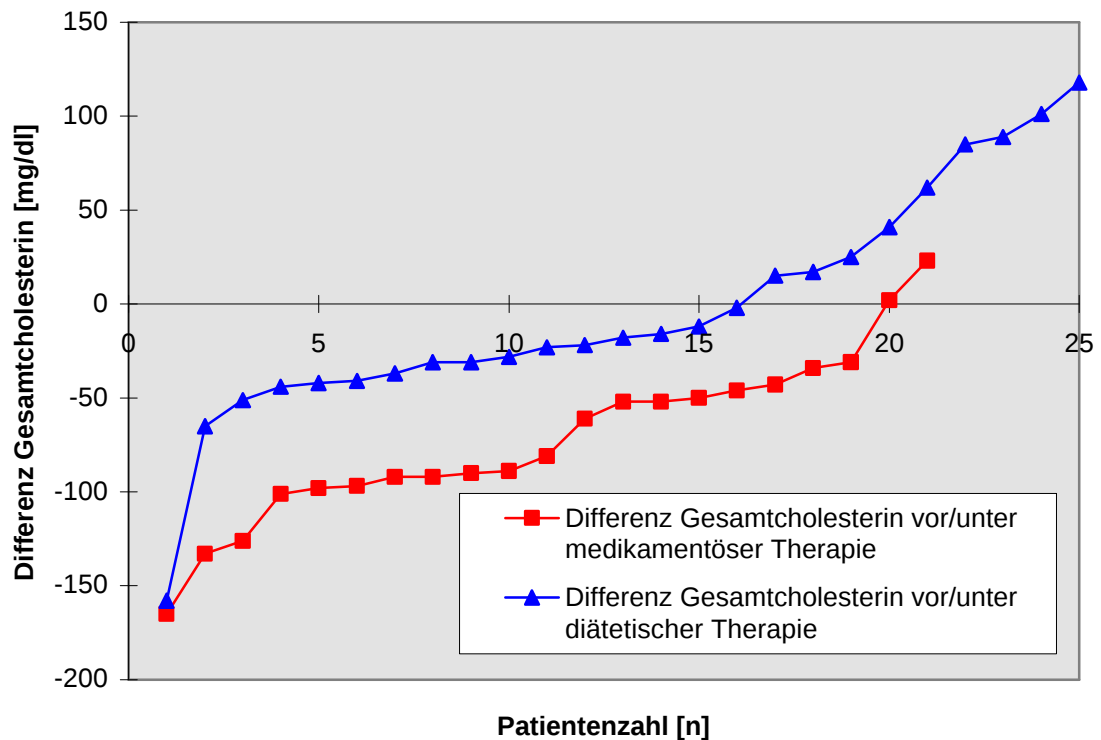


Abbildung 3.2.: Vergleich der Differenz der Gesamtcholesterin-Konzentrationen vor und unter Therapie zwischen Patienten mit medikamentöser und Patienten mit diätetischer Therapie.

Die medikamentöse Therapie führte zu hoch signifikant stärkeren Absenkungen der Gesamtcholesterin-Konzentrationen als die diätetische Therapie und war somit weitaus effektiver ($p < 0,0001$).

Die Werte der Gesamtcholesterin-Differenzen sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

Beim Vergleich der Differenz der Gesamtcholesterin-Konzentrationen zwischen den Patientengruppen und gleicher Therapieart waren die Unterschiede unwesentlich. Sowohl unter diätetischer ($p = 0,3801$) als auch unter medikamentöser Therapie ($p = 0,4046$) kam es zwischen den Patienten mit familiärer und denen mit polygener Hypercholesterinämie nicht zu signifikanten Unterschieden in der Absenkung des Gesamtcholesterinspiegels unter der jeweiligen Therapie (Abbildung 3.3.).

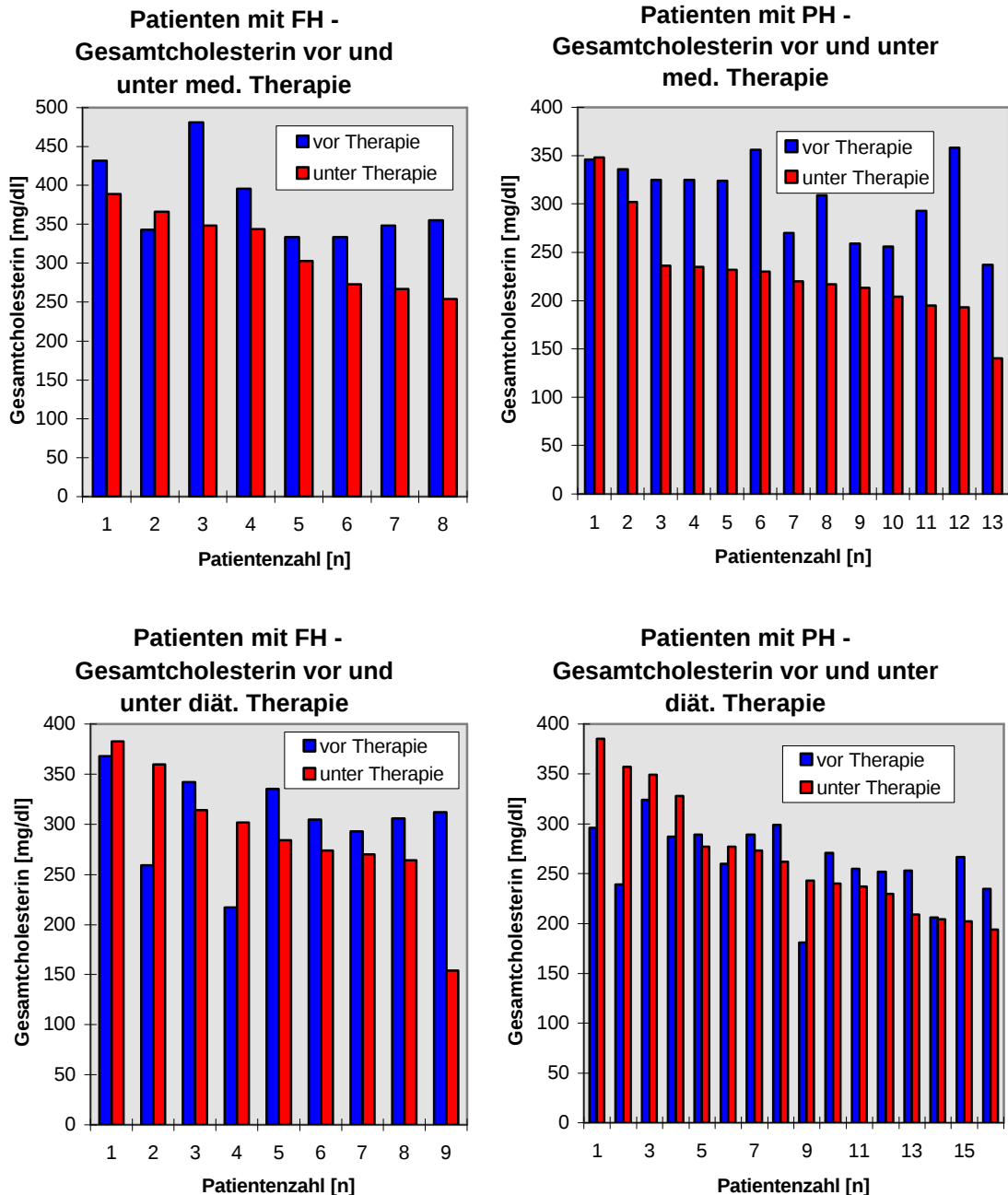


Abbildung 3.3.: Effekt von medikamentöser und diätetischer Therapie bei Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie.

In beiden Patientengruppen war die medikamentöse Therapie wesentlich effektiver als die diätetische ($p < 0,0001$). Sowohl unter diätetischer Therapie ($p = 0,3801$) als auch unter medikamentöser Therapie ($p = 0,4046$) kam es zwischen den Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie nicht zu signifikanten Unterschieden in der Absenkung des Gesamtcholesterinspiegels.

Die Patienten sind nach den Werten des Gesamtcholesterins unter Therapie in absteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanzen der Lageunterschiede der Größen wurden mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

3.1.2. LDL-Rezeptor-mRNA

Die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA aus Lymphozyten der Patienten wurden mittels quantitativer RT-PCR wie in Kapitel 2 beschrieben bestimmt. Sowohl in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie als auch in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie zeigte sich zwischen den LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen kein signifikanter Unterschied ($p=0,5853$ bei 1×10^6 Lymphozyten, $p=0,6314$ bei $0,5 \times 10^6$ Lymphozyten). Die Mittelwerte waren annähernd gleich (Tabelle 3.9.). In beiden Gruppen zeigten sich Patienten, deren LDL-Rezeptor-mRNA-Werte deutlich über denen der übrigen Patienten dieser Gruppen lagen (Nr. 4, 6, 13) (Abbildung 3.4.).

Parameter	Patientengruppe mit FH		Patientengruppe mit PH		Signifikanz der Differenz (2-tailed-p)
	n	MW (S)	n	MW (S)	
LDL-R-mRNA ($0,5 \times 10^6$ Lymphozyten) [10^{-5} pmol]	18	2,3 (2,9)	32	1,9 (1,4)	0,6134
LDL-R-mRNA ($1,0 \times 10^6$ Lymphozyten) [10^{-5} pmol]	18	5,0 (8,3)	32	3,4 (3,6)	0,5853

Tabelle 3.9.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen zwischen Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie.

Zwischen den LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen beider Patientengruppen waren die Unterschiede nicht signifikant.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie, MW = Mittelwert, S = Standardabweichung.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

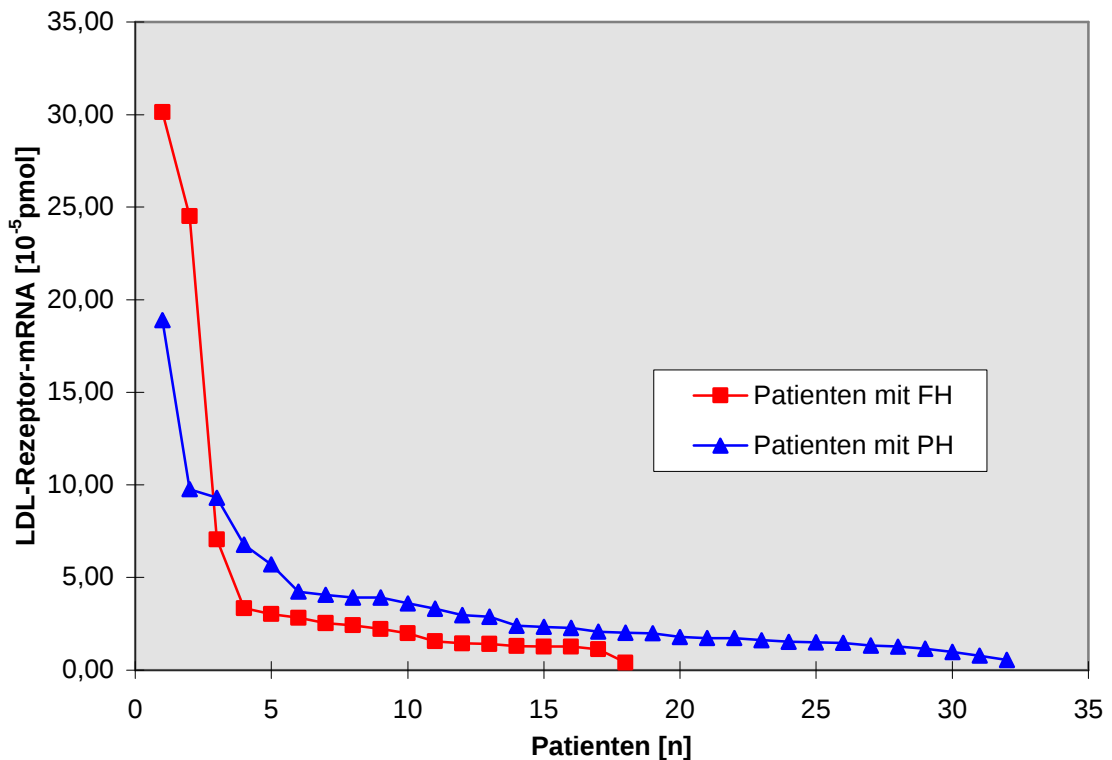


Abbildung 3.4.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen (1×10^6 Lymphozyten) zwischen Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie.

Die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA von Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie überlappten weitgehend ($p=0,5853$).

Die Werte der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

3.1.3. LDL-Rezeptor-Aktivität und LDL-Cholesterin

Die Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie und die Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie unterschieden sich in der Beziehung zwischen der LDL-Rezeptor-Aktivität der Lymphozyten und dem Serum-LDL-Cholesterin deutlich. In der Gruppe ohne Rezeptordefekt bestand zwischen Höhe des LDL-Cholesterins und Konzentration der LDL-Rezeptor-mRNA eine signifikante negative Korrelation ($p=0,031$ bei 1×10^6 Lymphozyten). Hingegen lag in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie keine signifikante Korrelation zwischen LDL-Rezeptor-mRNA- und LDL-Cholesterin-Konzentration vor ($p=0,81$ bei 1×10^6 Lymphozyten). In dieser Patientengruppe betrugen die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen bei 1×10^6 Lymphozyten ca. 2×10^{-5} pmol.

Zwei Patienten (Nr. 4 und 13) ragten aus dieser Gruppe deutlich heraus und wiesen Werte von $11,12 \times 10^{-5}$ und $8,19 \times 10^{-5}$ pmol auf (Abbildung 3.5.).

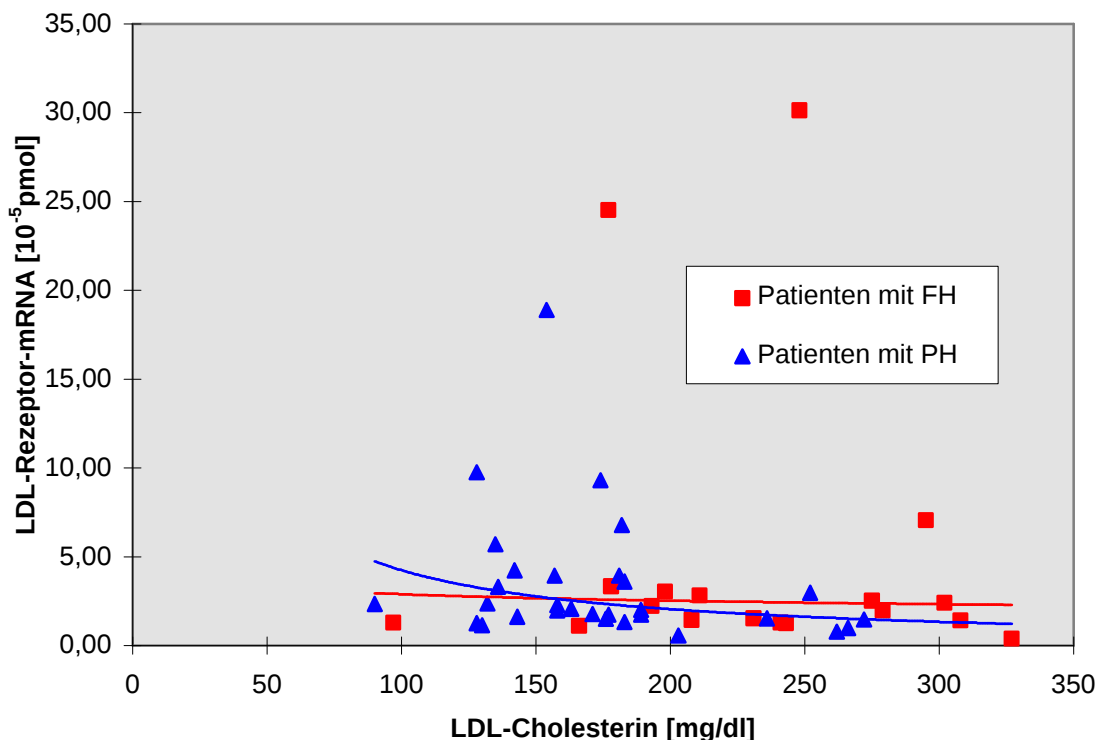


Abbildung 3.5.: Korrelation zwischen Serum-LDL-Cholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA (1×10^6 Lymphozyten) bei Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie.

Bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie zeigte sich keine Beziehung zwischen LDL-Cholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA ($p=0,810$). Bei Patienten mit polygener Hypercholesterinämie zeigte sich hingegen eine signifikante negative Korrelation zwischen LDL-Cholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA ($p=0,031$).

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Korrelationen wurden mit SPSS nach Spearman Correlation Coefficients ermittelt, das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

3.1.4. LDL-Rezeptor-Aktivität und andere Serumlipidparameter

Zwischen Gesamtcholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA zeigte sich bei den Patienten ohne LDL-Rezeptordefekt ebenfalls eine negative Korrelation, die jedoch nicht signifikant war ($p=0,236$ bei 1×10^6 Lymphozyten). In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie bestand keine Beziehung zwischen Gesamtcholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA ($p=0,817$ bei 1×10^6 Lymphozyten) (Daten nicht dargestellt).

Zwischen HDL-Cholesterin, VLDL-Cholesterin, Triglyceriden, Apolipoprotein B sowie Lipoprotein(a) einerseits und LDL-Rezeptor-mRNA andererseits zeigte sich sowohl bei den Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie, als auch bei den Patienten mit polygener Hypercholesterinämie kein Anhalt für eine Beziehung (Daten nicht dargestellt).

3.1.5. LDL-Rezeptor-Aktivität und Alter

Ebenso ergab sich für die LDL-Rezeptor-mRNA beider Patientengruppen keine Korrelation mit dem Alter (Abbildung 3.6.). In der Patientengruppe mit familiärer Hypercholesterinämie betrug der Korrelationskoeffizient $p=0,980$ (1×10^6 Lymphozyten) und in der Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie $p=0,935$ (1×10^6 Lymphozyten).

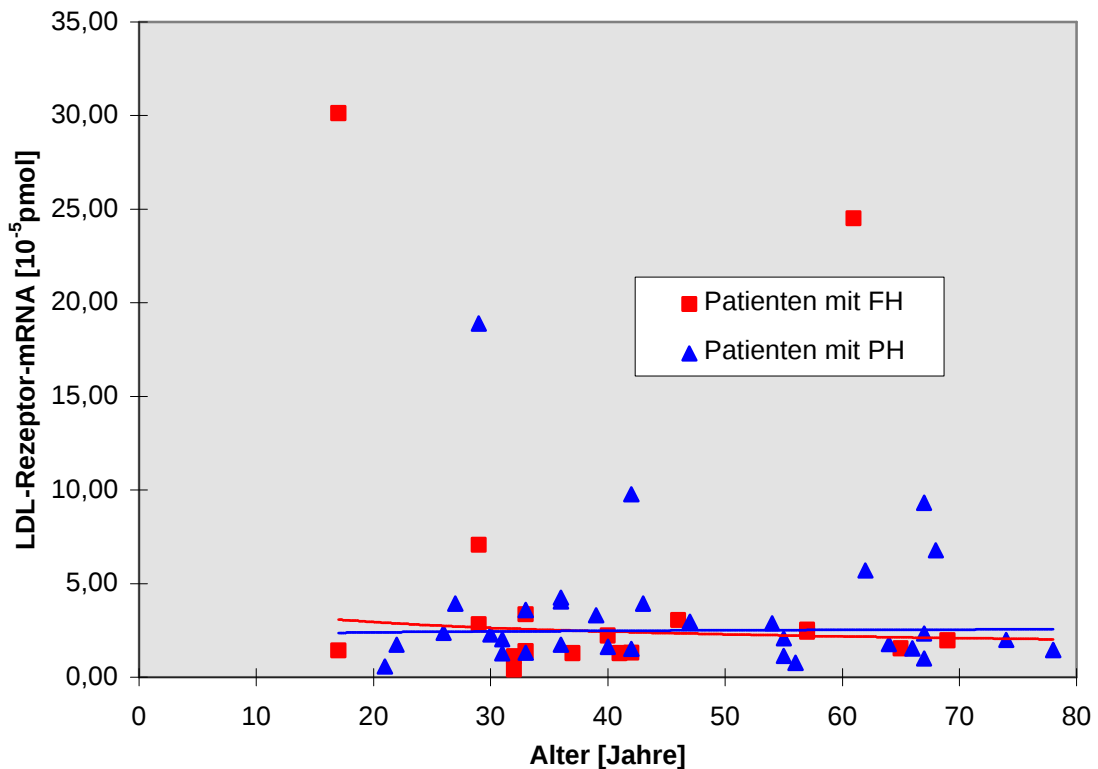


Abbildung 3.6.: Korrelation zwischen Alter und LDL-Rezeptor-mRNA (1×10^6 Lymphozyten) bei Patienten mit familiärer ($p=0,980$) und polygener ($p=0,935$) Hypercholesterinämie.

Bei beiden Patientengruppen zeigte sich kein Anhalt für eine Beziehung zwischen LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentration und Alter.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Korrelationen wurden mit SPSS nach Spearman Correlation Coefficients ermittelt, das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

3.1.6. LDL-Rezeptor-Aktivität und Geschlecht

Auch hinsichtlich der homogenen Geschlechtsverteilung zeigten sich sowohl bei den Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie ($p=0,4414$ bei 1×10^6 Lymphozyten) als auch bei den Patienten mit polygener Hypercholesterinämie ($p=0,7735$ bei 1×10^6 Lymphozyten) keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen der Lymphozyten (Abbildung 3.7. und 3.8.).

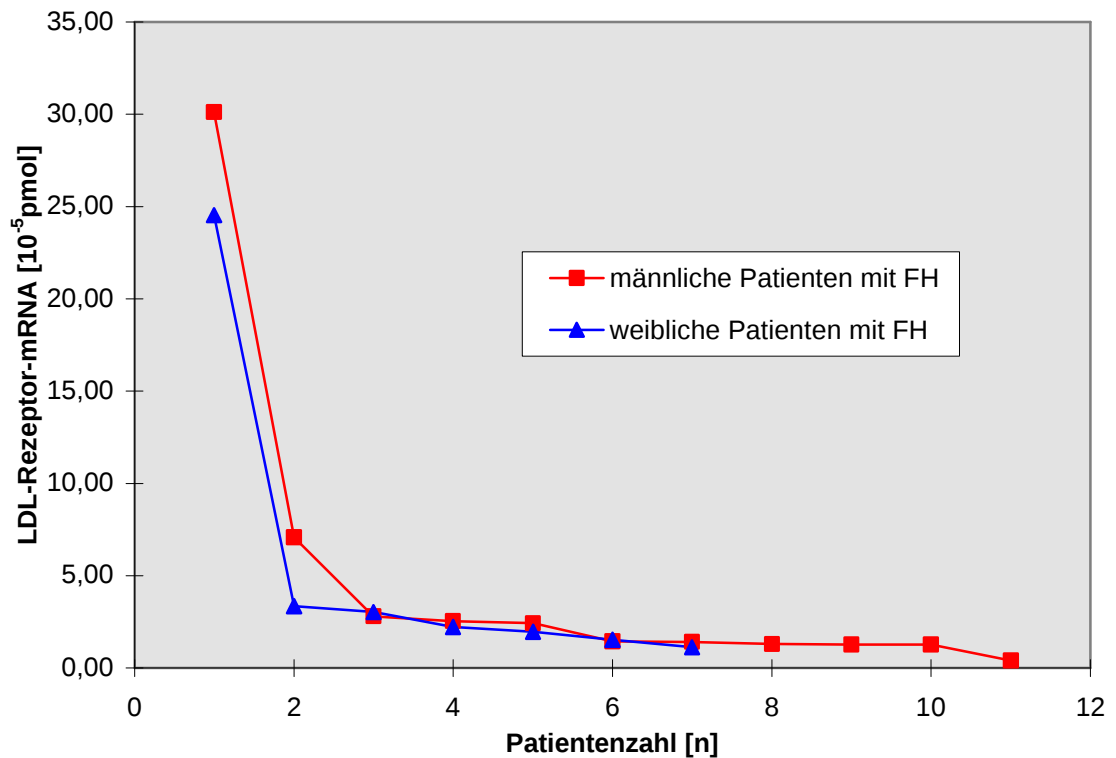


Abbildung 3.7.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen (1×10^6 Lymphozyten) zwischen männlichen und weiblichen Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie.

Die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA von männlichen und weiblichen Patienten überlappten weitgehend ($p=0,4414$).

Die Werte der LDL-Rezeptor-mRNA sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

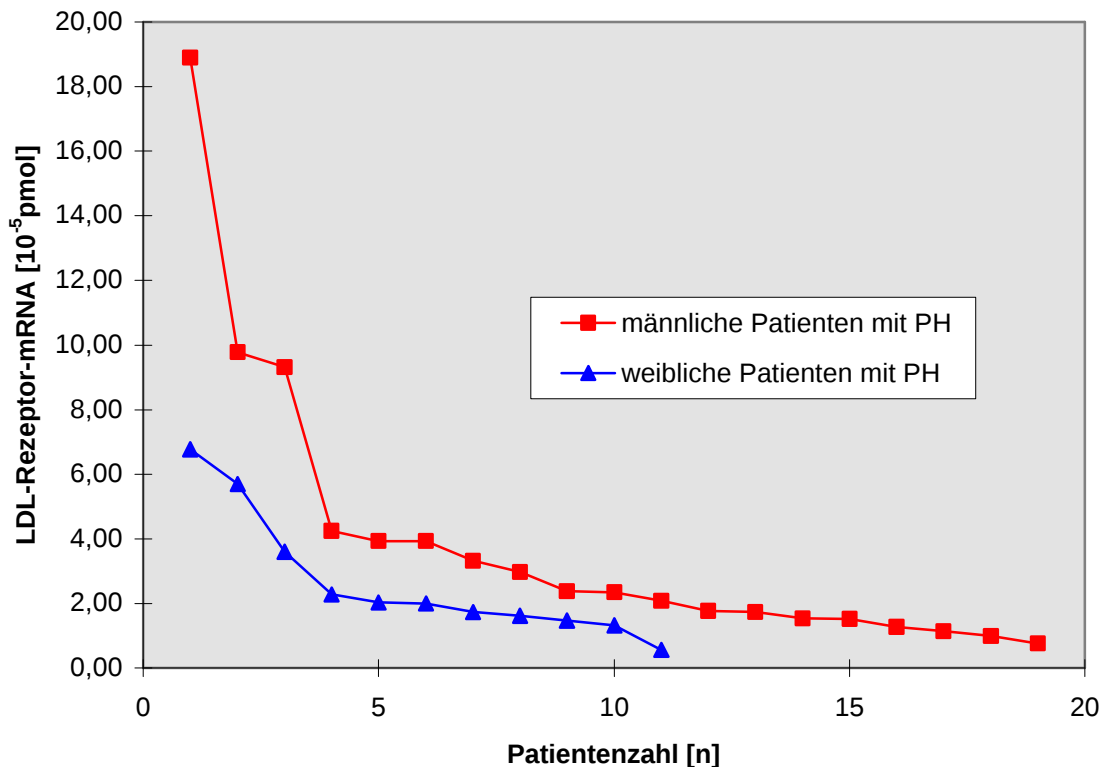


Abbildung 3.8.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen (1×10^6 Lymphozyten) zwischen männlichen und weiblichen Patienten mit polygener Hypercholesterinämie.

Die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA von männlichen und weiblichen Patienten überlappten weitgehend ($p=0,7735$).

Die Werte der LDL-Rezeptor-mRNA sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

3.1.7. LDL-Rezeptor-Aktivität und medikamentöse bzw. diätetische

Therapie

Wie oben beschrieben standen alle bis auf eine Patientin entweder unter diätetischer oder medikamentöser lipidsenkender Therapie mit Simvastatin, Lovastatin oder Cholestyramin von unterschiedlicher Dauer (Anlage - Tabelle 2 und 3) und stellten sich im Rahmen dieser Arbeit erneut in der Lipidambulanz vor.

In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie standen 9 Patienten (50%) unter medikamentöser und weitere 9 Patienten (50%) unter diätetischer Therapie. In der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie standen 15 Patienten (48%) unter medikamentöser und 16 Patienten (52%) unter diätetischer Therapie (Tabelle 3.6.). In der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie hatten zwei Patienten unter medikamentöser Therapie deutlich höhere LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen als jene unter diätetischer Therapie. Diese Unterschiede waren jedoch nicht signifikant ($p=0,2004$). In der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie ergaben sich hinsichtlich der Therapieart ebenfalls keine signifikanten Unterschiede in der Höhe der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen ($p=0,3845$) (Abbildung 3.9. und 3.10.).

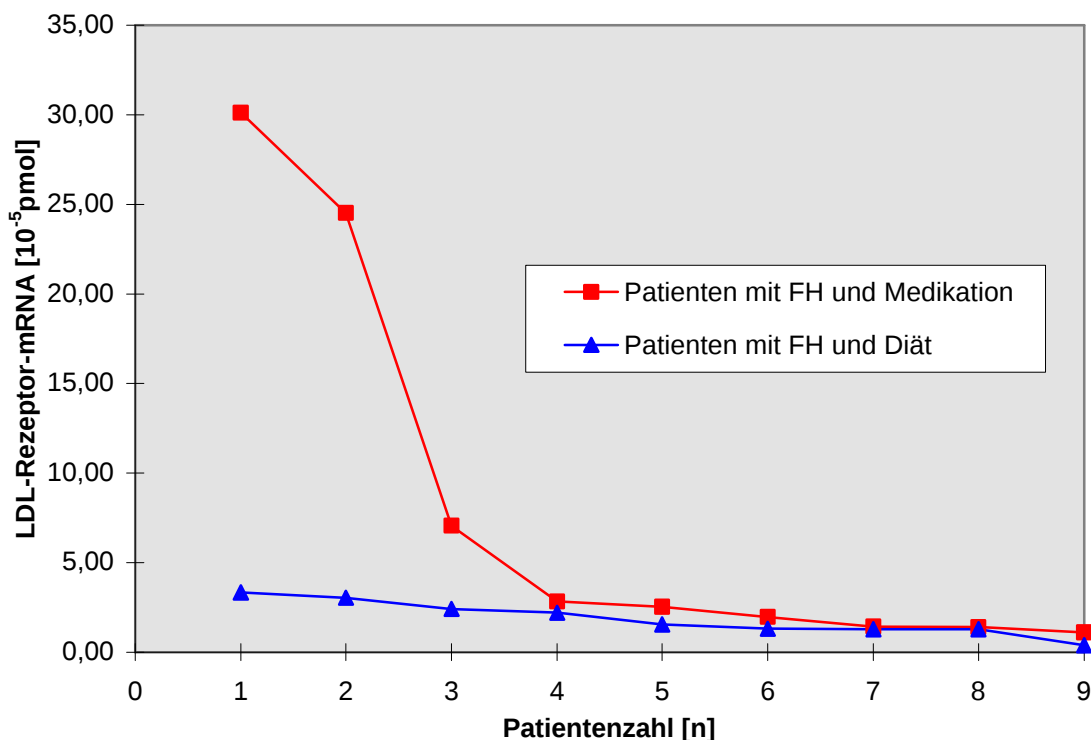


Abbildung 3.9.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen (1×10^6 Lymphozyten) in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie zwischen Patienten mit medikamentöser und diätetischer Therapie.

Die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen von Patienten mit diätetischer und medikamentöser Therapie überlappten weitgehend ($p=0,2004$).

Die Werte der LDL-Rezeptor-mRNA sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

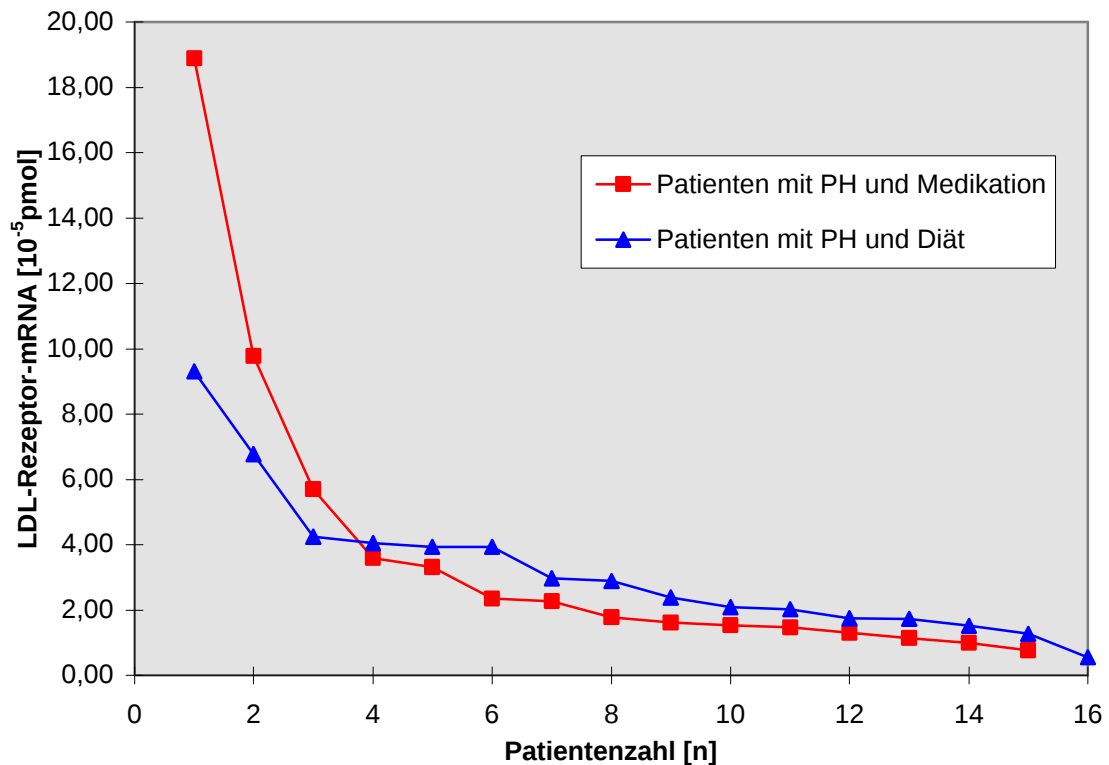


Abbildung 3.10.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen (1×10^6 Lymphozyten) in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie zwischen Patienten mit medikamentöser und diätetischer Therapie.

Die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen von Patienten mit diätetischer und medikamentöser Therapie überlappten weitgehend ($p=0,3845$).

Die Werte der LDL-Rezeptor-mRNA sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanz der Lageunterschiede der Größen wurde mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

3.2. Gesamtkollektiv

Das Gesamtkollektiv setzte sich aus dem oben beschriebenen Patientenkollektiv und Probanden mit niedrigen bis durchschnittlichen Cholesterinwerten zusammen (im Folgenden als Normalpersonen bezeichnet) (Kapitel 2.1. und 2.3.1., Anhang Tabelle 1).

3.2.1. Unterschiede zwischen Normalpersonen und Patientengruppen

Die Normalpersonen unterschieden sich in allen quantitativ bestimmten Parametern hoch signifikant von beiden Patientengruppen (Tabelle 3.10.). Die Normalpersonen

waren wesentlich jünger, als das Patientenkollektiv (Abbildung 3.11.). Das Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, VLDL-Cholesterin und die Triglyceride waren deutlich niedriger, das HDL-Cholesterin deutlich höher als in beiden Patientengruppen.

Parameter	Normalpersonen		Pat. mit PH		Pat. mit FH		Sign. d. Diff. (2-Tailed-P)
	n	MW (S)	n	MW (S)	n	MW (S)	
Alter [Jahre]	21	29,8 (7,9)	-	-	18	40,9 (15,4)	0,0017
Ges. Chol. [mg/dl]	21	171,6 (29,6)	-	-	18	299,3 (59,1) ^{*1)}	<0,0001
LDL-Chol. [mg/dl]	21	102,5 (26,5)	-	-	18	232,1 (59,6) ^{*1)}	<0,0001
HDL-Chol. [mg/dl]	21	53,2 (12,7)	-	-	18	45,6 (18,6) ^{*1)}	0,0345
VLDL-Chol. [mg/dl]	21	15,9 (7,2)	-	-	17	21,6 (5,6) ^{*1)}	0,0036
Triglyceride [mg/dl]	21	77,4 (29,2)	-	-	18	113,1 (34,7) ^{*1)}	0,0014
Alter [Jahre]	21	29,8 (7,9)	32	46,1 (16,7)	-	-	0,0001
Ges. Chol. [mg/dl]	21	171,6 (29,6)	32	255,6 (60,2) ^{*1)}	-	-	<0,0001
LDL-Chol. [mg/dl]	21	102,5 (26,5)	30	175,0 (44,9) ^{*1)}	-	-	<0,0001
HDL-Chol. [mg/dl]	21	53,2 (12,7)	32	46,4 (17,3) ^{*1)}	-	-	0,0198
VLDL-Chol. [mg/dl]	21	15,9 (7,2)	29	25,5 (13,4) ^{*1)}	-	-	0,0027
Triglyceride [mg/dl]	21	77,4 (29,2)	32	171,1 (185,3) ^{*1)}	-	-	0,0007

*1) unter Therapie

Tabelle 3.10.: Vergleich quantitativer Größen zwischen den Normalpersonen und beiden Patientengruppen.

Bei allen quantitativen Größen bestanden hoch signifikante Unterschiede zwischen den Normalpersonen und beiden Patientengruppen. In der Gruppe der Normalpersonen waren Alter, Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin, VLDL-Cholesterin und Triglyceride hochsignifikant niedriger, HDL-Cholesterin war hoch signifikant höher als in beiden Patientengruppen.

Pat. = Patienten, FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie, Sig. d. Diff. = Signifikanz der Differenz, MW = Mittelwert, S = Standardabweichung, Ges.Chol. = Gesamtcholesterin.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanzen der Lageunterschiede der Größen wurden mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

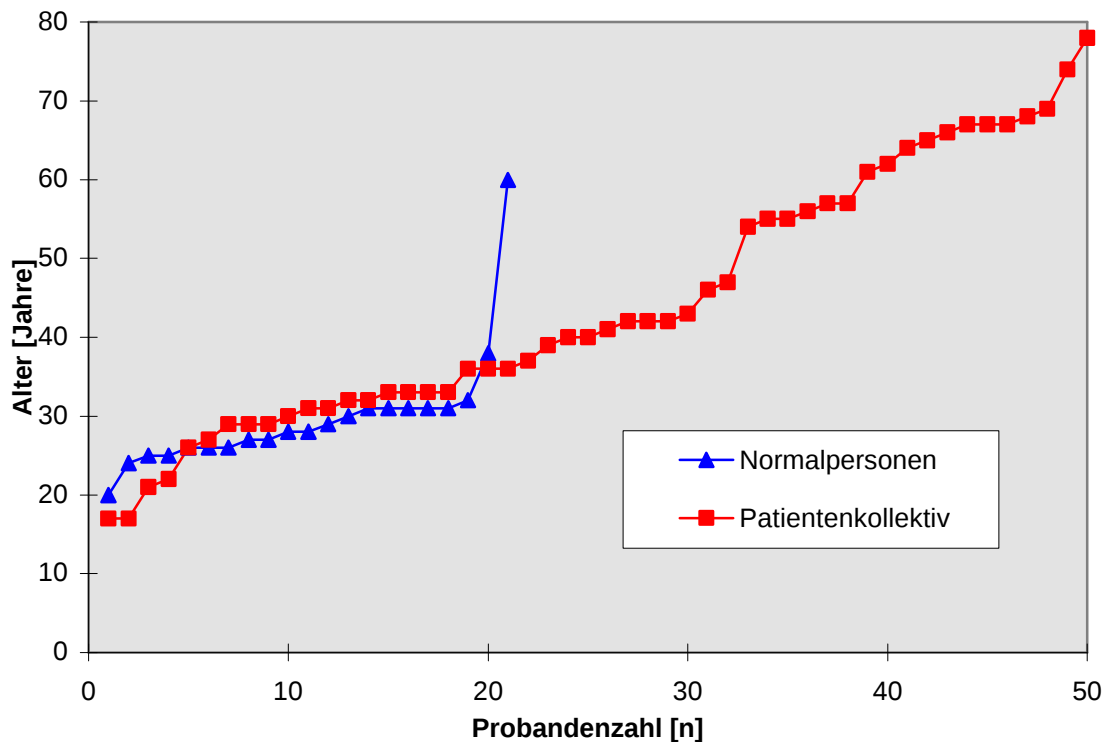


Abbildung 3.11.: Altersverteilung von Normalpersonen und Patientenkollektiv.
Die Altersverteilung im Patientenkollektiv war zwischen 17 und 78 Jahre homogen verteilt; bei den Normalpersonen lag das Altersspektrum fast ausschließlich zwischen 20 und 35 Jahren.
 Die Werte sind in aufsteigender Reihenfolge sortiert.

3.2.2. LDL-Rezeptor-mRNA

Nachdem oben festgestellt wurde, daß die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA aus Lymphozyten von hypercholesterinämischen Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie weitgehend überlappten (Tabelle 3.9. und Abbildung 3.4.), zeigten sich beim Vergleich mit den Normalpersonen deutliche Unterschiede (Tabelle 3.11. und Abbildung 3.12.). Zum einen sind die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen der Normalpersonen signifikant höher als die der Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie ($p < 0,0001$). Zum anderen war die Verteilung der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen innerhalb der Gruppe der Normalpersonen deutlich homogener als bei den Patientengruppen.

Parameter	Normal- personen		Pat. mit PH		Pat. mit FH		Sig. d. Diff. (2-tailed-p)
	n	MW (S)	n	MW (S)	n	MW (S)	
LDL-R-mRNA $0,5 \times 10^6$ Lymphozyten [10^{-5} pmol]	21	6,2 (3,7)	-	-	18	2,3 (2,9)	0,0001
LDL-R-mRNA 1×10^6 Lymphozyten [10^{-5} pmol]	21	15,3 (10,9)	-	-	18	5,0 (8,3)	<0,0001
LDL-R-mRNA $0,5 \times 10^6$ Lymphozyten [10^{-5} pmol]	21	6,2 (3,7)	32	1,9 (1,4)	-	-	<0,0001
LDL-R-mRNA 1×10^6 Lymphozyten [10^{-5} pmol]	21	15,3 (10,9)	32	3,4 (3,6)	-	-	<0,0001

Tabelle 3.11.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen zwischen Normalpersonen und beiden Patientengruppen.

Die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen der Normalpersonen waren hoch signifikant höher als die beider Patientengruppen. Zudem waren die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen der Normalpersonen im Vergleich zu den Patientengruppen homogener verteilt.

Pat. = Patient, FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie, Sig. der Diff. = Signifikanz der Differenz, MW = Mittelwert, S = Standardabweichung.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanzen der Lageunterschiede der Größen wurden mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

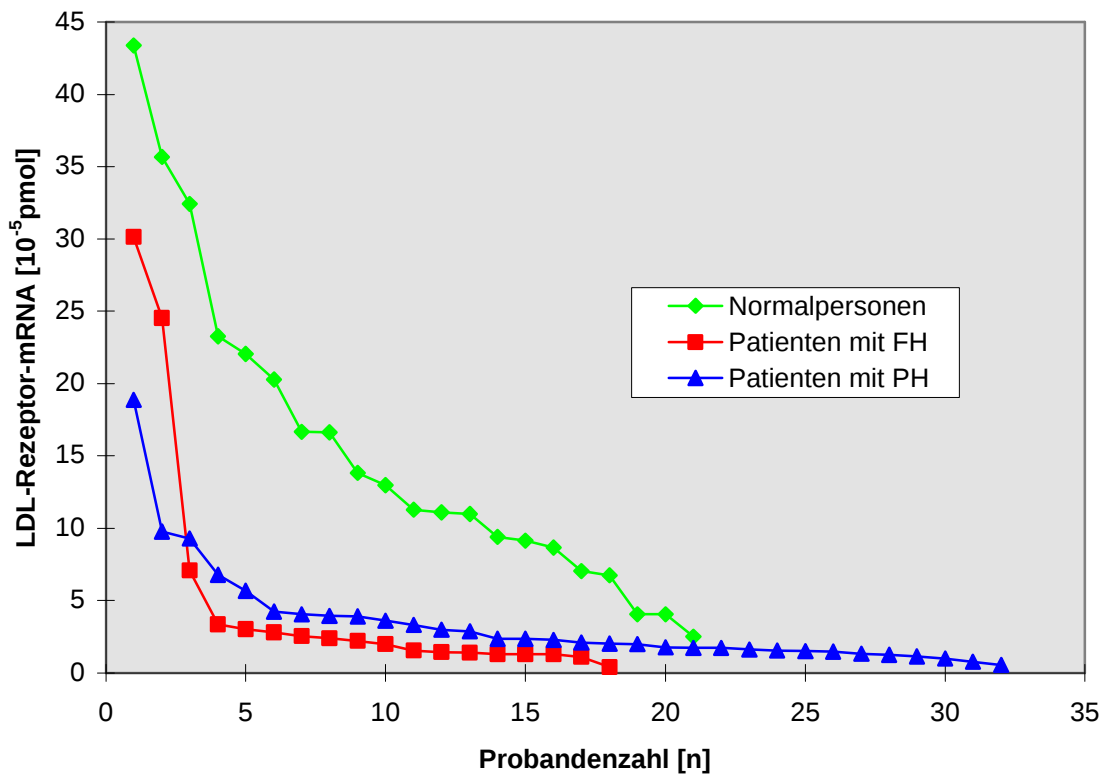


Abbildung 3.12.: Vergleich der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen (1×10^6 Lymphozyten) zwischen Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie und Normalpersonen.

Die Konzentrationsunterschiede der LDL-Rezeptor-mRNA zwischen den Patientengruppen und den Normalpersonen waren hoch signifikant ($p < 0,0001$). Im Vergleich zu den Patientengruppen waren die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA in der Gruppe der Normalpersonen homogener verteilt.

Die Werte der LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentration sind in absteigender Reihenfolge sortiert.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Statistik wurde mit SPSS ermittelt, die Signifikanzen der Lageunterschiede der Größen wurden mit dem Mann-Whitney-Wilcoxon-U-Test berechnet, das Signifikanzniveau war $p < 0,05$.

3.2.3. LDL-Rezeptor-Aktivität und LDL-Cholesterin

Wie oben beschrieben wurde, zeigte sich bei den Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie kein Anhalt für eine Beziehung zwischen LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten und Serum-LDL-Cholesterinspiegel. Hingegen zeigte sich bei den Patienten mit polygener Hypercholesterinämie eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen LDL-Rezeptor-mRNA und LDL-Cholesterin (Abbildung 3.5. und 3.13.). Für die Gruppe der Normalpersonen allein ergab sich kein Anhalt für eine Beziehung zwischen LDL-Rezeptor-Aktivität und LDL-Cholesterin ($p = 0,688$ bei



Bei Normalpersonen allein zeigte sich kein Anhalt für eine Beziehung zwischen LDL-

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.
Die Korrelationskoeffizienten mit SPSS nach Spearman Correlation Coefficiente ermittelt.

Die Korrelationen wurden mit SPSS nach Spearman Correlation Coefficients ermittelt, das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

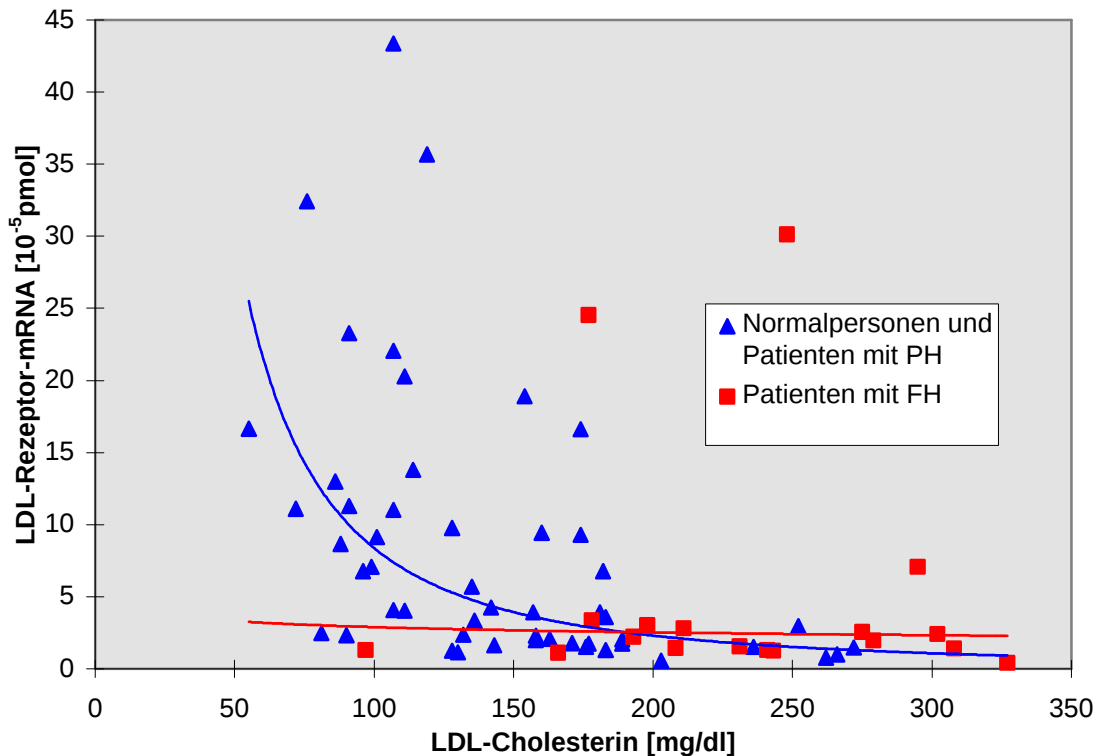


Abbildung 3.14.: Korrelation zwischen LDL-Cholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA (1×10^6 Lymphozyten) bei Probanden ohne familiäre Hypercholesterinämie (Normalpersonen und Patienten mit polygener Hypercholesterinämie) und bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie.

Bei Probanden ohne familiäre Hypercholesterinämie zeigte sich eine hoch signifikante negative Korrelation zwischen LDL-Cholesterin und LDL-Rezeptor-mRNA ($p < 0,0001$). Bei den Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie zeigte sich kein Anhalt für eine solche Beziehung.

FH = Familiäre Hypercholesterinämie, PH = Polygene Hypercholesterinämie.

Die Korrelationen wurden mit SPSS nach Spearman Correlation Coefficients ermittelt, das Signifikanzniveau lag bei $p < 0,05$.

4. Diskussion

Die Ergebnisse der Arbeit zeigen eine Suppression der LDL-Rezeptor-Aktivität in menschlichen zirkulierenden Lymphozyten ab einer LDL-Cholesterin-Konzentration von etwa 100 mg/dl. Das bedeutet, daß LDL-Cholesterin-Konzentrationen oberhalb von 100 mg/dl zu intrazellulären Cholesterin-Konzentrationen führen, die die Transkription der LDL-Rezeptor-mRNA blockieren und somit die Expression von LDL-Rezeptoren auf der Oberfläche der Lymphozyten herunterregulieren (Kapitel 1.3.). Wenn diese Ergebnisse auf menschliche Zellen, die mit LDL in Kontakt kommen, verallgemeinert werden können, besteht unter diesen Bedingungen ein Mangel an physiologischem Rezeptor-vermitteltem LDL-Katabolismus. Nach den Ergebnissen dieser Arbeit könnte ein Serum-LDL-Cholesterin von etwa 100 mg/dl einen Schwellenwert darstellen, oberhalb dessen LDL aufgrund der verminderten Zahl von LDL-Rezeptoren vermehrt in die Gefäßwand eingelagert wird, was dann zum Anstieg kardialer Ereignisse führt. Denn im Unterschied zur LDL-Rezeptor-vermittelten Endozytose ist der Rezeptor-unabhängige LDL-Katabolismus, der Scavenger pathway, nicht sättigbar [Kostner und März 1995]. Die Expression von Scavenger-Rezeptoren wird im Gegensatz zu der von LDL-Rezeptoren nicht vom intrazellulären Cholesteringehalt beeinflusst. Die Kapazität des Scavenger pathway ist eine lineare Funktion der Plasma-Konzentration des LDL-Cholesterins, so daß mit steigenden LDL-Cholesterin-Konzentrationen ein höherer LDL-Anteil über den Scavenger pathway aufgenommen wird. Das würde auch Zellen der arteriosklerotischen Läsionen wie Makrophagen betreffen.

Für die Prävention würde der Schwellenwert von 100 mg/dl LDL-Cholesterin eine Grenze bedeuten, die nicht überschritten bzw. therapeutisch unterschritten werden sollte, um die Entwicklung von Arteriosklerose zu verhindern bzw. zum Stillstand zu bringen. Diese Beobachtung könnte die geringe Inzidenz koronarer Herzkrankheit in Ländern mit niedrigen durchschnittlichen LDL-Cholesterinwerten erklären. Hierbei sind nicht nur Länder der Dritten Welt zu nennen, in denen die Prävalenz weiterer kardialer Risikofaktoren wie Diabetes mellitus oder arterieller Hypertonus ebenfalls niedrig ist. Die niedrige Rate an koronarer Herzkrankheit in Ländern mit gleichzeitig hoher Prävalenz von Rauchern oder Hypertonikern wie beispielsweise Japan lehrt, daß die

Entwicklung von koronarer Herzkrankheit die durchschnittlich höheren, bei uns in Deutschland üblichen Cholesterinspiegel voraussetzt [Windler 1999].

Auch die Ergebnisse vieler Interventionsstudien sind mit den Ergebnissen dieser Untersuchung kompatibel. Die Wirksamkeit der lipidsenkenden Therapie zur Reduktion kardialer Ereignisse hat sich in vielen Studien der letzten Jahre bestätigt. Beispielsweise führte in der 4S-Studie die Senkung des LDL-Cholesterins und die Erhöhung des HDL-Cholesterins innerhalb von fünf Behandlungsjahren zur Reduktion der Myokardinfarkt-Inzidenz um 40% und der KHK-Mortalität um 42%. Dabei lag zwar das durchschnittliche LDL-Cholesterin bei 140 mg/dl, jedoch hatte das Drittel der Probanden, das ein LDL-Cholesterin von weniger als 100 mg/dl erreichte, das geringste cardiale Risiko [Scandinavian Simvastatin Survival Study Group 1994]. Dieses Ergebnis könnte sich durch den in dieser Arbeit beobachteten Schwellenwert für das LDL-Cholesterin von 100 mg/dl erklären. Darüber hinaus haben mehrere große Studien die Wirksamkeit lipidsenkender Therapie bei vergleichsweise niedrigen Ausgangscholesterinwerten belegt, die wenig über 100 mg/dl lagen. In der CARE-Studie (Cholesterol and Recurrent Event Study) führte die Senkung von LDL-Cholesterinwerten zwischen 115 und 174 mg/dl noch zu einer effektiven Reduktion von Reinfarkten und der Frequenz des Koronartods [Sacks et al. 1995].

Des weiteren deckt sich die Beobachtung mit einer Reihe von koronarangiographisch kontrollierten Sekundärinterventionsstudien der letzten Jahre [Blankenhorn et al. 1987, Brown et al. 1990, Kane et al. 1990, Watts et al. 1992, Blankenhorn et al. 1993, MAAS Investigators 1994]. Es konnte gezeigt werden, daß der Verlauf der koronaren Herzkrankheit am günstigsten beeinflußt wird, wenn das LDL-Cholesterin auf Konzentrationen um 100 mg/dl abgesenkt wird. Im Lifestyle Heart Trial wurde Angina pectoris in der Behandlungsgruppe durch Senkung des LDL-Cholesterins auf durchschnittlich 100 mg/dl mittels konsequenter lipidsenkender Diät um 90% vermindert [Ornish et al. 1990, Ornish et al. 1998]. Auch Quantifizierung des Plaquevolumens mittels Elektronenstrahl-Computertomographie hat gezeigt, daß eine Konzentration des LDL-Cholesterins von etwa 100 mg/dl zu Regression oder Stillstand von Arteriosklerose führen kann [Achenbach et al. 1998]. Diese Ergebnisse haben in den Empfehlungen der Europäischen-Atherosklerose-Gesellschaft ihren Niederschlag

gefunden [Taskforce for the prevention of coronary heart disease. European Atherosclerosis Society 1992].

Die hypercholesterinämischen Patienten wurden nach den oben genannten Kriterien klinisch in Patienten mit heterozygoter familiärer Hypercholesterinämie und Patienten mit polygener Hypercholesterinämie klassifiziert. Das klinische Bild einer heterozygoten familiären Hypercholesterinämie ähnelt häufig dem einer polygenen Hypercholesterinämie. Dennoch gibt es verschiedene Merkmale, deren Vorliegen die klinische Diagnose einer heterozygoten familiären Hypercholesterinämie wahrscheinlich machen und eine Differenzierung zur polygenen Hypercholesterinämie ermöglichen.

Beide Hypercholesterinämien gehen mit erhöhten Gesamt- und LDL-Cholesterinwerten einher. Unbehandelte heterozygote Merkmalsträger haben Gesamt- und LDL-Cholesterinwerte zwischen 275 und 500 mg/dl bzw. 230 und 450 mg/dl. Die HDL-Cholesterinwerte sind oft erniedrigt und die VLDL-Cholesterin- sowie Triglyceridwerte liegen in der Regel im Normbereich. Im Vergleich dazu weisen Patienten mit polygener Hypercholesterinämie nur mäßig erhöhte Gesamt- (240 bis 350 mg/dl) und LDL-Cholesterinspiegel auf.

Bei heterozygoten Merkmalsträgern weist obligat ein Elternteil eine Hypercholesterinämie auf. Im Gegensatz dazu bedingen bei der polygenen Hypercholesterinämie genetisch prädisponierende Faktoren zusammen mit äußeren Einflüssen eine Hypercholesterinämie, die sich beim einzelnen Individuum, aber nicht bei den übrigen Mitgliedern einer Familie nachweisen lässt.

Tendinöse Xanthome der Strecksehnen der Hand und der Achillessehne sind fast pathognomonisch für das Vorliegen einer heterozygoten familiären Hypercholesterinämie. Sie kommen jedoch nicht bei allen Patienten vor, aber finden sich bei ca. 75% aller betroffenen Erwachsenen [Ginsberg und Goldberg 1998]. Die Häufigkeit des Auftretens von Xanthomen korreliert sowohl mit dem Alter als auch mit der Höhe des Serumcholesterins. Die meisten heterozygoten Merkmalsträger unter 20 Jahren und ca. 25% der Betroffenen über 20 Jahre weisen keine Sehnenxanthome auf [Goldstein und Brown 1989]. Heterozygote Patienten jenseits des 40. Lebensjahres

haben in 46-95% der Fälle Xanthome der Sehnen [*Piper und Orrild 1956, Gagné et al. 1979, Hill et al. 1991*]. Bei der polygenen Hypercholesterinämie treten Sehnenxanthome hingegen nicht auf.

Die frühzeitige Entwicklung von Arteriosklerose, insbesondere in den Koronarien steht bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie klinisch ganz im Vordergrund. Bei 50% der Patienten entwickelt sich unbehandelt bis zum 40. Lebensjahr eine koronare Herzkrankheit [*Windler und Greten 1998c*]. Ohne ausreichende Therapie tritt ein Myokardinfarkt nahezu obligat bei Männern im 5. oder 6. Lebensjahrzehnt und bei Frauen 10 bis 15 Jahre später auf [*Neaton und Wentworth 1992, Law et al. 1994*]. Des weiteren sterben etwa 50% der Männer vor dem 50. Lebensjahr und 25% der Frauen vor dem 60. Lebensjahr am akuten Herzinfarkt oder durch einen Sekundenherztod [*Stone et al. 1974*]. Patienten mit polygener Hypercholesterinämie haben zwar ebenfalls ein erhöhtes Arterioskleroserisiko, erkranken aber nicht so frühzeitig wie Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie.

Sowohl Xanthelasmen als auch Arcus lipoides corneae können ein Hinweis auf das Vorliegen einer heterozygoten familiären Hypercholesterinämie sein. Xanthelasmen fehlen jedoch häufig und sind relativ unspezifisch, da sie auch bei Patienten mit Gallenblasenerkrankungen und als Zufallsbefund bei Stoffwechselgesunden gefunden werden. Auch Arcus lipoides fehlen bei heterozygoten Merkmalsträgern häufig. Ca. 50% der 50jährigen unbehandelten Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie in Großbritannien haben keinen Arcus lipoides [*Winder und Day 1997*]. Für die klinische Diagnostik der familiären Hypercholesterinämie hat das Vorhandensein eines Arcus lipoides bei Patienten unter 50 Jahren jedoch eine hohe Spezifität. Allerdings kommen Arcus lipoides gelegentlich auch familiär ohne gleichzeitiges Vorliegen einer Fettstoffwechselstörung vor [*Richter und Schwandt 1995*]. Insgesamt sind Xanthelasmen und Arcus lipoides nicht pathognomonisch für die heterozygote familiäre Hypercholesterinämie, erhöhen jedoch bei gleichzeitigem Vorliegen weiterer typischer Merkmale erheblich deren Wahrscheinlichkeit.

Beweisend für die Diagnose einer familiären Hypercholesterinämie ist zwar der Nachweis eines LDL-Rezeptor-Defektes. Zusammenfassend läßt sich die Diagnose aber auch klinisch aufgrund der hohen Gesamt- und LDL-Cholesterin-Konzentrationen in Verbindung mit einer positiven Familienanamnese und/oder tendinösen Xanthomen mit hoher Sicherheit stellen.

Patienten mit heterozygoter familiärer Hypercholesterinämie sind klinisch von Patienten mit familiärem Apolipoprotein-B-100-Defekt nicht zu unterscheiden. Diese autosomal-dominant vererbte Krankheit ist ebenfalls durch eine Hypercholesterinämie gekennzeichnet, die von Xanthomen und einer frühzeitigen koronaren Atherosklerose gefolgt ist. Im Vergleich zur heterozygoten familiären Hypercholesterinämie neigen Patienten mit familiärem Apolipoprotein-B-100-Defekt jedoch eher zu einer milderen Form der Hypercholesterinämie [Miserez und Keller 1995] und bei einzelnen Patienten wurden im Rahmen von Familienuntersuchungen normale Serum-Cholesterinspiegel für ihr Alter und Geschlecht gefunden [Innerarity et al. 1990, Defesche et al. 1991, Maher et al. 1991, Myant et al. 1991]. Xanthome der Fingerstrecksehnen und der Achillessehne treten in 2% bis 47% auf, und unterscheiden sich nicht von denen bei familiärer Hypercholesterinämie [Tybjaerg-Hansen et al. 1990, Rauh et al. 1991]. Da sich ein Rezeptordefekt klinisch nicht wesentlich von einem Defekt des Apolipoprotein B-100 unterscheidet, wurden in dieser Arbeit alle Patienten mit den oben genannten Kriterien in einer Kategorie subsummiert.

Auch in der Patientengruppe ohne die klinischen Kriterien der familiären Hypercholesterinämie ist nicht auszuschließen, daß sich darin einzelne Patienten befinden, die keine polygene Hypercholesterinämie aufweisen. Differentialdiagnostisch kommen vor allem die kombinierte Hyperlipidämie und die sehr seltene familiäre Hyperlipidämie Typ III in Frage. Da diese Fälle, soweit klinisch vermutet, während ihrer Behandlung in der lipidologischen Spezialambulanz ausgeschlossen wurden, konnten alle Patienten ohne die klinischen Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie der Gruppe der polygenen Hypercholesterinämie zugeordnet werden.

Bei Probanden ohne familiäre Hypercholesterinämie korrelierte das LDL-Cholesterin signifikant negativ mit der LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten. Für Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie ergab sich hingegen kein Anhalt für eine solche Beziehung. Das könnte bedeuten, daß die LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie unabhängig vom Serum-LDL-Cholesterinspiegel reguliert wird. Im Gegensatz zu den Probanden ohne LDL-Rezeptor-Defekt führt jedoch wahrscheinlich die um 50% erniedrigte LDL-Rezeptor-Kapazität zur deutlich höheren LDL-Rezeptor-unabhängigen zellulären LDL-Aufnahme über den Scavenger pathway. Das führt offenbar bei den hohen, für heterozygote Merkmalsträger typischen LDL-Cholesterinwerten zur Suppression der LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten, so daß sich bei heterozygoten Merkmalsträgern keine negative Korrelation ergibt.

Für die Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie ergab sich eine statistisch signifikante negative Korrelation zwischen LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten und Serum-LDL-Cholesterin-Konzentration (Abbildung 3.5. und 3.13.). Für die Gruppe der Normalpersonen ergab sich hingegen kein Anhalt für eine solche Beziehung (Abbildung 3.13.). Das läßt sich möglicherweise durch das schmale Cholesterinspektrum in der Gruppe der Normalpersonen im Gegensatz zum breiteren Cholesterinspektrum in der Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie erklären. Betrachtete man jedoch die Normalpersonen und die Patienten mit polygener Hypercholesterinämie als ein Probandenkollektiv, so ergab sich eine hoch signifikante negative Korrelation zwischen LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten und Serum-LDL-Cholesterin-Konzentration (Abbildung. 3.14.) Diese Beziehung hatte sich in der isoliert betrachteten Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie schon angedeutet (Abbildung 3.5. und 3.13.). Statistisch gesehen handelt es sich jedoch um zwei Kollektive, die nicht homogen ineinander übergehen und deren statistische Vereinigung somit im strengen Sinne nicht zulässig ist. Diese Inhomogenität läßt sich möglicherweise durch das schmale und wenig repräsentative Altersspektrum innerhalb der Gruppe der Normalpersonen im Gegensatz zum breiten und repräsentativen Altersspektrum der Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie erklären (Abbildung 3.11.). Andererseits scheint die gemeinsame statistische Betrachtung beider

Gruppen gerechtfertigt, da sie ein klinisch einheitliches Probandenkollektiv ohne LDL-Rezeptor-Defekt darstellen.

Die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen von Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie überlappten weitgehend. Dabei lagen die LDL-Rezeptor-mRNA-Konzentrationen aller hypercholesterinämischen Patienten signifikant tiefer als die Werte der Normalpersonen. Diese Ergebnisse sprechen gegen die in der Einführung dargelegte Hypothese, ein LDL-Rezeptor-Defekt könnte aufgrund der um 50% reduzierten LDL-Clearence zu erniedrigten intrazellulären Konzentrationen freien Cholesterins führen und dadurch zur Hochregulation der LDL-Rezeptor-Aktivität. Somit trägt dieser Assay auch nicht zur Differenzierung zwischen familiärer und polygener Hypercholesterinämie bei. Vielmehr legt dieses Ergebnis die Vermutung nahe, daß es aufgrund des Mangels an physiologischem Rezeptor-vermitteltem LDL-Abbau durch den erhöhten Plasma-LDL-Spiegel zu vermehrter unspezifischer zellulärer LDL-Aufnahme über den Scavenger pathway kommt und dadurch die LDL-Rezeptor-Aktivität im Vergleich zu Normalpersonen herunterreguliert ist.

Der positive Zusammenhang von LDL-Cholesterin und Alter wurde in vielen Studien der Vergangenheit belegt. Eine vergleichende Untersuchung, die Daten zum Stoffwechsel von Apolipoprotein B-100 bei Probanden im Alter zwischen 20 und 75 Jahren aus 29 Publikationen zwischen 1972 und 1984 zusammentrug, zeigte sowohl für gesunde Probanden als auch für Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie einen durchschnittlichen jährlichen LDL-Cholesterin-Anstieg von 1,2 mg/dl [Miller 1984]. Die Ergebnisse einer Studie von Grundy et al. ließen einen Zusammenhang zwischen den Veränderungen der LDL-Rezeptor-Aktivität und den altersabhängigen Veränderungen im LDL-Stoffwechsel vermuten [Grundy et al. 1985a]. In Übereinstimmung damit fanden Ericsson et al., daß die LDL-Erhöhung im Alter auf eine verringerte Elimination und das wiederum auf eine verringerte Expression der LDL-Rezeptoren in der Leber zurückzuführen ist [Ericsson et al. 1991]. Der hepatische Cholesterinstoffwechsel verändert sich mit zunehmendem Alter, wobei sich die Syntheserate der hepatischen Gallensäuren verringert und die biliäre Cholesterinsekretion erhöht [Einarsson et al. 1985]. Daraus resultieren eine Erhöhung

des hepatischen Cholesterinpools, eine Verringerung der LDL-Rezeptordichte und eine Reduktion der fraktionierten Abbaurate von LDL [Kreisberg und Kasim 1987].

In dieser Arbeit an humanen Lymphozyten konnten keine Auswirkungen des Alters auf die LDL-Rezeptor-Aktivität verifiziert werden. Auch in anderen Untersuchungen mit kultivierten Fibroblasten aus menschlicher Haut oder mit glatten Muskelzellen aus Arterienwänden konnte keine Altersabhängigkeit der Aktivität des LDL-Rezeptors nachgewiesen werden [Bierman et al. 1979, Behrman und Wynn 1984, Leren et al. 1985]. Diese Ergebnisse lassen vermuten, daß der positive Zusammenhang zwischen LDL-Cholesterin und Alter primär auf spezifisch hepatische Veränderungen des Cholesterinstoffwechsels mit verminderter LDL-Rezeptor-Aktivität zurückzuführen ist.

Die Haupttodesursache bei Frauen wie bei Männern ist die koronare Herzkrankheit [LaRosa 1995, Statistisches Bundesamt 1997]. Über viele Jahre war die Inzidenz koronarer Herzkrankheit für Frauen ungleich niedriger. Das unterliegt jedoch seit einigen Jahren einem dramatischen Wandel. Seit 1993 versterben in Deutschland mehr Frauen als Männer an Herz-Kreislauf-Erkrankungen und erliegen den Komplikationen koronarer Herzkrankheit [Löwel et al. 1995, Statistisches Bundesamt 1997, Windler 1998a]. Das hat vermutlich mehrere Ursachen. Ein Grund dafür liegt in der Tatsache, daß mehr Frauen rauchen. Ein weiterer Grund für die erhebliche Zunahme kardiovaskulärer Komplikationen mag in der reichlicheren Ernährung liegen. Auch Frauen sind häufig vom metabolischem Syndrom betroffen. Arterieller Hypertonus und Diabetes mellitus Typ 2 sind auffallend oft Begleiterkrankungen bei Frauen mit Myokardinfarkt und Insult.

Der entscheidende Grund für die Zunahme der Inzidenz koronarer Herzkrankheit bei Frauen ist durch die erhebliche Zunahme der Lebenserwartung bedingt. Die Frauen galten bisher als relativ geschützt, da sich Arteriosklerose überwiegend erst jenseits der Menopause entwickelt [Windler 1999]. Die mittlere Lebenserwartung von Frauen hat 80 Jahre überschritten. Entsprechend erreichen Frauen immer häufiger die gefährdete Altersstufe jenseits der Wechseljahre. Die Ursache für die Entwicklung von Arteriosklerose bei Frauen jenseits der Menopause wird mit der verminderten Östrogensynthese begründet. Östrogene steigern die LDL-Rezeptor-Aktivität, wodurch

der LDL-Cholesterinspiegel erniedrigt wird [Kovanen *et al.* 1979]. Deshalb steigt das LDL-Cholesterin nach der Menopause an und erreicht bei Frauen sogar höhere durchschnittliche Konzentrationen als bei Männern gleichen Alters [Rifkind und Segal 1983].

Innerhalb dieser Arbeit ließen sich allerdings bei homogener Geschlechtsverteilung keine signifikanten Unterschiede in der LDL-Rezeptor-Aktivität zwischen beiden Geschlechtern sowohl bei den Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie als auch bei den Patienten mit polygener Hypercholesterinämie zeigen. Vermutlich ist die Anzahl der Probanden pro Gruppe zu gering, um Unterschiede eindeutig erkennen zu können.

Die Patienten dieser Arbeit standen unterschiedlich lang unter diätetischer oder medikamentöser Therapie mit Lovastatin, Simvastatin oder Cholestyramin. Sowohl eine cholesterin- und fettarme Diät als auch Medikamente vom Typ der HMG-CoA-Reduktase-Hemmer oder der Ionenaustauscher erhöhen die Aktivität des LDL-Rezeptors und senken dadurch konsekutiv die Konzentration des LDL-Cholesterins (Kapitel 1.4.).

Patienten mit polygener Hypercholesterinämie können mit konsequenter diätetischer Therapie oft eine ausreichende Absenkung des LDL-Cholesterinspiegels erreichen. Bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie reicht eine diätetische Therapie in den meisten Fällen allerdings nicht aus. In dieser Arbeit hatten Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie und Patienten mit polygener Hypercholesterinämie unter diätetischer und unter medikamentöser Therapie ähnliche Gesamtcholesterinspiegel (Abbildung 3.3.). Vermutlich verhindert die geringe Patientenzahl, die unterschiedlichen Therapiezeiten, die uneinheitlichen Diätformen, die verschiedenen Medikamente, deren Dosierung sowie unterschiedliche Compliance eine Differenzierung der Effektivität.

Sowohl in der Gruppe mit familiärer Hypercholesterinämie als auch in der Gruppe mit polygener Hypercholesterinämie konnte zwischen den Patienten unter diätetischer Therapie und denen unter medikamentöser Therapie kein signifikanter Unterschied in der LDL-Rezeptor-Aktivität der Lymphozyten festgestellt werden (Abbildung 3.9. und 3.10.). Möglicherweise bedeutet das eine vergleichbare Auswirkung von diätetischer

und medikamentöser Therapie auf die LDL-Rezeptor-Aktivität in Lymphozyten. Denkbar wäre auch eine mangelnde Differenzierung aus den oben genannten Gründen.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse dieser Arbeit eine Suppression der LDL-Rezeptor-Aktivität in humanen Lymphozyten oberhalb von etwa 100 mg/dl LDL-Cholesterin. Dieser Mangel an LDL-Rezeptor-Kapazität führt möglicherweise durch erhöhte LDL-Rezeptor-unabhängige LDL-Aufnahme in Gefäßwände zur Ausbildung von Arteriosklerose und erklärt somit die Zunahme von kardialen Ereignissen oberhalb von 100 mg/dl LDL-Cholesterin. Im Umkehrschluß sollte darum LDL-Cholesterin zur Prophylaxe und Therapie von Arteriosklerose den Schwellenwert von 100 mg/dl nicht überschreiten.

5. Zusammenfassung

In dieser Arbeit sollten mittels einer quantitativen RT-PCR für LDL-Rezeptor-mRNA aus humanen Lymphozyten Beziehungen zwischen LDL-Rezeptor-Aktivität und Serum-LDL-Cholesterin-Konzentration unterschiedlicher Genese und Höhe untersucht werden. Dazu wurden Seren von einer Gruppe zufällig ausgewählter Probanden mit Gesamtcholesterinwerten <240 mg/dl und von Patienten der Lipidambulanz mit polygener Hypercholesterinämie oder den klinischen Zeichen einer familiären Hypercholesterinämie gewonnen.

Bei Probanden ohne familiäre Hypercholesterinämie korrelierte das Serum-LDL-Cholesterin signifikant negativ mit der LDL-Rezeptor-mRNA. In der Analyse aller Werte nahm die Konzentration der LDL-Rezeptor-mRNA kontinuierlich bis zu einem Serum-LDL-Cholesterin von ca. 100 mg/dl ab und blieb dann bis zu höchsten Cholesterinwerten etwa gleichbleibend niedrig. Dabei lagen die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA der hypercholesterinämischen Patienten signifikant tiefer als die Werte der Normalpersonen. Für Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie ergab sich hingegen kein Anhalt für eine Beziehung zwischen LDL-Rezeptor-mRNA und Serum-LDL-Cholesterin. Ferner überlappten die Konzentrationen der LDL-Rezeptor-mRNA von Patienten mit familiärer und polygener Hypercholesterinämie erheblich. Für Alter, Geschlecht oder Medikation bzw. Diät ergab sich kein Einfluß auf die Konzentration der LDL-Rezeptor-mRNA.

Schlußfolgernd läßt sich feststellen: Der LDL-Rezeptor wird in Lymphozyten ab LDL-Cholesterinspiegeln von etwa 100 mg/dl supprimiert. Daraus würde sich ergeben, daß das LDL-Cholesterin therapeutisch vermutlich unter 100 mg/dl gehalten werden sollte, um den physiologischen Rezeptor-vermittelten LDL-Katabolismus zu gewährleisten und somit der Entwicklung von Arteriosklerose vorzubeugen. Bei einem LDL-Rezeptordefekt wird die LDL-Rezeptor-mRNA in Lymphozyten nicht reaktiv hoch reguliert, vermutlich aufgrund der LDL-Rezeptor-unabhängigen Cholesterinaufnahme. Daher trägt die Quantifizierung der LDL-Rezeptor-mRNA nicht zur Differenzierung von familiärer und polygener Hypercholesterinämie bei.

6. Literaturangabe:

- **Achenbach, S.**, Moshage, W., Ropers, D., Nossen, J., Daniel, W. (1998): Value of electron-beam computed tomography for the noninvasive detection of high-grade coronary-artery stenosis and occlusions. *N. Engl. J. Med.*; 339: 1964-1971.
- **Alaupovic, P.**, Lee, E. M., McConathy, W. J. (1972): Studies on the composition and structure of plasma lipoproteins. Distribution of lipoprotein families in major density classes of normal human plasma lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta*; 260: 689-707.
- **Assmann, G.**, Schulte, H. (1993): Results and conclusions of the prospective cardiovascular Münster (PROCAM) study. In: Assmann, G. (ed.) *Lipid metabolism disorder and coronary heart disease*. MMV Verlag, München.
- **Avogaro, P.**, Bittolo Bon, G., Cazzolato, G., Quinci, G. B., Belussi, F. (1978): Plasma levels of apolipoprotein A-I and apolipoprotein B in human atherosclerosis. *Artery*; 4: 385-394.
- **Badimore, J. J.**, Badimore, L., Galvez, A., Dische, R., Fuster, V. (1989): High density lipoprotein plasma fraction inhibit aortic fatty streak in cholesterol-fed rabbits. *Lab. Invest.*; 60: 455-461.
- **Baeyer, H. von**, Schwerdtfeger, R., Schwarzkopf, W., Schurig, R., Kochinke, F., Marx, M., Schutten, D. (1983): Selective removal of low density lipoprotein by plasmapheresis combined with selective plasma-protein ultrafiltration (SPU). *Plasma Ther. Transfus. Technol.*; 4: 447-458.
- **Barr, S. L.**, Ramakrishnan, R., Johnson, C., Holleran, S., Dell, R. B., Ginsberg, H. N. (1992): Reducing total dietary fat without reducing saturated fatty acids does not significantly lower total plasma cholesterol concentrations in normal males. *Amer. J. Clin. Nutr.*; 675-681.
- **Beaglehole, R.** (1990): International trends in coronary heart disease mortality, morbidity, and risk factors. *Epidemiol. Rev.*; 12: 1.
- **Behrman, R. G.**, Wynn, V. (1984): Low-density lipoprotein metabolism by cultured human fibroblasts: relationship with aging and atherosclerosis. *Gerontology*; 30: 359-364.
- **Berg, A.**, Baumstark, M. W., Keul, J. (1988): Wirkungen des Sports auf den Stoffwechsel, insbesondere Lipidmetabolismus. *Therapiewoche*; 38: 1954-1959.
- **Berliner, J. A.**, Territo, M. C., Sevanian, A., Ramin, S., Kim, J. A., Bamshad, B., Esterson, M., Fogelman, A. M. (1990): Minimally modified low density lipoprotein stimulates monocyte endothelial interactions. *J. Clin. Invest.*; 85: 1260-1266.
- **Bierman, E. L.**, Albers, J. J., Chait, A. (1979): Effect of donor age on the binding and degradation of low density lipoproteins by cultured human arterial smooth muscle cells. *J. Geront.*; 34: 483-488.
- **Billheimer, D.** (1988): Therapeutic control of hyperlipidemia in the prevention of coronary atherosclerosis. *Am. J. Card.*; 62: 1J-9J.
- **Billheimer, D. W.**, Ho, Y. K., Brown, M. S., Anderson, R. G. W., Goldstein, J. L. (1978): Genetics of the low density lipoprotein receptor: diminished receptor activity in lymphocytes from heterozygotes with familial hypercholesterolemia. *J. Clin. Invest.*; 61: 678-696.

- **Billheimer, D. W.**, Grundy, S. M., Brown, M. S., Goldstein, L. J. (1983): Mevinolin and colestipol stimulate receptor-mediated clearance of low density lipoprotein from plasma in familial hypercholesterolemia heterozygotes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 80: 4124-4128.
- **Blankenorn, D. H.**, Nessim, S. A., Johnson, R. L. et al. (1987): Beneficial effects of combined colestipol-niacin therapy on coronary atherosclerosis and coronary bypass grafts. *J. Amer. med. Ass.*; 257: 3233-3240.
- **Blankenhorn, D. H.**, Alaupovic, P., Wickham, E., Chin, H. P., Azen, S. P. (1990): Prediction of angiographic change in native human coronary arteries and aortocoronary bypass grafts. Lipid and Nonlipid factors. *Circulation*; 81: 470-476.
- **Blankenorn, D. H.**, Azen, S. P., Kramsch, D., et al. (1993): Coronary angiographic changes with lovastatin therapy. *Ann. Int. Med.*; 119: 969-976.
- **Breithardt, G.**, Borggreffe, M., Budde, T., Schwammenthal, E., Wichter, T. (1998): Koronare Herzkrankheit. In: Schettler, G., Greten, H. (Hrsg.) *Innere Medizin*. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, S. 30-54.
- **Brown, D. D.**, Juhl, R. P., Warner, S. L. (1978): Decreased bioavailability of digoxin due to hypocholesterolemic interventions. *Circulation*; 58: 152-172.
- **Brown, M. S.**, Goldstein, J. L. (1975): Regulation of the activity of the low density lipoprotein receptor in human fibroblasts. *Cell*; 6: 307-316.
- **Brown, M. S.**, Goldstein, J. L. (1986): A receptor-mediated pathway for the cholesterol homeostasis. *Science*; 232: 34-47.
- **Brown, M. S.**, Goldstein, J. L. (1987): The Hyperproteinemias and other disorders of lipid metabolism. In: Braunwald, E. et al. (ed.) *Harrison's Principles of Internal Medicine* (11th Ed.; 315, 1650-1661). McGraw-Hill Book Company, New York Hamburg, etc.
- **Brown, M. S.**, Anderson, R. G. W., Goldstein, J. L. (1983): Recycling receptors: The round-trip itinerary of migrant membrane proteins. *Cell*; 32: 663-667.
- **Brown, G.**, Albers, J., Fisher, L. D. et al. (1990): Regression of coronary artery disease as a result of intensive lipid lowering therapy in men with high levels of apolipoprotein B. *N. Engl. J. Med.*; 323: 1289-1298.
- **Buring, J. E.**, O'Connor, G. T., Goldhaber, S. Z., Rosner, G., Herbert, P. N., Blum, C. B., Breslow, J. L., Hennekens, C. H. (1992): Decreased HDL2 and HDL3 cholesterol, apo A-I and apo A-II, and increased risk of myocardial infarction. *Circulation*; 85: 22-29.
- **Canner, P. L.**, Berger, K. G., Wenger, N. K. et al. (1986): Fifteen year mortality in Coronary Drug Project patients: long term benefit with niacin. *J. Am. Coll. Cardiol.*; 8: 1245-1255.
- **Carpenter, G.**, Cohen, S. (1990): Epidermal growth factor. *J. Biol. Chem.*; 265: 7709-7712.
- **Castelli, W. P.**, Garrison, R. J., Wilson, P. W. F., Abbott, R. D., Kalousdian, S., Kannel, W. B. (1986): Incidence of coronary heart disease and lipoprotein cholesterol levels. The Framingham Study. *J. Amer. med. Ass.*; 256: 2835-2838.
- **Chan, L.**, Dresel, H. A. (1990): Genetic factors influencing lipoprotein structure. Implications for atherosclerosis. *Lab. Invest.*; 62: 522-532.
- **Chiang, J. Y. L.**, Miller, W. F., Lin, G.-M. (1990): Regulation of cholesterol 7 α -hydroxylase in the liver. *J. Biol. Chem.*; 265: 3889-3897.

- **Clarke, R.**, Frost, C., Collins, R., Appleby, P., Peto, R. (1997): Dietary lipids and blood cholesterol: quantitative meta-analysis of metabolic ward studies. *Brit. Med. J.*; 314: 112-117.
- **Cuthbert, J. A.**, East, A. C., Bilheimer, D. W., Lipsky, P. E. (1986): Detection of familial hypercholesterolemia by assaying functional low-density lipoprotein receptors on lymphocytes. *New Engl. J. Med.*; 314: 879-883.
- **Cybulski, M. I.**, Gimbrone, M. A. (1991): Endothelial expression of a mononuclear leukocyte adhesion molecule during atherogenesis. *Science*; 251: 788-791.
- **Danielsson, H.**, Sjövall, T. (1975): Bile acid metabolism. *Ann. Rev. Biochem.*; 44: 233-253.
- **Davignon, J.**, Gregg, R. E., Sing, C. F. (1988): Apolipoprotein E polymorphism and atherosclerosis. *Arteriosclerosis*; 8: 1-21.
- **Defesche, J. C.**, Pricker, K., Lamping, R. J., Kastelein, J. J. P. (1991): Familial defective apo B in Dutch hypercholesterolemic patients. Poster presented at Florence 1991.
- **Dufaux, B.**, Assmann, G., Hollmann, W. (1982): Plasma lipoproteins and physical activity: A review. *Int. J. Sports. Med.*; 3: 123-136.
- **Einarsson, K.**, Nilsson, K., Leijd, B., Angelin, B. (1985): Influence of age on secretion of cholesterol and synthesis of bile acids by the liver. *New Engl. J. Med.*; 313: 277-288.
- **Emmerich, J.**, Aubert, I., Bauduceau, B. et al. (1990): Efficacy and safety of simvastatin (alone or in association with cholestyramine). A 1-year study in 66 patients with type II hyperlipoproteinaemia. *Europ. Heart J.*; 11: 149-155.
- **Ericsson, S.**, Eriksson, M., Vitols, S., Einarsson, K., Berglund, L., Angelin, B. (1991): Influence of age on the metabolism of plasma low density lipoproteins in healthy males. *J. Clin. Invest.*; 87: 591-596.
- **Esser, V.**, Limbird, L. E., Brown, M. S., Goldstein, J. L., Russel, D. W. (1988): Mutational analysis of ligand binding domain of low density lipoprotein receptor. *J. Biol. Chem.*; 263: 13282-13290.
- **European Atherosclerosis Society** (1992): International Task Force for the Prevention of Coronary Heart Diseases: Guidelines of the European Atherosclerosis Society. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*; 2: 113-156.
- **Fawcett, D. W.** (1964): Local specialisation of the plasmalemma in micropinocytotic vesicles of erythroblasts. *Anat. Rec.*; 148: 370 (Abstract).
- **Ferreri, K.**, Menon, K. M. (1990): Detection of a 58-kilodalton high density lipoprotein binding protein in the membrane fraction of luteinized rat ovaries. *Endocrinology*; 126: 2137-2144.
- **Fielding, C. J.**, Fielding, P. E. (1981): Evidence for a lipoprotein carrier in human plasma catalyzing sterol efflux from cultured fibroblasts and its relationship to lecithin: cholesterol acyl transferase. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 78: 3911-3914.
- **Francke, U.**, Brown, M. S., Goldstein, J. L. (1984): Assignment of the human gene for the low density lipoprotein receptor chromosome 19: synteny of a receptor, a ligand, and a genetic disease. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 81: 2826-2830.
- **Fredrickson, D. S.**, Levy, R. I., Lees, R. S. (1967): Fat transport in lipoproteins. An integrated approach to mechanism and disorders. *New Engl. J. Med.*; 276: 32-44, 94-103, 148-156, 215-226, 273-281.
- **Freeman, M.**, Ekel, Y., Rohrer, L., Penman, M., Freedman, N. J., Chisolm, G. M., Krieger, M. (1991): Expression of type I and type II bovine scavenger receptors in

chinese hamster ovary cells: lipid droplet accumulation and nonreciprocal cross competition by acetylated and oxidized low density lipoprotein. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 88: 4931-4935.

- **Frick, M. H.**, Elo, O., Haapa, K. et al. (1987): Primary-prevention trial with gemfibrozil in middle-aged men with dyslipidemia; safety of treatment, changes in risk factors, and incidence of coronary heart disease. *N. engl. J. Med.*; 317: 1237-1245.
- **Fry, D. L.** (1987): Mass transport, atherogenesis, and risk. *Arteriosclerosis*; 7: 88-100.
- **Fuchs, R.**, Schmid, S., Mellman, I. (1989): A possible role for Na⁺, K⁺-ATPase in regulating ATP-dependent endosome acidification. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 86: 539-543.
- **Gagné, C.**, Moorjani, S., Brun, D., Toussaint, M., Lupien, J.-P. (1979): Heterozygous familial hypercholesterolemia. Relationship between plasma lipids, lipoproteins, clinical manifestations and ischemic heart disease in men and women. *Atherosclerosis*; 34: 13-24.
- **Geisel, J.**, Oette, K., Burrichter, H. (1990): HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren bei familiärer Hypercholesterinämie. *Fortschr. Med.*; 108: 69-72.
- **Gibbons, G. F.** (1990): Assembly and secretion of very-low-density-lipoprotein. *Biochem. J.*; 268: 1-13.
- **Gil, G.**, Faust, J. R., Chin, D. J., Goldstein, J. L., Brown, M. S. (1985): Membrane-bound domain of HMG CoA reductase is required for sterol enhanced degradation of the enzyme. *Cell*; 41: 249-258.
- **Ginsberg, H. N.**, Goldberg, I. J. (1998): Erkrankungen des Lipoproteinstoffwechsels. In: Fauci, A., S. et al. (Hrsg.) *Harrisons Innere Medizin* (14. Auflage, 341, 2517-2529). McGraw-Hill Book Company, London etc.
- **Glatz, J. F.**, Katan, M. B. (1993): Dietary saturated fatty acids increase cholesterol synthesis and fecal steroid excretion in healthy men and women. *Europ. J. Clin. Invest.*; 23: 648-655.
- **Glomset, J. A.** (1968): The plasma lecithin: cholesterol acyl transferase reaction. *J. Lipid Res.*; 9: 155-167.
- **Glueck, C. J.**, Levy, R. I., Fredrickson, D. S. (1968): Acute tendinitis and arthritis. A presenting symptom of a familial type II hyperlipoproteinemia. *J. Amer. med. Ass.*; 206: 2895-2897.
- **Goff, D. C.**, Gotto, A. M. (1995): Störungen des Lipoproteinstoffwechsels und ihre Auswirkungen auf das Herz-Kreislauf-System. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 105-118.
- **Gofmann, J. W.**, DeLalla, O., Glazier, F., Freeman, N. K., Lindgren, F. T., Nichols, A. V., Strisover, B., Tamplin, A. R. (1954): The serum lipoprotein transport system in health, metabolic disorders, atherosclerosis and coronary heart disease. *Plasma (Milano)*; 2: 413-428.
- **Goldfarb, S. H.**, Pitot, C. (1972): Stimulatory effect of dietary lipid and cholestyramine on hepatic HMG CoA reductase. *J. Lipid Res.*; 13: 797-801.
- **Goldstein, J. L.**, Brown, M. S. (1973a): Familial hypercholesterolemia: identification of a defect in the regulation of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase activity with overproduction of cholesterol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 20: 2804-2806.

- **Goldstein, J. L.**, Brown, M. S. (1989): Familial hypercholesterolemia. In: Scriver, C. R., Beaudet, A. L., Sly, W. S., Valle, D. (eds.) The Metabolic Basis of Inherited Disease. 6th ed., p. 1215-1250. McGraw-Hill, New York.
- **Goldstein, J. L.**, Brown, M. S. (1990): Regulation of the mevalonate pathway. *Nature*; 343: 425-430.
- **Goldstein, J. L.**, Hazzard, W. R., Schrott, H. G., Bierman, E. L. et al. (1973b): Hyperlipidemia in coronary heart disease. I. Lipid in 500 survivors of myocardial infarction. *J. Clin. Invest.*; 52: 1533-1543.
- **Goldstein, J. L.**, Schrott, H. G., Hazzard, W. R., Bierman, E. L., Motulski, A. G. (1973c): Hyperlipidemia in coronary heart disease. II. Genetic analysis of lipid levels in 176 families and delineation of a new inherited disorder, combined hyperlipidemia. *J. Clin. Invest.*; 52: 1544-1568.
- **Goldstein, J. L.**, Dana, S. E., Brown, M. S. (1974): Esterification of low density lipoprotein cholesterol in human fibroblasts its absence in homozygous familial hypercholesterolemia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 71: 4288-4292.
- **Goldstein, J. L.**, Basu, S. K., Brunschede, G. Y., Brown, M. S. (1976): Release of the low density lipoprotein from its cell surface receptor by sulfoglycosaminoglycans. *Cell*; 7: 85-95.
- **Goldstein, J. L.**, Basu, S. K., Brown, M. S. (1983): Receptor mediated endocytosis of low density lipoprotein in cultured cells. *Meth. Enzymol.*; 98: 241-260.
- **Goldstein, J. L.**, Brown, M. S., Anderson, R. G., Russell, D. W., Schneider, W. J. (1985): Receptor-mediated endocytosis: concepts emerging from the LDL receptor system. *Annu. Rev. Cell Biol.*; 1: 1-39.
- **Gordon, D.**, Rifkind, B. M. (1989): High density lipoproteins - the clinical implications of recent studies. *New Engl. J. Med.*; 321: 1311-1315.
- **Gordon, T.**, Castelli, W. P., Hjortland, M. C. et al. (1977): High density lipoprotein as a protective factor against coronary heart disease. *Am. J. Med.*; 62: 707-714.
- **Goto, Y.**, Moriguchi, E. M. (1990): Diet and ischemic heart disease in Japan. *Atherosclerosis Reviews*; 21: 21-33.
- **Greene, L. E.**, Eisenberg, E. (1990): Dissociation of clathrin from coated vesicles by the uncoating-ATPase. *J. Biol. Chem.*; 265: 6682-6687.
- **Greten, H.**, Windler, E. (1985): Physiologie und Pathophysiologie des Lipoproteinstoffwechsels - Beziehungen zur Hyperlipämie und Arteriosklerose. *Internist*; 26: S. 399.
- **Greten, H.**, Sanwald, R., Schlierf, G., Seidel, D., Wahl, P. (1990): Stoffwechselkrankheiten, Gestörter Fettstoffwechsel. In: Schettler, G., Greten, H. (Hrsg.) *Innere Medizin*; Bd. 2. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, S. 439.
- **Grundy, S. M.**, Ahrens, E. H., Salen, G. (1971): Interruption of the enterohepatic circulation of bile acids in man: comparative effects of cholestyramine and ileal exclusion on cholesterol metabolism. *J. Lab. Clin. Med.*; 78: 94-121.
- **Grundy, S. M.**, Vega, G. L., Bilheimer, D. W. (1985a): Kinetic mechanisms determining variability in low density lipoprotein levels and rise with age. *Arteriosclerosis*; 5: 623-630.
- **Grundy, S. M.**, Vega, G. L., Billheimer, D. W. (1985b): Influence of combined therapy with mevinolin and interruption of bile-acid reabsorption on low density lipoproteins in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Ann. Intern. Med.*; 103: 339-343.

- **Gwynne, J. T.** (1991): HDL and atherosclerosis: an update. *Clin. Cardiol.*; 14, Suppl. 1: 117-24.
- **Hashim, S. A.**, Bergen, S. S., Van Itallie, T. B. (1961): Experimental steatorrhea induced in man by bile acid sequestrant. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*; 106: 173-175.
- **Havel, R. J.** (1989): Rationale for cholesterol lowering. *Am. J. Med.*; 87, Suppl. 4A: 2-4.
- **Havel, R. J.**, Hamilton, R. L. (1988): Hepatocytic lipoprotein receptors and intracellular lipoprotein catabolism. *Hepatology*; 8.6: 1689-1704.
- **Henkin, Y.**, Como, J. A., Oberman, A. (1992): Secondary dyslipidemia. Inadvertent effects of drugs in clinical practice. *J. Amer. med. Ass.*; 19: 961-968.
- **Hill, J. S.**, Hayden, M. R., Frohlich, J., Pritchard, P. H. (1991): Genetic and environmental factors affecting the incidence of coronary artery disease in heterozygous familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis and Thrombosis*; 11: 290-297.
- **Hixon, J.-E.**, Vernier, D. T. (1990): Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J. Lipid Res.*; 31: 545-548.
- **Ho, Y. K.**, Brown, M. S., Goldstein, J. L. (1980): Hydrolysis and excretion of cytoplasmic cholesterylesters by macrophages: Stimulation by high density-lipoprotein and other agents. *J. Lipid Res.*; 21: 391-398.
- **Howard, B. V.**, Hannah, J. S., Heiser, C. C., Jablonski, K. A., Paidi, M. C., Alarif, L., Robbins, D. C., Howard, W. J. (1995): Polyunsaturated fatty acids result in greater cholesterol lowering and less triacylglycerol elevation than do monounsaturated fatty acids in a dose-response comparison in a multiracial study group. *Amer. J. Clin. Nutr.*; 62: 392-402.
- **Hu, F. B.**, Stampfer, M. J., Manson, J. E., Rimm, E., Colditz, G. A., Rosner, B. A., Hennekens, C. H., Willett, W. C. (1995): Dietary fat intake and the risk of coronary heart disease in women. *N. Engl. J. Med.*; 337: 1491-1499.
- **Innerarity, T. L.**, Mahley, R. W., Weisgraber, K. H., Bersot, T. P. et al. (1990): familial defective apolipoprotein B-100: a mutation of apolipoprotein B that causes hypercholesterolemia. *J. Lipid Res.*; 31: 1337-1349.
- **Jäckle, S.**, Runquist, E. A., Brady, S., Hamilton, R. L., Havel, R. J. (1991a): Isolation and characterization of three endosomal fractions from the liver of normal rats after lipoproteinloading. *J. Lipid Res.*; 32: 485-498.
- **Jäckle, S.**, Runquist, E. A., Miranda-Brady, S., Havel, R. J. (1991b): Trafficking of the epidermal growth factor receptor and transferrin in three hepatocytic endosomal fractions. *J. Biol. Chem.*; 266: 1396-1402.
- **Jacob, B. G.**, Möhrle, W., Richter, W. O., Schwandt, P. (1992): Short- and long-term effects of lovastatin and pravastatin alone and in combination with cholestyramine on serum lipids, lipoproteins and apolipoproteins in primary hypercholesterolemia. *Eur. J. Clin. Pharmacol.*; 42: 353-358.
- **Jensen, J.**, Blankenhorn, D. H., Kornerup, V. (1967): Coronary disease in familial hypercholesterolemia. *Circulation*; 36: 77-82.
- **Johnson, W. J.**, Mahlberg, F. H., Rothblat, G. H., Phillips, M. C. (1991): Cholesterol transport between cells and high-density lipoproteins. *Biochim. Biophys. Acta*; 1085: 273-298.
- **Kane, J. P.**, Malloy, M. J., Ports, T. A., Phillips, N. R., Diehl, J. C., Havel, R. J. (1990): Regression of atherosclerosis during treatment of familial hypercholesterolemia with combined drug regimes. *JAMA*; 264: 3007-3012.

- **Kannel, W. B.** (1983): An overview of the risk factors for cardiovascular disease. In: Prevention of coronary heart disease-practical management of the risk factors. W. B. Saunders, Philadelphia.
- **Kannel, W.**, Larson, M. (1993): Long-term epidemiologic prediction of coronary disease. The Framingham experience. *Cardiology*; 83: 137-152.
- **Kannel, W. B.**, Neaton, J. D., Wentworth, D. et al. (1986): Overall and coronary heart disease mortality rates in relation to major risk factors in 325.348 men screens for the MRFIT. *Am. Heart J.*; 112: 825-836.
- **Katsuda, S.**, Boyd, H. C., Fligner, C., Ross, R., Gown, A. M. (1992): Human Atherosclerosis. III. Immunocytochemical analysis of the cell composition of lesions of young adults. *Am. J. Pathol.*; 140: 907-914.
- **Keil, U.** (1990): Prävention der klassischen Risikofaktoren. *Drug Res.*; 40: 1-7.
- **Keil, U.**, Spelsberg, A. (1995): Epidemiologie der Arterioskleroserisiken. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 65-83.
- **Keller, C.**, Zöllner N. (1995): Hypercholesterinämien. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 145-167.
- **Keys, A.** (1970): Coronary heart disease in seven countries. *Circulation*; 41, Suppl 1: 1-199.
- **Keys, A.** et al. (1971): Mortality and coronary heart disease among men studied for 23 years. *Arch. Intern. Med.*; 128: 201-214.
- **Khachadurian, A. K.** (1964): The inheritance of essential familial hypercholesterolemia. *Am. J. Med.*; 37: 402-407.
- **Kodama, T.**, Freeman, M., Rohrer, L., Zabricky, J., Matsudaira, P., Krieger, M. (1990): Type I scavenger receptor contains a-helical and collagen like coils. *Nature*; 343: 531-535.
- **Kostner, G. M.** (1976): Chemie und Struktur menschlicher Plasma- und Lymphlipoproteine. In: Schettler, G., Greten, H., Schlierf, G., Seidel, D. (Hrsg.) *Handbuch der Inneren Medizin. Fettstoffwechsel*. Bd. VII/4. Springer, Heidelberg, S. 125-171.
- **Kostner, G. M.**, März, W. (1995): Zusammensetzung und Stoffwechsel der Lipoproteine. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 3-47.
- **Kostner, G. M.**, Laggner, P. (1989): Chemical and physical properties of lipoproteins. In: Fruchart, J. C., Shepherd J. (eds.) *Human Plasma Lipoproteins*. Curtius, H. C., Roth, M. (eds.) *Clinical Biochemistry - Principles, Methods and Applications*. Vol. 3. p. 23-54. Berlin. Walter de Gruyter, New York.
- **Kovanen, P. T.**, Brown, M. S., Goldstein, L. S. (1979): Increased binding of low-density lipoprotein to liver membrane from rats treated with 17-alpha-ethinyl estradiol. *J. Biol. Chem.*; 254: 1367-1373.
- **Kreisberg, R. A.**, Kasim, S. (1987): Cholesterol metabolism and aging. *Am. J. Med.*; 82, Suppl 1B: 54-60.
- **LaRosa, J. C.** (1995): Lipoproteinstoffwechsel bei Frauen. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 444-454.
- **LaRosa, J. C.**, Hunninghake, D., Bush, D. et al. (1990): The cholesterol facts. A summary of the evidence relating dietary fats, serum cholesterol, and coronary heart

disease. A joint statement by the American Heart Association, and the national Heart, Lung, and Blood Institute. *Circulation*; 81: 1721-1733.

- **Law, A.**, Scott, J. A. (1990): A cross-species comparison of the apolipoprotein B domain that binds to the LDL-receptor. *J. Lipid Res.*; 31: 1109-1120.
- **Law, M. R.**, Wald, N. J., Wu, T., Hackshaw, A., Bailey, A. (1994): Systematic underestimation of association between serum cholesterol concentration and ischaemic heart disease in observational studies: data from the BUPA study. *Brit. Med. J.*; 208: 363-366.
- **Leren, T. P.**, Hjermann, I., Berg, K. et al. (1988): Effects of lovastatin alone and in combination with cholestyramine on serum lipids and apolipoproteins in heterozygotes for familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis*; 73: 135-141.
- **Leren, T. P.**, Maartmann-Moe, K., Berg, K. (1985): Low density lipoprotein receptor activity in cultured skin fibroblasts from octo- and nonagenarians. *Clinical Genetics*; 27: 433-442.
- **Löwel, H.**, Lewis, M., Keil, U., Hörmann, A., Bolte, H.-D., Willich, S., Gostomzyk, J. (1995): Zeitliche Trends von Herzinfarktmorbidität, -mortalität, 28-Tage-Letalität und medizinischer Versorgung. *Z. Kardiologie*; 84: 596-605.
- **Luley, C.**, Wieland, H. (1995): Epidemiologie der Dyslipoproteinämien. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 84-103.
- **Luskey, K. L.**, Faust, J. R., Chin, D. J., Brown, M. S., Goldstein, J. L. (1983): Amplification of the gene for 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase, but not for the 53-kDa protein, in UT-1 cells. *J. Biol. Chem.*; 258: 8462-8469.
- **MAAS Investigators** (1994): Effect of simvastatin on coronary atheroma: the Multicenter Anti-Atheroma Study (MAAS). *Lancet*; 344: 633-638.
- **Mabuchi, H.**, Koizumi, J., Shimizu, M., Takeda, R. and the Hokuriku FH-CHD Study Group (1989): Development of coronary heart disease in familial hypercholesterolemia. *Circulation*; 79: 225-232.
- **Maher, V. M. G.**, Gallagher, J. J., Thompson, G. R., Myant, N. B. (1991): Response to cholesterol-lowering drugs in familial defective apolipoprotein B-100. *Atherosclerosis*; 91: 73-76.
- **Mahley, R. W.** (1988): Apolipoprotein E: cholesterol transport protein with expanding role in cell biology. *Science*; 240: 622-630.
- **Mahley, R. W.**, Innerarity, T. L., Rall, S. C., Weisgraber, K. H., Taylor J. M. (1990): Apolipoprotein E: genetic variants provide insights into its structure and function. *Curr. Opin. Lipidol.*; 1: 87-95.
- **Mahley, R. W.**, Weisgraber, K. H., Innerarity, T. L. et al. (1991): Genetic defects in lipoprotein metabolism: Elevation of atherogenic lipoproteins caused by impaired catabolism. *J. Amer. med. Ass.*; 265: 78-83.
- **Marsh, M.**, Bolzau, E., Helenius, A. (1983): Penetration of Semliki Forest virus from acidic prelysosomal vacuoles. *Cell*; 32: 931-940.
- **März, W.**, Groß, W. (1986): Analysis of plasma lipoproteins by ultracentrifugation in a new fixed angle rotor: evaluation of a phosphotungstic acid/MgCl₂ precipitation and a quantitative lipoprotein electrophoresis assay. *Clin. Chim. Acta*; 160: 1-18.
- **März, W.**, Cezanne, S., Groß, W. (1991): Immunoblotting of apolipoprotein E in immobilized pH gradients. *Electrophoresis*; 12: 59-63.
- **Maxfield, F. R.** (1982): Weak bases and ionophores rapidly and reversibly raise the pH of endosomal vesicles in cultured mouse fibroblasts. *J. Cell Biol.*; 95: 676-681.

- **Metherall, J. E.**, Goldstein, J. L., Luskey, K. L., Brown, M. S. (1989): Loss of transcriptional repression of three sterol-regulated genes in mutant hamster cells. *J. Biol. Chem.*; 264: 15634-15641.
- **Miller, G. J.**, Miller, N. E. (1975): Plasma high-density lipoprotein concentration and development of ischemic heart disease. *Lancet*; I: 16-18.
- **Miller, N. E.** (1984): Why does plasma low density lipoprotein concentration in adults increase with age? *Lancet*; I: 263-267.
- **Miserez, A. R.**, Keller, U. (1995): Differences in the phenotypic characteristics of subjects with familial defective apolipoprotein B-100 and familial hypercholesterolemia. *Arterioscler.-Thromb.-Vasc.-Biol.*; 15(10): 1719-1729.
- **Moore, R. B.**, Crane, C. A., Frantz, I. D. (1968): Effect of cholestyramine on the fecal excretion of intravenously administered cholesterol-14C and its degradation products in a hypercholesterolemic patient. *J. Clin. Invest.*; 47: 1664-1671.
- **Muldoon, M. F.**, Mannuck, S. B., Mathews, K. A. (1990): Lowering cholesterol concentrations and mortality: A quantitative review of primary prevention trials. *Brit. Med. J.*; 301: 309-314.
- **Müller, C.** (1938): Xanthomata, hypercholesterolemia, angina pectoris. *Acta Med. Scand., Suppl.*; 89: 75-80.
- **Munro, J. M.**, Van der Walt, J. D., Munro, C. S., Chalmers, J. A. C., Cox, E. L. (1987): An immunohistochemical analysis of human aortic fatty streaks. *Hum. Pathol.*; 18: 375-380.
- **Myant, M. B.** (1990): Cholesterol metabolism, LDL, and the LDL receptor. Academic Press Inc., San Diego, New York, Boston, London, Sydney, Tokyo, Toronto.
- **Myant, N. B.**, Mitropoulos, K. A. (1977): Cholesterol 7 α -hydroxylase. *J. Lipid Res.*; 18: 135-153.
- **Myant, N. B.**, Gallagher, J. J., Knight, B. L., McCarthy, S. et al. (1991): Clinical signs of familial hypercholesterolemia in patients with defective apolipoprotein B-100 and normal low density receptor function. *Arteriosclerosis and Thrombosis*; 11: 691-703.
- **Nagata, Y.**, Hidaka, Y., Ishida, F., Kamei, T. (1990): Effect of simvastatin (MK-733) on the regulation of cholesterol synthesis in Hep G2 cells. *Biochem. Pharmacol.*; 40: 843-850.
- **Neaton, J. D.**, Wentworth, D. (1992): Serum cholesterol, blood pressure, cigarette smoking, and death from coronary heart disease. *Arch. Int. Med.*; 152: 56-64.
- **Neubeck, W.**, Wieland, H., Habe nicht, A., Müller, P., Baggiok, G., Seidel, D. (1977): Improved assesment of plasma lipoprotein patterns. III. Direct measurement of lipoproteins after gel-electrophoresis. *Clin. Chem.*; 23: 1296-1300.
- **NIH LRCF** (1984): The lipid research clinics coronary primary prevention trial results; I. reduction in incidence of Coronary Heart Disease. *JAMA*; 251: 351-371.
- **Ojala, J. P.**, Helve, E., Karjalainen, K., Tarkkanen, A., Tikkanen, M. J. (1990): Long-term maintenance of therapeutic response to lovastatin in patients with familial and non-familial hypercholesterolemia: a 3-year follow-up. *Atherosclerosis*; 82: 85-95.
- **Ornish, D.**, Brown, S. E., Scheerwitz, L. W., Billings, J. H., Armstrong, W. T., Ports, T. A., McLanahan, S. M., Kirkeeide, R. L., Brand, R. J., Gould, K. L. (1990): Can lifestyle changes reverse coronary heart disease ? - The Lifestyle Heart Trial. *Lancet*; 336: 129-133.

- **Ornish, D.**, Scheerwitz, L. W., Billings, J. H., Gould, K. L., Sparler, S., Armstrong, W. T., Ports, T. A., Kirkeeide, R. L., Hogeboom, C., Brand, R. J. (1998): Intensive lifestyle changes for reversal of coronary heart disease. *JAMA*; 280: 2001-2007.
- **Osborne, T. F.** (1991): Single nucleotide resolution of sterol regulatory region in promoter for 3-hydroxy-methylglutaryl coenzyme a reductase. *J. Biol. Chem.*; 266: 13947-13951.
- **Parkinson, T. M.**, Gunderson, K., Nelson, N. A. (1970): Effects of colestipol (U-26597A), a new bile acid sequestrant, on serum lipids in experimental animals and man. *Atherosclerosis*; 11: 531-537.
- **Pearse, B. M. F.**, Crowther, R. A. (1987): Structure and assembly of coated vesicles. *Ann. Rev. Biophys. Chem.*; 16: 49-68.
- **Pekkanen, J.**, Linn, S., Heiss, G. et al. (1990): Ten-year mortality from cardiovascular disease in relation to cholesterol level among men with and without preexisting cardiovascular disease. *N. Engl. J. Med.*; 322: 1700-1707.
- **Piper, J.**, Orrild, L. (1956): Essential familial hypercholesterolemia and xanthomatosis: Follow-up study of twelve Danish families. *Am. J. Med.*; 21: 34-39.
- **Pitas, R. E.**, Innerarity, T. L., Mahley, R. W. (1980): Cell surface receptor binding of phospholipidprotein complexes containing different ratios of receptor-active and -inactive E apoprotein. *J. Biol. Chem.*; 255: 5454-5460.
- **Rauh, G.**, Keller, C., Kormann, B., Spengel, F., Schuster, H., Wolfram, G., Zöllner, N. (1995): Familial defective apolipoprotein B-100: clinical characteristics of 54 cases. *Atherosclerosis*; 92: 233-241.
- **Reihner, E.**, Angelin, B., Rudling, M. et al. (1990): Regulation of hepatic cholesterol metabolism in humans: Stimulatory effects of cholestyramine on HMG-CoA reductase activity and low density lipoprotein receptor expression in gallstone patients. *J. Lipid Res.*; 31: 2219-2226.
- **Richter, W. O.**, Schwandt, P. (1995): Klinische Diagnostik. In: Schwandt, P., Richter, W. O. (Hrsg.) *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer, Stuttgart-New York, S. 479-487.
- **Rifkind, B. M.**, Segal, P. (1983): Lipid Resource Clinics reference values for hyperlipidemia and hypolipidemia. *J. Amer. med. Ass.*; 250: 1869-1872.
- **Robertson, T. L.**, Kato, H., Rhoads, G. G. et al. (1977): Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California. Incidence of myocardial infarction and death from coronary heart disease. *Am. J. Card.*; 39: 239-243.
- **Rudel, L. L.**, Parks, J. S., Johnson, F. L., Babiak, J. (1986): Low density lipoproteins in atherosclerosis. *J. Lipid Res.*; 27: 465.
- **Russell, D. W.**, Yamamoto, T., Schneider, W. J., Slaughter, C. J., Brown, M. S., Goldstein, J. L. (1983): cDNA cloning of the bovine low density lipoprotein receptor: feedback regulation of a receptor mRNA. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 80: 7501-7505.
- **Russell, D. W.**, Schneider, W. J., Yamamoto, T., Luskey, K. L., Brown, M. S., Goldstein, J. L. (1984): Domain map of the LDL receptor: sequence homology with the epidermal growth factor precursor. *Cell*; 37: 577-585.
- **Russell, D. W.**, Lehrman, M. A., Südhof, T. C., Yamamoto, T., Davis, C. G., Hobbs, H. H., Brown, M. S., Goldstein, J. T. (1986): The LDL receptor in familial hypercholesterolemia: Use of human mutations to dissect a membrane protein. *Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol. LI*: 811-819.

- **Russel, D. W.**, Brown, M. S., Goldstein, J. L. (1989): Different combination of cysteine-rich repeats mediate binding of low density lipoprotein to different proteins. *J. Biol. Chem.*; 264: 21682-21688.
- **Sacks, F. M.**, Rouleau, J.-L., Moye, L. A., Pfeffer, M. A., Warnica, J. W., Arnold, M. O., Nash, D. T., Brown, L. E., Sestier, F., Rutherford, J., Dawis, B. R., Hawkins, C. M., Braunwald, E. for the CARE-Investigators (1995): Baseline Characteristics in the Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Trial of Secondary Prevention in Patients With Average Serum Cholesterol Levels. *Amer. J. Cardiol.*; 75: 621-623.
- **Salonen, J. T.**, Salonen, R., Seppanen, K., Rauramaa, R., Tuomilehto, J. (1991): HDL, HDL2, and HDL3 subfractions, and the risk of acute myocardial infarction. A prospective population study in eastern finnish men. *Circulation*; 84: 129-139.
- **Scandinavian Simvastatin Survival Study Group** (1994): Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet*; 344: 1383-1389.
- **Schmitz, G.**, Williamson, E. (1991): High density lipoprotein metabolism, reverse cholesterol transport and membrane protection. *Curr. Opin. Lipidol.*; 2: 177-189.
- **Schneider, W. J.** (1989): The low density lipoprotein receptor. *Biochimica et Biophysica Acta*; 988: 303-317.
- **Schuster, H.**, Stiefenhofer, B., Rauh, G., Taylor, R., Humphries, S. (1989): DNA polymorphisms in the diagnosis of familial hypercholesterolemia. In: Wolfram, G. (ed.) *Genetic and Therapeutic Aspects of Lipid and Purine Metabolism*. Springer, Heidelberg, S. 3-12.
- **Schwenke, D. C.**, Carew, T. E. (1988): Quantifikation in vivo of increased LDL content and rate of LDL degradation in normal rabbit aorta occurring at sites susceptible to early atherosclerotic lesions. *Circ. Res.*; 62: 699-710.
- **Scott, J.** (1989): The molecular and cell biology of apolipoprotein B. *Mol. Biol. Med.*; 6: 65-80.
- **Scott, J.** (1990): Regulation of the biosynthesis of apolipoprotein B100 and the apolipoprotein B48. *Curr. Opinion Lipidol.*; 1: 96-103.
- **Seftel, H. C.**, Baker, S. G., Sandler, M. P., Forman, M. B. et al. (1980): A host of hypercholesterolemia homozygotes in South Africa. *Brit. Med. J.*; 281: 633-636.
- **Shekelle, R. B.**, Shryock, A. M., Paul, O., Leppert, M., Stamler, J., Lia, S., Raynor, W. J. (1981): Diet, serum cholesterol and death from coronary heart disease. The Western Electric Study. *New Engl. J. Med.*; 304: 65-70.
- **Shepherd, J.**, Packard, C. J. (1983): Mode of action of lipid-lowering drugs. In: Miller, N. E. (Hrsg.) *Atherosclerosis: mechanisms and approaches to therapy*. Raven-Press, New York, p. 169-201.
- **Shepherd, J.**, Packard, C. J., Bicker, S., Lawrie, T. D. V., Morgan, H. G. (1980): Cholestyramine promotes receptor-mediated low-density-lipoprotein catabolism. *N. Engl. J. Med.*; 302: 1219-1222.
- **Silbernagel, S.**, Lang, F. (1998): *Taschenatlas der Pathophysiologie; Störungen des Lipoproteinstoffwechsels*. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, S. 246-249.
- **Simons, L. A.** (1986): Interrelations of lipids and lipoproteins with coronary artery disease mortality in 19 countries. *Am. J. Card.*; Suppl. G5: 5-10.
- **Slack, J.** (1979): Inheritance of familial hypercholesterolemia. *Atherosclerosis Rev.*; 5: 35-41.
- **Slotte, J. P.** (1990): HDL receptors and cholesterol efflux from parenchymal cells. *Eur. Heart. J.*; 11, Suppl. E: 212-217.

- **Soutar, A. K.**, Knight, B. L., Patel, B. B. (1989): Identification of a point mutation in growth factor repeat C of the low density lipoprotein-receptor gene in a patient with homozygous familial hypercholesterolemia that effects ligand binding and intracellular movement of receptors. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 86: 4166-4170.
- **Stamler, J.**, Wentworth, D., Neaton, J. D. (1986): Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? *JAMA*; 256: 2823-2828.
- **Stampfer, M. J.**, Sacks, F. M., Salvini, S., Willett, W. C., Hennekens, C. H. (1991): A prospective study of cholesterol, apolipoproteins, and the risk of myocardial infarction. *New Engl. J. Med.*; 325: 373-381.
- **Statistisches Bundesamt**, Wiesbaden (1997).
- **Steinberg, D.** (1989a): The cholesterol controversy is over; why did it take so long? *Circulation*; 80: 1070-1078.
- **Steinberg, D.**, Witztum, J. L. (1990): Lipoproteins and atherogenesis. *Current concepts. J. Amer. med. Ass.*; 264: 3047-3052.
- **Steinberg, D.**, Parthasaraty, S., Carew, T. E., Khoo, J. C., Witztum, J. L. (1989b): Beyond cholesterol: modification of low-density lipoproteins that increase their atherogenicity. *New Engl. J. Med.*; 320: 915-923.
- **Stoffel, W.**, Borberg, H., Greve, V. (1981): Application of specific extracorporeal removal of low density lipoprotein in familial hypercholesterolemia. *Lancet*; II: 1005-1007.
- **Stone, N. J.**, Levy, R. I., Fredrickson, D. S., Verter, J. (1974): Coronary artery disease in 116 kindreds with familial type II hyperlipoproteinemia. *Circulation*; 49: 474-488.
- **Study Group, European Atherosclerosis Society** (1988): The recognition and management of hyperlipidemia in adults: a policy statement of the European Atherosclerosis Society. *Europ. Heart J.*; 9: 571-600.
- **Südhof, T. C.**, Goldstein, J. L., Brown, M. S., Russel, D. W. (1985): The LDL receptor gene: A mosaic of exons shared with different proteins. *Science*; 228: 815-822.
- **Taskforce for the prevention of coronary heart disease. European Atherosclerosis Society** (1992): Prevention of coronary heart disease - Scientific background and new clinical guidelines. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.*; 2: 113-154.
- **Thannhauser, S. J.**, Magendantz, H. (1938): The different clinical groups of xanthomatous diseases: A clinical physiological study of 22 cases. *Ann. Int. Med.*; 11: 1662-1746.
- **Thompson, G. R.**, Lowenthal, R., Myant, M. B. (1975): Plasma exchange in the management of homozygous familial hypercholesterolemia. *Lancet*; I: 1208-1211.
- **Tonstad, S.**, Ose, L., Gorbitz, C., Harrison, E. M., de Koning-Gans, H. J. (1993): Effectiveness of low-dose lovastatin combined with low-dose colestipol in moderate to severe primary hypercholesterolemia. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.*; 53: 457-463.
- **Tybjaerg-Hansen, A.**, Gallagher, J. J., Vincent, J., Houlston, R. et al. (1990): Familial defective apo B-100: detection in the United Kingdom and Scandinavia and clinical characteristics of ten cases. *Atherosclerosis*; 80: 235-245.
- **Tyroler, H. A.** (1989): Overview of clinical trials of cholesterol lowering in relationship to epidemiologic studies. *Am. J. Med.*; 87, Suppl. 4A: 14-19.
- **Ullrich, A.**, Schlessinger, J. (1990): Signal transduction by receptors with tyrosine kinase activity. *Cell*; 61: 203-212.

- **Van Dyke, R. W.**, Hornick, C. A., Belcher, J., Scharschmidt, B. F., Havel, R. J. (1985): Identification and characterization of ATP-dependent proton transport by rat liver multivesicular bodies. *J. Biol. Chem.*; 260: 11021-11026.
- **Vance, J. E.**, Vance, D. E. (1990): Lipoprotein assembly and secretion by hepatocytes. *Ann. Rev. Nutr.*; 10: 337-356.
- **Varban, M. L.**, Rinninger, F., Wang, N., Fairchild-Huntress, V., Dunmore, J. H., Fang, Q., Gosselin, M. L., Dixon, K. L., Deeds, J. D., Acton, S. L., Tall, A. R., Huszar, D. (1998): Targeted mutation reveals a central role for SR-BI in hepatic selective uptake of high density lipoprotein cholesterol. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*; 95: 4619-4624.
- **Wahrburg, U.**, Assmann, G. (1999): Cholesterin. Verlag C. H. Beck, S. 32.
- **Walden, C. E.**, Retzlaff, B. M., Buck, B. L., McCann, B. S., Knopp, R. H. (1997): Lipoprotein Lipid Response to the National Cholesterol Education Program Step II Diet by Hypercholesterolemic and Combined Hyperlipidemic Women and Men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*; 17: 375-382.
- **Wattigney, W. A.**, Harsha, D. W., Shrinivasan, S. R., Webber, L. S., Berenson, G. S. (1991): Increasing impact of obesity on serum lipids and lipoproteins in young adults. The Bogalusa Heart Study. *Arch. Int. Med.*; 151: 2017-2022.
- **Watts, G. F.**, Lewis, B., Brunt, J. N. H. et al. (1992): Effects on coronary artery disease of lipid-lowering diet, or diet plus cholestyramine, in the St Thomas' Atherosclerosis Regression Study (STARS). *Lancet*; 339: 563-569.
- **Watts, G. F.**, Jackson, P., Mandalia, S., Brunt, J. N., Lewis, E. S., Coltart, D. J., Lewis, B. (1994): Nutrient intake and progression of coronary artery disease. *Amer. J. Cardiol.*; 73: 328-332.
- **Weisweiler, P.**, Backs, C., Hüllemann, K., Schwandt, P. (1985): Effekte des Ausdauertrainings auf die Serumlipoproteine von Männern und Frauen. *Herz/Kreislauf*; 2: 82-85.
- **Williams, P. T.**, Krauss, R. M., Vranizan, K. M., Wood, P. D. S. (1990): Changes in lipoprotein subfractions during diet-induced and exercise-induced weight loss in moderately overweight men. *Circulation*; 81: 1293-1304.
- **Wilson, P. W. F.** (1989): The epidemiology of hypercholesterolemia; a global perspective. *Am. J. Med.*; 87, Suppl. 4A: 5-13.
- **Winder, A. F.**, Day, L. B. (1997): Premature corneal arcus in familial hypercholesterolemia is characteristic but not a marker of individual coronary risk (abstract). *Atherosclerosis*; 134: 48.
- **Windler, E.** (1990a): Metabolismus von Chylomikronen und Very-Low-Density-Lipoproteinen. *Klin. Wochenschr.*; 68, Suppl. XXII: 19-22.
- **Windler, E.** (1998a): Das kardiovaskuläre Risiko - Ist die Frau im Vorteil? In: Bundesärztekammer (Hrsg.) Fortschritte und Fortbildung in der Medizin. Deutscher Ärzte-Verlag; 22: 41-50.
- **Windler, E.** (1998b): Hyper- und Dislipoproteinämien. In: Wolff, H. P., Weihrauch, T. R. (Hrsg.) Internistische Therapie 98/99. 12. Auflage, Urban & Schwarzenberg, München, S. 989-1014.
- **Windler, E.** (1999): Lipidtherapie in der Prävention und Behandlung koronarer Herzkrankheit. 2. Auflage, S. 73.
- **Windler, E.**, Greten, H. (1998c): Fettstoffwechsel. In: Schettler, G., Greten, H. (Hrsg.) Innere Medizin. Thieme Verlag, Stuttgart-New York, S. 677-694.

- **Windler, E.**, Havel, R. J. (1985): 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.*; 26: 556-565.
- **Windler, E.**, Kovanen, P. T., Chao, Y. S., Brown, M. S., Havel, R. J., Goldstein, J. L. (1980): The estradiol stimulated lipoprotein receptor of rat liver. *J. Biol. Chem.*; 255: 10464-10471.
- **Windler, E.**, Preyer, S., Greten, H. (1986): Influence of lysophosphatidylcholine on the C-apoprotein content of rat and human triglyceride-rich lipoproteins during triglyceride hydrolysis. *J. Clin. Invest.*; 78: 658-665.
- **Windler, E.**, Greeve, J., Daerr, W. H., Greten, H. (1988): Binding of rat chylomicrons and their remnants to the hepatic low-density receptor and its role in remnant removal. *Biochem. J.*; 252: 553-561.
- **Windler, E.**, Jäckle, S., Greten, H. (1990b): Die Endozytose von Lipoproteinen durch die Leber und ihr intrazellulärer Weg im Vergleich zu anderen Liganden. *Ergebn. d. Gastroenterol.* 1989; *Verh. Bd.* 25: 39-41.
- **Windler, E.**, Beil, U., Greten, H. (1994): Fettstoffwechselerkrankungen. In: Classen, M., Diehl, V., Kochsiek, K. (Hrsg.) *Innere Medizin*. Urban & Schwarzenberg, München-Wien-Baltimore, S. 900-915.
- **Witztum, J. L.**, Simmons, D., Steinberg, D. et al. (1989): Intensive combination drug therapy of familial hypercholesterolemia with lovastatin, probucol, and colestipol hydrochloride. *Circulation*; 79: 16-28.
- **Wolfram, G.** (1990): Fettsucht: Neubewertung des Risikos. *Ernährungsumschau*; 37: 347-354.
- **Wood, P. D. S.**, Stefanick, M. L., Williams, P. T., Haskell, W. L. (1991): The effects on plasma lipoproteins of a prudent weight-reducing diet, with or without exercise, in overweight men and woman. *New Engl. J. Med.*; 325: 461-466.
- **Woollett, L. A.**, Spady, D. K., Dietschy, J. M. (1992): Saturated and unsaturated fatty acids independently regulate low density lipoprotein receptor activity and production rate. *J. Lipid Res.*; 33: 77-88.
- **Yamamoto, T.**, Davis, C. G., Brown, M. S. et al. (1984): The human LDL-receptor: a cysteine-rich protein with multiple Alu sequences in its mRNA. *Cell*; 39: 27-38.
- **Yamashita, S.**, Ueyama, Y., Funahashi, T., Nakamura, T. et al. (1986): A 31-year-old woman with homozygous familial hypercholesterolemia without significant lesions in the coronary arteries. *Atherosclerosis*; 62: 117-121.
- **Yokoyama, S.**, Hayashi, R., Satini, M., Yamamoto, A. (1985): Selective removal of low density lipoproteins by plasmapheresis in familial hypercholesterolemia. *Arteriosclerosis*; 5: 613-621.

7. Anhang - Tabelle 1: Synopsis der Daten der Normalpersonen

Nr.	Alter [Jahre]	Geschlecht	Gesamtcholesterin	LDL [mg/dl]	HDL [mg/dl]	VLDL [mg/dl]	Triglyceride [mg/dl]	LDL-Rez.-mRNA [10^{-5} pmol] ($0,5 \times 10^6$ Zellen)	LDL-Rez.-mRNA [10^{-5} pmol] (1×10^6 Zellen)
2	28	m	139	91	41	7	36	12,36	23,28
9	25	w	168	81	68	19	94	1,54	2,49
10	25	m	144	88	40	16	82	3,82	8,67
12	29	w	179	96	73	10	51	3,84	6,76
16	38	m	209	111	85	13	66	6,99	20,27
17	30	m	174	101	47	26	128	4,70	9,15
23	60	w	240	160	62	18	90	4,23	9,42
24	32	m	233	174	48	11	56	9,36	16,63
27	27	m	171	111	49	11	55	2,20	4,04
28	26	w	174	114	50	10	52	4,73	13,82
29	26	m	112	55	52	5	23	5,57	16,66
31	28	w	183	107	61	15	75	12,99	43,38
32	31	m	170	107	49	14	71	8,79	22,04
34	31	m	156	91	43	22	109	5,71	11,27
36	31	w	189	86	65	38	138	6,08	12,98
43	26	w	140	72	50	18	91	4,59	11,10
44	24	m	165	107	36	22	110	2,27	4,07
46	31	m	174	107	52	15	76	2,89	11,01
47	31	w	166	99	48	19	96	3,36	7,06
49	20	w	168	119	35	14	72	10,32	35,68
51	27	w	150	76	63	11	54	13,82	32,42

Legende: Nr. = chronologische Folgennummer der in dieser Arbeit untersuchten Probanden; Geschlecht: m = männlich, w = weiblich.

7. Anhang - Tabelle 2: Synopsis der Daten der Patientengruppe mit familiärer Hypercholesterinämie

Nr.	Alter [Jahre]	Geschl.	FA	Klin. Zeichen	KHK	Therapie	Dauer [Wochen]	Apo E Isoform	Ges.Chol.		LDL	HDL	VLDL	TG	Apo B	Lp(a)	LDL-Rez.-RNA [10 ⁻⁵ pmol]									
																	[mg/dl]								(0,5x10 ⁶ Zellen)	(1x10 ⁶ Zellen)
									vor									unter Therapie								
37	41	m	p	p	n	Diät	6	3/4	217	302	243	31	28	140	94	19	0,54	1,27								
46	29	m	p	p	n	Simva 20	6	4/4	481	348	295	34	19	96	249	67	4,99	7,07								
50	57	m	p	p	n	Simva 20	8	3/3	396	344	275	54	15	77	231	30	1,88	2,54								
4	17	m	p	n	n	Simva 20	36	3/4	334	303	248	33	22	111	189	20	11,12	30,13								
7	32	w	p	n	n	Simva 20	6	3/4	-	239	166	59	14	68	104	22	0,71	1,12								
15	46	w	p	n	n	Diät	6	3/4	306	264	198	49	17	85	159	19	1,50	3,04								
19	33	w	p	n	n	Diät	6	3/3	335	284	178	84	22	109	166	5	1,77	3,35								
24	42	m	p	n	n	Diät	6	3/3	342	314	241	44	29	145	241	12	0,97	1,30								
32	17	m	p	n	n	Simva 20	52	3/4	334	273	208	32	33	166	189	20	1,02	1,43								
38	37	m	p	n	n	Diät	52	-	312	154	97	17	-	198	106	11	0,89	1,28								
42	32	m	p	n	n	Diät	4	2/3	368	383	327	40	16	80	215	10	0,23	0,40								
52	57	m	p	n	n	Diät	7	3/3	259	360	302	37	21	105	156	19	1,58	2,41								
58	29	m	p	n	n	Simva 40	9	4/4	348	267	211	36	20	99	170	75	1,94	2,82								
13	61	w	n	p	p	Simva 20	6	3/3	355	254	177	60	17	84	166	65	8,19	24,52								
31	65	w	n	p	n	Diät	8	3/3	305	274	231	42	19	94	170	15	1,10	1,54								
53	33	m	n	p	n	Ion 2x2	8	3/3	343	366	308	31	27	137	205	25	0,91	1,41								
54	69	w	n	p	n	Lova 40	6	3/3	432	389	279	90	20	98	196	22	1,46	1,98								

Legende: Probanden nach diagnostischen Kriterien geordnet (Tabelle 3.1.); Nr. = chronologische Folgenummer der in dieser Arbeit untersuchten Patienten; Geschlecht: m = männlich, w = weiblich; FA (Familienanamnese), klinische Zeichen und KHK: p = positiv, n = negativ; Therapie: Ion 2x2 = Cholestyramin 2x2 täglich, Lova 40 = Lovastatin 40 mg, Simva 20/40 = Simvastatin 20/40 mg; - = unbekannt.

7. Anhang - Tabelle 3: Synopsis der Daten der Patientengruppe mit polygener Hypercholesterinämie

Nr.	Alter [Jahre]	Geschl.	FA	Klin. Zeichen	KHK	Therapie	Dauer [Wochen]	Apo E Isoform	Ges.Chol.		LDL	HDL	VLDL	TG	Apo B	Lp(a)	LDL-Rez.-RNA [10 ⁵ pmol]	
									[mg/dl]								(0,5x10 ⁶ Zellen)	(1x10 ⁶ Zellen)
									vor	unter Therapie								
39	42	m	p	n	p	Diät	6	3/3	181	243	176	30	37	183	141	3	1,13	1,51
14	78	w	-	n	p	Lova 40	-	-	-	353	272	62	19	95	-	-	1,21	1,46
5	56	m	n	n	n	Lova 60	121	3/3	346	348	262	75	13	56	206	34	0,66	0,77
11	30	w	n	n	n	Ion 2x	4	3/3	309	217	158	44	15	76	190	<1	2,55	2,28
12	62	w	n	n	n	Simva 20	6	3/4	356	230	135	67	28	138	161	5	1,91	5,70
23	55	m	n	n	n	Ion	4	3/3	358	193	130	45	18	88	141	10	0,77	1,15
27	36	w	n	n	n	Diät	6	3/4	324	349	-	27	-	643	240	30	1,67	4,06
28	33	w	n	n	n	Ion 3x	260	3/3	325	236	183	35	18	91	263	27	1,01	1,31
30	67	m	n	n	n	Simva 40	312	3/3	-	339	266	35	38	192	239	50	0,43	0,99
35	64	m	n	n	n	Simva 20	312	3/4	324	232	171	46	15	74	129	2	0,80	1,77
36	66	m	n	n	n	Ion 3x	6	3/2	336	302	236	38	28	139	229	5	0,92	1,53
45	33	w	n	n	n	Ion 4x	20	3/4	325	235	183	40	12	60	263	27	2,49	3,60
48	68	w	n	n	n	Diät	8	3/3	287	328	182	115	31	156	132	13	4,14	6,78
51	54	w	n	n	n	Diät	4	3/4	296	385	>230	31	-	982	203	<2	2,13	2,89
55	47	m	n	n	n	Diät	6	4/4	239	357	252	34	71	355	163	8	1,65	2,97
3	42	m	n	p	n	Simva 20	52	3/4	293	195	128	51	16	81	170	18	5,58	9,77
33	40	w	n	p	n	Ion 2x	8	3/3	270	220	143	52	25	126	222	10	0,82	1,62
9	67	m	n	n	p	Diät	4	3/3	255	237	174	35	28	141	155	17	5,92	9,31
10	55	m	n	n	p	Diät	6	3/3	252	230	163	28	39	193	156	6	1,35	2,09
25	67	m	n	n	p	Simva 20	8	3/3	237	140	90	32	18	91	155	17	1,70	2,35
34	74	w	n	n	p	-	-	-	-	256	158	66	-	160	-	-	1,55	2,00
6	29	m	n	n	n	Ion 2x	12	3/3	259	213	154	50	9	47	133	37	4,60	18,89
8	43	m	n	n	n	Diät	6	3/3	253	209	157	37	15	73	168	5	2,46	3,93
16	31	w	n	n	n	Diät	8	2/3	260	277	189	53	35	176	134	37	1,32	2,02
21	22	w	n	n	n	Diät	121	3/3	299	262	189	62	11	54	147	<5	1,16	1,74
22	31	m	n	n	n	Diät	8	3/3	235	194	128	43	23	117	162	5	0,73	1,27
26	27	m	n	n	n	Diät	6	3/3	271	240	181	41	18	89	186	50	1,84	3,93
40	36	m	n	n	n	Diät	8	3/3	289	273	177	43	53	266	123	2	1,07	1,74
41	21	w	n	n	n	Diät	6	2/4	289	277	203	40	34	172	202	3	0,28	0,56
44	39	m	n	n	n	Ion 4x	20	3/3	256	204	136	40	28	141	120	7	2,37	3,32
56	26	m	n	n	n	Diät	8	3/4	206	204	132	48	24	122	108	58	1,52	2,38

Legende: Probanden nach diagnostischen Kriterien geordnet (Tabelle 3.2.); Nr. = chronologische Folgennummer der in dieser Arbeit untersuchten Patienten; Geschlecht: m = männlich, w = weiblich; FA (Familienanamnese), klinische Zeichen und KHK: p = positiv, n = negativ; Therapie: Ion 2/3/4x = Cholestyramin 2/3/4x täglich, Lova 40/60 = Lovastatin 40/60 mg, Simva 20/40 = Simvastatin 20/40 mg; - = unbekannt.

6. Anhang - Tabelle 4:**Familienanamnese und klinische Zeichen der hypercholesterinämischen Patienten**

Nr.	Familienanamnese		typische klinische Zeichen	
3	Vater Myokardinfarkt mit 65 Jahren	n	tendinöse u. planare Xanthome	p
4	Mutter KHK u. potentielle HELP-Kandidatin mit 41 Jahren Bruder erhöhtes Cholesterin mit 12 Jahren Großmutter mütterlicherseits erhöhtes Cholesterin Großtante mütterlicherseits Myokardinfarkt mit 45 Jahren	p	-	n
5	2 von 4 Kindern erhöhtes Cholesterin	n	-	n
6	-	n	-	n
7	Vater Myokardinfarkt mit 49 Jahren Schwester 1 väterlicherseits Myokardinfarkt mit 61 Jahren Schwester 2 väterlicherseits erhöhtes Cholesterin	p	-	n
8	Bruder erhöhtes Cholesterin	n	-	n
9	-	n	-	n
10	Halbschwester Myokardinfarkt mit 50 Jahren	n	-	n
11	Großvater Myokardinfarkt mit 68 Jahren	n	-	n
12	Tante Myokardinfarkt mit 63 Jahren	n	-	n
13	-	n	tendinöse Xanthome (Achillessehne) u. Arcus lipoides bds.	p
14	unbekannt	unb.	-	n
15	Vater Myokardinfarkt mit 47 Jahren	p	-	n
16	-	n	-	n
19	Mutter Myokardinfarkt mit 51 Jahren Schwester 1 u. 2 erhöhtes Cholesterin	p	-	n
20	Schwester 1 u. 2 erhöhtes Cholesterin	n	tendinöse Xanthome (Hand)	p
21	Mutter erhöhtes Cholesterin Tante mütterlicherseits erhöhtes Cholesterin Großmutter mütterlicherseits Myokardinfarkt mit 67 Jahren	n	-	n
22	Vater erhöhtes Cholesterin Großvater väterlicherseits Apoplex mit 61 Jahren Großonkel väterlicherseits Myokardinfarkt	n	-	n
23	Großmutter 2 x Myokardinfarkt mit 75 Jahren	n	-	n
24	Vater Myokardinfarkt mit 40 Jahren	p	-	n
25	-	n	-	n
26	Vater erhöhtes Cholesterin mit 57 Jahren Onkel väterlicherseits erhöhtes Cholesterin mit 55 Jahren	n	-	n
27	-	n	-	n
28	Mutter erhöhtes Cholesterin Bruder erhöhtes Cholesterin	n	-	n
30	Mutter Myokardinfarkt mit 70 Jahren	n	-	n
31	-	n	tendinöse Xanthome (Achillessehne) u. Arcus lipoides bds.	p
32	Mutter KHK u. potentielle HELP-Kandidatin mit 41 Jahren Bruder erhöhtes Cholesterin mit 12 Jahren Großmutter mütterlicherseits erhöhtes Cholesterin Großtante mütterlicherseits Myokardinfarkt mit 45 Jahren	p	-	n
33	Schwester 1 u. 2 erhöhtes Cholesterin	n	tendinöse Xanthome (Hand)	p
34	-	n	-	n
35	Sohn erhöhtes Cholesterin mit 29 Jahren	n	-	n
36	-	n	-	n
37	Vater Myokardinfarkt mit 49 Jahren Schwester erhöhtes Cholesterin	p	tendinöse Xanthome u. Arcus lipoides bds.	p
38	Vater Myokardinfarkt mit 58 Jahren Mutter Myokardinfarkt mit 55 Jahren	p	-	n
39	Mutter Myokardinfarkt mit 54 Jahren Vater Myokardinfarkt mit 39 Jahren	p	-	n

40	Mutter Myokardinfarkt mit 61 Jahren	n	-	n
41	Vater erhöhtes Cholesterin	n	-	n
42	Vater Myokardinfarkt mit 55 Jahren	p	-	n
44	Vater Myokardinfarkt mit 58 Jahren Onkel 1 mütterlicherseits Myokardinfarkt mit 61 Jahren Onkel 2 mütterlicherseits Myokardinfarkt mit 59 Jahren	n	-	n
45	Mutter erhöhtes Cholesterin Bruder erhöhtes Cholesterin	n	-	n
46	Vater Myokardinfarkt mit 47 Jahren Großmutter väterlicherseits erhöhtes Cholesterin	p	tendinöse Xanthome u. Xanthelasmen	p
48	-	n	-	n
50	Mutter Myokardinfarkt mit 50 Jahren Bruder Myokardinfarkt mit 60 Jahren	p	tendinöse u. planare Xanthome u. Arcus lipoides bds.	p
51	-	n	-	n
52	Bruder KHK u. Bypass-OP mit 54 Jahren	p	-	n
53	Großvater Myokardinfarkt mit 63 Jahren	n	tendinöse Xanthome (Achillessehne)	p
54	Onkel mütterlicherseits Myokardinfarkt mit 66 Jahren Großcousine mütterlicherseits Myokardinfarkt (Gesamtcholesterin >500 mg/dl)	n	tendinöse Xanthome (Achillessehne) u. Arcus lipoides bds.	p
55	-	n	-	n
56	Vater erhöhtes Cholesterin Onkel väterlicherseits Myokardinfarkt mit 53 Jahren Tante väterlicherseits erhöhtes Cholesterin	n	-	n
57	Vater erhöhtes Cholesterin (Gesamtcholesterin >270 mg/dl) Mutter erhöhtes Cholesterin (Gesamtcholesterin >350 mg/dl)	n	-	n
58	Vater Myokardinfarkt mit 53 Jahren Großmutter väterlicherseits erhöhtes Cholesterin	p	-	n

Legende: Nr. = chronologische Folgennummer der in dieser Arbeit untersuchten Patienten;
p = positiv, n = negativ; unb. = unbekannt; - = keine signifikanten Angaben bzw. Befunde.

8. Danksagungen

Ganz herzlich bedanke ich mich bei Herrn Professor Windler für die Überlassung des Themas sowie die sehr persönliche, geduldige und stets bereite Betreuung.

Ebenso danke ich Frau Bettina Schultz für die vielen experimentellen Hilfen ganz herzlich. Dank gebührt auch Herrn Daniel Puchta, dessen Arbeiten die Voraussetzungen für diese Dissertation geliefert haben. Frau Professor Beisiegel danke ich für den Zugang zum Patientenarchiv und ihre hilfreichen Ratschläge.

Ganz besonders danke ich Herrn Professor Berger für die konstruktive Hilfe bei der statistischen Auswertung des Datenmaterials.

9. Lebenslauf

Angaben zur Person:

Name: Robert Baumbach
Wohnort: Mergenthalerweg 9f
22523 Hamburg
Tel.: 040/571 18 02
Geburtstag: 24.03.1970
Geburtsort: Hamburg
Nationalität: deutsch
Familienstand: ledig
Konfession: evangelisch

Schulbildung: 08.77 - 06.81 Grundschule Altrahlstedt
08.81 - 06.87 Realschule Altrahlstedt
08.87 - 06.90 Erich Kästner-Gesamtschule
26.06.1990 Abitur

Zivildienst: 09.90 - 11.91 Universitäts-Frauenklinik und Poliklinik des
Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf

Akademische

Ausbildung: 04.92 - 07.92 Studium der Chemie an der Universität Hamburg
10.92 - 06.99 Studium der Humanmedizin
10.92 - 08.94 Vorklinischer Abschnitt an der Universität
Hamburg
29.08.1994 Physikum
10.94 - 08.95 I. Klinischer Abschnitt an der Universität
Tübingen
29.08.1995 I. Staatsexamen
10.95 - 03.98 II. Klinischer Abschnitt an der Universität
Hamburg
20.03.1998 II. Staatsexamen
04.98 - 03.99 Praktisches Jahr an der Universität
Hamburg
04.98 - 08.98 Innere Medizin/Albertinen-KH
08.98 - 12.98 Chirurgie/Albertinen-KH
12.98 - 03.99 Neurologie/AK Barmbek
01.06.1999 III. Staatsexamen

AiP: 07.06.1999 - 06.12.2000, Abteilung für Innere Medizin,
Ev. Amalie Sieveking-Krankenhaus e.V.
(Direktorin: Frau Prof. Dr. med. I. Koop).

Assistenzarzt: Seit 07.12.2000, Abteilung für Innere Medizin,
Ev. Amalie Sieveking-Krankenhaus e.V.

10. Erklärung

Ich versichere ausdrücklich, daß ich die Arbeit selbstständig 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 entnommen 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.

Hamburg, Februar 2001

 |