

**Aus dem Institut für Biochemie und molekulare Zellbiologie des  
Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf**

**Direktorin Prof. Dr. rer. physiol. Dr. h.c. Ulrike Beisiegel**

**Antikörper gegen oxidiertes LDL als Risikomarker  
für die Atherosklerose**

**Eine Untersuchung an 258 Patienten nach diagnostischer und interventioneller  
Koronarangiographie im Universitätskrankenhaus Hamburg-Eppendorf**

**Dissertation**

**Zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
Der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg**

**vorgelegt von:**

**Ayse Kobbe aus Gaziantep/ Türkei**

**Hamburg 2011**

**Angenommen von der Medizinischen Fakultät am: 29.07.2011**

**Veröffentlicht mit Genehmigung der medizinischen Fakultät der Universität  
Hamburg**

**Prüfungsausschuss, Vorsitzende: Prof. Dr. rer. physiol. Dr. h.c. Ulrike Beisiegel**

**Prüfungsausschuss, 2. Gutachter: PD Dr. K. Sydow**

**Prüfungsausschuss, 3 Gutachter: PD Dr. M. Merkel**

# Inhaltsverzeichnis

	Seite
<b>1. Einleitung</b>	<b>2</b>
Pathogenese der Artherosklerose	2
Atherosklerose-Klassifikation nach Stary	2
Risikofaktoren der Atherosklerose ( <i>Cholesterin, Ernährung, Bewegungsmangel, Übergewicht, Arterieller Hypertonus, Nikotin, Diabetes mellitus, Alkohol, Östrogene, Fibrinogen, Homocystein</i> )	4
Cholesterinstoffwechsel	12
Lipoproteine und Apolipoproteine ( <i>Chylomikronen, VLDL, IDL, HDL, Lipoprotein(a), ApoE</i> )	13
LDL und Atherogenese	18
Oxidativer Stress	21
Oxidation des LDL ( <i>Lipidperoxidation, Apo B-Modifikation</i> )	22
Immunantwort und Antikörper gegen verändertes LDL	27
Ziel der vorliegenden Arbeit	29
<b>2. Material und Methoden</b>	<b>30</b>
Auswahl des Patientenkollektives	30
Kontrollgruppe	32
Probengewinnung	32
Bestimmung der Blutlipide	33
Bestimmung der Antikörper gegen Ox-LDL im Serum	35
Statistik	37
<b>3. Ergebnisse</b>	<b>38</b>
Beschreibung des Kollektivs	38
Koronarangiographie	40
Statistischer Vergleich der Lipidparameter	41
Apolipoprotein-E-Genotyp	45
Vergleich Ox-LDL-Ak	46
Ox-LDL-Ak und die Atherosklerose beeinflussende Faktoren	48
Nachuntersuchung der Patienten	49
<b>4. Diskussion</b>	<b>50</b>
Ox-LDL-Ak und Lebensalter	51
Lipidparameter	52
Ox-LDL-Ak	54
<b>5. Zusammenfassung</b>	<b>59</b>
Abkürzungen	60
Literaturverzeichnis	61
Anhang	78
Danksagung	81
Lebenslauf (zur Veröffentlichung gelöscht)	82
Eidesstattliche Erklärung	84

# 1. Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die häufigste Todesursache in den westlichen Industrieländern. In der Mortalitätsstatistik stehen sie noch vor den malignen Erkrankungen. Der überwiegende Anteil kardiovaskulärer Erkrankungen ist durch Atherosklerose charakterisiert. Atherosklerose bezeichnet die pathologische Veränderung der Arterienwände. Dieser Krankheitsprozess wird auch Atheromatose genannt (Stevens & Lowe 1997). Durch Verdickung, Verhärtung und Verlust an Elastizität verengt sich das Gefäßlumen der Arterien. Nach Dekaden des Fortschreitens der Arteriosklerose, manifestieren sich schwere Folgeerkrankungen wie die koronare Herzkrankheit (KHK), Myokardinfarkt, Schlaganfall und peripherer Gefäßverschluss. Die KHK ist die klinisch bedeutendste Manifestation der Atherosklerose (Beaglehole 1990) und die häufigste Todesursache bei Männern über 40 Jahren und Frauen über 65 Jahren (Tuomilehto *et al.* 1987, Uemera & Pisa 1988). Nach der Definition der Weltgesundheitsorganisation (WHO) ist die Atherosklerose eine Erkrankung der Gefäßintima mit einer variablen Kombination von charakteristischen, morphologischen Veränderungen. Man findet fokale Ablagerungen von Lipiden, komplexen Kohlehydraten, Blut und Blutprodukten, fibrösem Gewebe und Calciumablagerungen, einhergehend mit Veränderungen in der Media großer und mittlerer elastischer und muskulärer Arterien (WHO 1985). Bereits im Jugendalter sind Lipidansammlungen in der Intima der Arterienwände nachzuweisen (Spelsberg & Keil 1995). Im weiteren Verlauf des Lebens hängt der Progress der Atherosklerose von einer Vielzahl verschiedener Risikofaktoren ab. Schon seit Beginn des 20. Jahrhunderts ist ein Zusammenhang zwischen dem Cholesterinspiegel im Blut und der Atherosklerose bekannt (Verse 1916, Lande & Sperry 1936, Anitschkoff 1913). Die bahnbrechenden Arbeiten von Brown und Goldstein hinsichtlich des low density lipoprotein (LDL) Rezeptors (Brown & Goldstein 1974, Brown & Goldstein 1975), der rezeptorvermittelten Endozytose, sowie der regulierten Aufnahme von modifiziertem LDL über den Scavenger-Rezeptor (Goldstein & Brown 1977, Goldstein *et al.* 1979), führten zu einer enormen Beschleunigung des Erkenntnisstandes in der Erforschung der Atherogenese (Brown & Goldstein 1985). Insbesondere die oxidative Modifikation des LDL wird als zentraler Trigger und progressionfördernder Faktor angesehen (Steinberg *et al.* 1989). Oxidativ modifiziertes LDL (ox-LDL) wirkt immunogen und es lassen sich monoklonale Antikörper gegen Epitope von LDL nachweisen (Palinski *et al.* 1989,

Palinski *et al.* 1990). Die Nutzung einfacher diagnostischer Verfahren zur Quantifizierung dieser gegen ox-LDL gerichteten Antikörper könnte, im Sinne eines Surrogat-Markers für das Vorhandensein von arteriosklerotischen Läsionen, der prädiktiven Einschätzung des Risikos von kardiovaskulären Komplikationen dienen.

## **Pathogenese der Atherosklerose**

Die Entstehung der Atherosklerose wird von verschiedenen Prozessen bestimmt. Prospektive Untersuchungen, insbesondere die berühmte Framingham Studie, zeigten, dass durch das Vorliegen von Risikofaktoren die Wahrscheinlichkeit des späteren Auftretens atherosklerotischer Komplikationen wie Herzinfarkt oder peripherer Arterienverschluss, vorhergesagt werden kann.

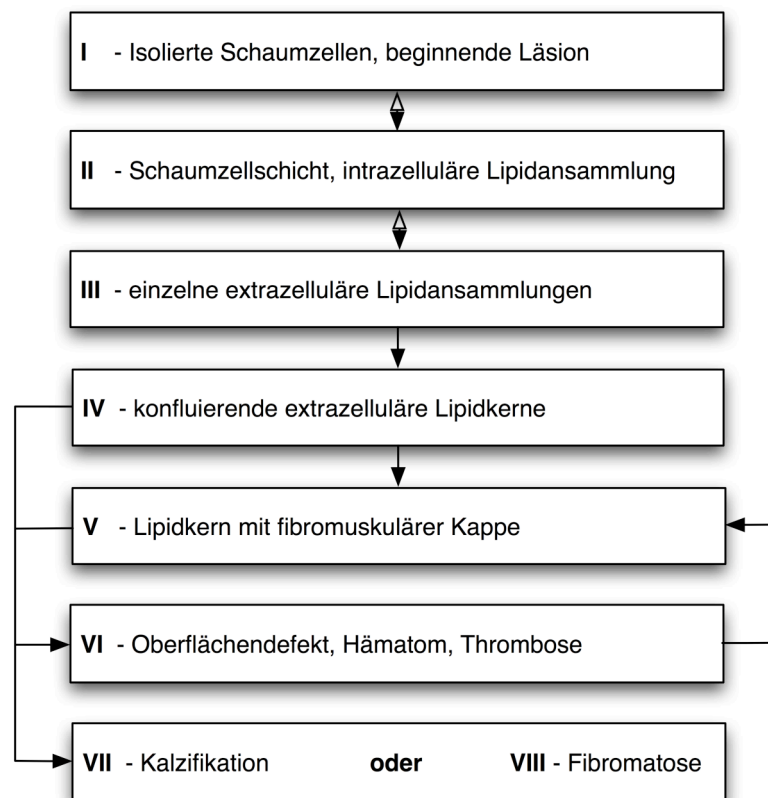
Die Pathogenese der Atherosklerose ist unterschiedlich erklärt worden und verschiedene Aspekte der komplexen Atherogenese wurden aufgezeigt. Neben klassischen Theorien, der Inkrustationstheorie von Rokitansky (Rokitansky 1844), der Theorie der entzündlich-degenerativen Veränderungen von Virchow (Virchow 1854), der Infiltrationstheorie von Anitschkow (Anitschkow 1912), steht die weitgehend akzeptierte Hypothese der sogenannten „Response-to-injury“-Hypothese (Ross & Glomset 1974), welche heutzutage die Grundlage für die Vorstellung der Atherogenese darstellt. Danach sind die endothelialen Zellen der Gefäßwände wiederholten Reizen ausgesetzt, die ihre Integrität beeinträchtigen. Es kann sich hierbei um mechanische, metabolische oder immunologische Reize handeln oder um Schädigungen die durch Toxine, Bakterien oder Viren hervorgerufen werden. Die Folgen können von einer leichten Stimulation der Endothelzellen über die Störung der Zellfunktion bis zur makroskopisch sichtbaren Rarefizierung des Endothels und der Freilegung darunter liegender Zellschichten reichen. Diese Freilegung der endothelialen Zellschichten wird als erster Schritt der Atherogenese beschrieben. Neuere Erkenntnisse zeigen allerdings, dass bereits die endotheliale Dysfunktion der erste wichtige und die weitere Atherogenese einleitender Schritt ist (Ross 1999).

## **Atherosklerose-Klassifikation nach Stary**

Das „American Heart Association Committee on Vascular Lesions“ empfiehlt eine morphologische Klassifikation atherosklerotischer Plaques, basierend auf Vorschlägen von Stary (Stary 1992, Stary *et al.* 1994, Stary 2000). Diese wurde an einer Serie von Autopsien erarbeitet und ermöglicht eine Beobachtung der

altersabhängigen Plaque-Entwicklung an bestimmten Prädeliktionsstellen der koronaren Atherosklerose von ihren symptomlosen Frühstadien bis zur klinisch symptomatischen Läsionen (**Abbildung 1**).

**Abbildung 1.** Modell der Atheroskleroseentstehung modifiziert nach Stary



Stadien der Entwicklung eines atherosklerotischen Plaques (modifiziert nach Stary 2000). Bereits im ersten Lebensjahrzehnt wandern Monozyten aus der Blutstrombahn in die Gefäßwand ein und werden dort zu Schaumzellen (Stary-Stadium I). Kalkablagerungen sind ab Stary-Stadium III nachweisbar. Pfeile geben die mögliche Richtung der Entwicklung an.

Läsionen der **I. Phase** kann man nur mikroskopisch oder laborchemisch erkennen. Diese Läsionen werden in der Regel bei Personen unter dem 30. Lebensjahr gefunden. Man geht davon aus, dass diese Läsionen zum grössten Teil reversibel sind, jedoch auch Frühstadien progredienter Plaques darstellen können. Sie sind gekennzeichnet durch Lipoproteinansammlungen in der Gefäßintima oder vereinzelt auftreten von Lipiden in ortsständigen Makrophagen, begleitet von schaumzellartigen Morphologien der Makrophagen und der glatten Muskelzellen.

In der **II. Phase** sind vermehrte, zum Teil konfluierende Lipidansammlungen makroskopisch zu sehen, die mechanisch instabil und rupturgefährdet sind. Diese Läsion ist von einer dünnen fibrösen Deckplatte gegenüber dem Lumen abgegrenzt.

Die II. Phase kann entweder in die akute III. bzw. IV. Phase oder, ohne ein akutes Ereignis, direkt in die fibrotische V. Phase übergehen.

Die **III.** und **IV. Phase** sind jeweils durch komplizierte Läsionen gekennzeichnet, die Oberflächendefekte aufweisen, die zu einer intra-Plaques-Hämorrhagie und/oder zur Bildung eines Thrombus führen. In dieser Phase können klinische Symptome wie ein akutes Koronarsyndrom oder cerebrale Durchblutungsstörung auftreten.

Die **V. Phase** charakterisiert die typische fortgeschrittene Läsion, das Fibroatherom. Hier findet man eine fibröse Kappe aus Kollagen und glatten Muskelzellen über dem Lipidkern. Diese Läsionen werden durch thrombohämorrhagische Komplikation, bedingt durch Einrisse der fibrösen Kappe in der **VI. Phase** begleitet.

Die **VII. Phase** kennzeichnet das Überwiegen von kalzifizierten, nekrotischen Arealen und in der **VIII. Phase** bestimmt dann zellarmes, kollagenes Bindegewebe das morphologische Bild. Diese letzte Phase ist nach der Auffassung mancher Autoren eher als Stadium der Ausheilung anzusehen (Bräsen & Niendorf 1997).

## **Risikofaktoren der Atherosklerose**

Als Risikofaktoren (RF) werden angeborene oder vererbte Merkmale, bestimmte Formen des Lebensstil und Verhaltensmuster oder eine durch die Umwelt vermittelte Exposition bezeichnet, die in epidemiologischen Untersuchungen mit dem Auftreten einer bestimmten Erkrankung assoziiert wurden und deren Prävention, wenn möglich, von gesundheitlichem Nutzen ist (Keys *et al.* 1971).

Das „National cholesterol education program“ identifizierte 10 RF, die mit atherosklerotischen Gefäßwandveränderungen in Zusammenhang stehen (Bookstein *et al.* 1990). Zahlreiche andere wissenschaftliche Studien, allen voran die bekannte Framingham-Kohorte, haben eine statistische Korrelation zwischen bestimmten RF und der KHK aufgezeigt (Dawber 1980). Treten mehrere RF gleichzeitig auf, können sie sich in ihrer schädlichen Wirkung potenzieren, was am Beispiel der KHK im Detail erforscht wurde (Assman & Schulte 1988). Nach Hanefeld werden RF, in beeinflussbare und nicht beeinflussbare RF aufgeteilt (**Tabelle 1**, Hanefeld 1999).

Unter den verschiedenen RF nehmen die Fettstoffwechselstörungen eine sehr wichtige und zentrale Rolle ein (Assman & Schulte 1992). Die bereits zitierte Lipidhypothese besagt, dass die Erhöhung der atherogenen Lipoproteinfraktionen und/oder ein Mangel an anti-atherogenen Lipoproteinen die Inzidenz sowie die Progression der Atherosklerose und damit einhergehend die Morbidität und

Mortalität durch atherosklerotische Folgeerkrankungen kausal beeinflussen (Hanefeld 1999).

Beeinflussbare RF	Unbeeinflussbare RF
- Hypercholesterinämie	- Lebensalter
- Hypertonie	- Geschlecht (männlich : weiblich 2,6:1)
- Nikotinabusus	- genetische Disposition
- Diabetes mellitus	
- Adipositas	
- Gicht	
- Bewegungsmangel	
- Hypothyreose	
- Thromboseneigung	
- Stress	

**Tabelle 1.** Unterteilung von Risikofaktoren der Atherosklerose modifiziert nach Hanefeld 1999

### Gesamtcholesterin

Die hohe Bedeutung des Gesamtcholesterins als RF für die Atherosklerose-Entwicklung ist gut belegt. Schon 1913 konnte Anitschkoff bei Kaninchen durch nahrungsinduzierte Hypercholesterinämie eine Atherosklerose nachweisen (Anitschkoff, 37). Bereits die ersten Daten der Framingham-Studie zeigten ein zuehmendes Risiko für KHK mit steigenden Serumcholesterinspiegeln (Dawber 1980). Zahlreiche Studien untermauerten später diese Beobachtungen, wie zum Beispiel die Darstellung des Zusammenhangs von zu Lebzeiten bestimmten Cholesterinwerten und dazugehörigen postmortal obduzierten atherosklerotischen Gefäßläsionen (Holme *et al.* 1981). In diesen Untersuchungen war eine lineare positive Korrelation zwischen den Gesamtcholesterinwerten und den einzelnen Stadien der Koronarsklerose zu erkennen gewesen. Andere tierexperimentelle Studien, in denen Primaten mit sehr cholesterinreicher Nahrung gefüttert wurden, zeigten schon nach wenigen Wochen erste Gefäßwandveränderungen (Faggiotto *et al.* 1984, Faggiotto & Ross 1984). Einige Monate später konnten bei denselben Tieren dann komplizierte Läsionen der Gefäßwände nachgewiesen werden.

Die über 360.000 Personen einschliessende MRFIT-Studie (Multiple-Risc-Factor-Intervention-Trial) konnte den Einfluß vom Gesamtcholesterin auf die KHK-Mortalität belegen (Martin *et al.* 1986). In dieser Studie wurde im Vergleich zu Kontrollpersonen mit einem Gesamtcholesterin von 200 mg/dl eine geringere



Mortalität in der Gruppe der Männer mit einem Gesamtcholesterinwert von unter 180 mg/dl beobachtet. Das Risiko an einer KHK zu versterben stieg dann bis zu einem Gesamtcholesterinwert von 200 mg/dl linear an. Höhere Werte als 200 mg/dl zeigten eine exponentielle Risikozunahme. Bei einem Gesamtcholesterin von über 250 mg/dl verdoppelte, bei Werten über 300 mg/dl verdreifachte sich das Risiko an einer KHK zu versterben.

In der Folge erbrachten experimentelle Untersuchungen weitere Erkenntnisse: 1) den Nachweis von Cholesterin in Atheromen, 2) eine hohe Zufuhr von Cholesterin konnte Atherosklerose induzieren, und 3) eine Reduzierung der Nahrungslipide konnte die Atherosklerose zum Teil zur Rückbildung bringen (Vogel *et al.* 1992). Zahlreiche epidemiologische Studien zeigten zudem den statistischen Zusammenhang von genetisch bedingter Hypercholesterinämie und Entwicklung der Atherosklerose (Cremer *et al.* 1991, Grundy 1984, Kane *et al.* 1980), insbesondere in Bezug auf die Inzidenz der KHK (Pedersen *et al.* 1994, Levy 1985, Expert panel of the National Cholesterol Education Program 1988). Der Quotient von Gesamtcholesterin zu HDL-Cholesterin wird als ein wichtiger Prädiktor für KHK angesehen (Levy & Kannel 1988). Auch die Triglyzeride gewinnen als RF immer mehr an Bedeutung. Es wurde gezeigt, dass Triglyzeridreiche Lipoproteine die Entstehung von Atherosklerose fördern und Störungen im Metabolismus der Triglyzeride dazu beitragen, die HDL-Konzentration zu vermindern und gleichzeitig den LDL-Spiegel zu erhöhen (Assman 1988). Somit können auch Störungen im Triglyzeridmetabolismus atherogene Wirkung haben. Dies zeigte auf epidemiologischer Ebene die PROCAM-Studie, in der das KHK-Risiko mit steigenden Triglyzeriden- bei gleichzeitig hohen LDL- und niedrigen HDL-Werten anstieg (Assman & Schulte 1992).

### **Ernährung**

Der Einfluß der Ernährung auf das Arteriosklerose- und KHK-Risiko wird immer noch unterschätzt und besonders cholesterinreiche Ernährung hat bedeutende Folgen. Im Jahre 1958 startete die 19 Jahre umfassende prospektive Western Electric Studie mit Männern jeweils gleichen Alters, die täglich entweder 300 mg Cholesterin auf 1000 kcal oder nur 100 mg Cholesterin auf 1000 kcal aufnahmen (Shekelle *et al.* 1981). In dieser Kohorte zeigte sich ein hochsignifikantes, um 90% höheres Risiko für Atherosklerose und assoziierte Folgeerkrankungen in der Ernährungsgruppe mit

hohem Cholesteringehalt. Als Hauptursache für diese Risikoerhöhung wird der Anstieg des LDL-Cholesterins bei cholesterinreicher Ernährung gesehen. In Tierversuchen stieg nicht nur das LDL-Cholesterin oder das Gesamtcholesterin durch cholesterinreiche Ernährung, sondern das HDL-Cholesterin wurde ebenso ungünstig beeinflusst, sowie die Thromboseneigung gefördert (Mahley *et al.* 1978).

Besonders der Anteil der gesättigten Fettsäuren (FS) in der Nahrung scheint einen gravierenden Effekt auf die KHK-Sterblichkeit zu haben. Die NI-Hon-San-Studie (Kagan *et al.* 1974, Kato *et al.* 1973) untersuchte japanische Einwanderer in den USA, deren Essgewohnheiten sich in Richtung steigendem gesättigtem FS-Anteil und Cholesterin verschoben hatten. Die Sterblichkeit dieses Kollektivs stieg im Vergleich zur japanischen Kontrollgruppe mit traditionellen Ernährungsgewohnheiten signifikant an. Heutzutage wird die kardioprotektive, sogenannte mediterrane Diät von Ernährungsforschern propagiert (de Lorgeril & Salen 2006). Der lange Zeit vertretene Standpunkt, dass nur mehrfach ungesättigte FS einen positiven Einfluß auf das KHK-Risiko haben, ist aus heutiger Sicht nicht richtig. Auch die Aufnahme von einfach ungesättigten FS, die ebenfalls einen Schutz vor Mortalität vermitteln, wird nach wie vor empfohlen (Keys *et al.* 1971).

### **Bewegungsmangel**

Ein leicht zu beeinflussender RF ist der Bewegungsmangel. Je inaktiver eine Person ist, desto höher liegt sein KHK-Risiko. Im Vergleich zu körperlich aktiven Personen ist das Risiko, eine KHK zu entwickeln, bei inaktiven Personen 1,5- bis 2-fach erhöht (Assman & Schulte 1988). Bewegungsmangel geht meist mit Übergewicht, erhöhtem Gesamt- und LDL-Cholesterin sowie erniedrigten HDL-Cholesterinspiegel einher, während körperliche Bewegung das HDL-Cholesterin erhöht, was wiederum einen Schutz vor arteriosklerotischen Erkrankungen vermittelt. Andererseits ist sportliche Betätigung nicht frei von Gefahren, denn KHK-Symptome und assoziierte Ereignisse, wie der plötzliche Herztod, treten während und nach körperlicher Betätigung häufiger auf als im Ruhezustand. Insgesamt wird der plötzliche Herztod jedoch bei körperlich aktiven Personen seltener beobachtet (Assman & Schulte 1988).

## **Übergewicht**

Ein Übergewicht liegt nach der Definition der WHO bei einem Body-Mass-Index [BMI=Körpergewicht (kg)/Körperhöhe (m<sup>2</sup>)] von 25-30 vor, während man ab einem BMI von 30 von Adipositas spricht (WHO 2000). In erster Linie sind Übergewicht und Adipositas eine Folge von vermehrter Kalorienzufuhr bei gleichzeitigem Bewegungsmangel. Besonders die erhöhte Zufuhr von Nahrungsfetten führt zu deren Einlagerung in das Fettgewebe und zum Anstieg des Körpergewichtes. Das erhöhte Körperfett ist ein wichtiger auslösender Faktor für das Auftreten des metabolischen Syndroms mit Entwicklung einer Insulinresistenz. Auch die Fettverteilung spielt eine Rolle. Es erscheint heute eindeutig bewiesen, dass vor allem die Anhäufung von Fett im abdominellen Bereich mit Insulinresistenz, Hyperinsulinämie, Glucoseintoleranz, nichtinsulinabhängigem Diabetes mellitus, arteriellem Hypertonus und Dyslipoproteinämie einhergeht (Wechsler & Wetzel 1995). Leiden Patienten an einem metabolischen Syndrom, so sind der Fibrinogenspiegel und die Plasmaviskosität erhöht. Zusätzlich besteht eine reduzierte fibrinolytische Aktivität (Hauner 1995), welche thromboembolische Ereignisse begünstigt.

Die vermehrte Aufnahme von gesättigten FS steigert das Gesamtcholesterin, insbesondere das atherogen wirkende LDL-Cholesterin. Übergewicht begünstigt neben Atherosklerose eine Reihe von Erkrankungen, wie KHK, Apoplex, Hyperlipoproteinämie, Dyslipoproteinämie, Hypertonus und Diabetes mellitus (Wechsler & Ditschuneit 1986, Sjöström 1992, Van Itallie 1985). In der Framingham-Studie erlitten übergewichtige Personen im Vergleich zu normalgewichtigen Personen doppelt so häufig Myokardinfarkte oder entwickelten eine Herzinsuffizienz. Zusätzlich zeigten die aus der Framingham-Studie gewonnenen Daten, dass große Schwankungen des Körpergewichts die Morbidität und Mortalität der KHK verstärken (Dawber 1980).

## **Arterieller Hypertonus**

Das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie zählt ebenfalls zu den wichtigsten RF für die Atherosklerose. Insbesondere gelten Menschen mit Bluthochdruck als besonders gefährdet für *Apoplexia cerebri*. Mit zunehmendem Alter steigt die Prävalenz bei beiden Geschlechtern an und im Alter zwischen dem 56.-65. Lebensjahr beträgt sie über 40% (Assman & Schulte 1986). Circa 20% der deutschen Bevölkerung leidet an einem arteriellen Hypertonus. Im Vergleich zu normotonen Menschen ist bei einem

Blutdruck von über 160/95 mmHg das KHK-Risiko um bis zu dreifach, das Schlaganfall-Risiko siebenfach gesteigert (Hanefeld 1999). Das Risiko potenziert sich bei gleichzeitigem Vorkommen von Diabetes, Adipositas und Fettstoffwechselstörungen. Interventionelle Studien zeigten, dass bei einer Senkung des diastolischen Blutdruckes um nur 5 mmHg die Rate an Schlaganfällen um 40% und die der KHK um bis zu 17% zurückgehen (Collins *et al.* 1990).

Bei einem Typ II-Diabetiker ist die Inzidenz des Herzinfarktes dreifach höher, wenn zusätzlich eine arterielle Hypertonie und Hypertriglyzeridämie vorliegen. Samuelson *et al.* zeigten außerdem, dass die Inzidenz an kardiovaskulären Ereignissen durch das Korrigieren des Blutdruckes in normotone Bereiche, nur bei gleichzeitiger Cholesterinsenkung gesenkt werden kann (Samuelson *et al.* 1987). Auch spätere Studien konnten diesen Zusammenhang eindeutig bestätigen (Dahlof *et al.* 1991, Heart Protection Study Collaborative Group 2002, Almgren *et al.* 2005).

### **Nikotinabusus**

Die Framingham-Studie zeigte ein drei- bis fünffach erhöhtes Auftreten des plötzlichen Herztodes bei Rauchern die 20 Zigaretten pro Tag konsumieren. Durch das Zigarettenrauchen entstehen freie Radikale, die zur endothelialen Dysfunktion führen, was als bedeutender Schritt in der Atherogenese der Arterienwände angesehen wird (Ross & Glomset 1973, Ross & Glomset 1976a, Ross & Glomset 1976b, Ross 1986, Ross 1993, Ross 1999). Der Cholesterinspiegel im Plasma steigt mit zunehmender Anzahl täglich gerauchter Zigaretten an (Muscat *et al.* 1991). Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass das Rauchen über eine Aktivierung des Sympathikus zur Katecholaminausschüttung und damit zur Lipolyse und zum Anstieg von freien FS im Plasma führt. Eine Hyperlipoproteinämie und damit ein Anstieg des LDL im Serum, sowie eine erhöhte Lipid-Oxidation sind die Folgen. Hierzu passen Beobachtungen, die zeigen, dass bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern erhöhte Antikörper gegen oxidiertes LDL messbar sind (Salonen *et al.* 1992, 50). Es lässt sich vermuten, dass chronisches Rauchen durch die Erhöhung der zirkulierenden und gewebsschädigenden Anteile an oxidiertem LDL eine endotheliale Dysfunktion hervorruft und damit die Atherosklerose fördert.

## **Diabetes mellitus**

Diabetiker stellen eine Hochrisikogruppe in Bezug auf Inzidenz und Letalität der atherosklerotischen Gefäßerkrankungen dar (Van Gaal *et al.* 2006). Die meisten Typ II-Diabetiker haben schon bei der Diagnosestellung fortgeschrittene Gefäßveränderungen. Ist der Blutzucker permanent schlecht eingestellt, führen pathophysiologische Ereignisse zum Fortschreiten der Atherosklerose. Überschüssige Glukose besitzt die Eigenschaft, sich an Proteine zu binden. Dieses bezeichnet man als nicht-enzymatische Glykierung. Bevorzugt findet die Glykierung in langlebigen Strukturproteinen, wie zum Beispiel dem Kollagen oder den Apolipoproteinen statt. Bei der Glykierung von Apolipoproteinen ist meist das LDL betroffen. Glykiertes LDL kann nicht von LDL-Rezeptoren erkannt und gebunden werden. Dadurch kommt es nicht nur zur Akkumulation des modifizierten LDL, sondern auch zur erhöhten Oxidierbarkeit des Moleküls. Modifiziertes LDL stellt ein Immunstimulus für antikörperbildende Zellen dar, die verändertes LDL binden. Das herabgesetzte Erkennungs- und Bindungsvermögen am LDL-Rezeptor, die verstärkte Aufnahme in Monozyten, die erhöhte Oxidierbarkeit der glykierten LDL und die Bildung von potentiell atherogenen LDL-Immunkomplexen führen zum Fortschreiten der Atherogenese bei Diabetikern (Lyons 1993).

## **Alkohol**

Obwohl epidemiologische Beobachtungen noch nicht abschliessend beurteilt sind, scheint Alkoholkonsum lediglich in hoher Dosis ein Risikofaktor für die Atherosklerose zu sein, während bei geringem Alkoholkonsum eine Erhöhung des HDL-Cholesterins und eine Senkung der KHK-Inzidenz beobachtet wird (Li & Mukamal 2004). Bei einem regelmässigen Genuß von wenig Alkohol (unter 60 g pro Tag) scheint das Risiko an einer KHK zu versterben erniedrigt zu sein (Hennekens *et al.* 1978). Auch die Framingham-Studie zeigte, dass bei Alkoholgenuß von 25 g pro Tag die Gesamtmortalität zurückgeht. Bei höherem Konsum dagegen steigt die Gesamtmortalität, insbesondere die durch Schlaganfall und Krebs bedingte Mortalität an (Gordon & Kannel 1984, Emberson *et al.* 2005). Um statistische Confounder und Population Bias auszuschliessen, müssen weitere kontrollierte, randomisierte Studien initiiert werden. Nur dann ist eine abschliessende Aussage über Risiko und Schutz vor Atherosklerose durch regelmässigen Alkoholkonsum zu treffen (Bertelli 2007).

## **Östrogene**

Das Risiko von Frauen eine KHK zu entwickeln ist bei gleichen Cholesterinwerten geringer ausgeprägt als bei Männern (Fraser 1986, Kannel *et al.* 1983, Keys 1975). Diese epidemiologischen Beobachtungen deuteten darauf hin, dass Östrogene einen protektiven Effekt vor KHK vermitteln. Östrogene führen zu einer Erhöhung des HDL-Cholesterins und wirken durch diesen Mechanismus protektiv, so dass Frauen vor der Menopause durch ihren endogenen Östrogengehalt im Vergleich zu Männern relativ geschützt vor KHK sind (Colditz *et al.* 1987). Frühere retrospektive Studien zeigten lediglich, dass die Einnahme von Östrogenen in Form von Kontrazeptiva kein erhöhtes KHK-Risiko vermittelte (Stampfer *et al.* 1988). In einer grossen prospektiven Studie mit Frauen, die unter einer kombinierten Hormontherapie mit Östrogen plus Progesteron standen, traten vermehrt koronare Ereignisse, Apoplex, Lungenembolien und Mammakarzinome auf (Grady 2003).

## **Fibrinogen**

Fibrinogen (Faktor I) ist ein  $\beta$ 2-Globulin und wird bei der Blutgerinnung durch Thrombin und Calcium in Fibrin umgewandelt, das für die Bildung des sekundären Thrombus verantwortlich und Kofaktor der Thrombozytenaggregation ist. Fibrinogen ist an der Atheromatose der Gefässwände wesentlich beteiligt. Die Produktionsstätte des Fibrinogens ist das retikuloendotheliale System von Leber und Knochenmark. Im Rahmen von Akute-Phasen-Reaktionen, vorwiegend durch Stimulation von Interleukin 6, wird Fibrinogen vermehrt gebildet. Fibrinogen spielt im Gerinnungssystem eine entscheidende Rolle, denn hohe Spiegel können durch Aktivierung von Thrombozyten die Gerinnungsbereitschaft erhöhen, sowie die Proliferation und Migration von glatten Gefässmuskelzellen stimulieren. Erhöhte Fibrinogenspiegel ( $>300$  mg/dl) erwiesen sich in einigen prospektiven Studien als eigenständiger Risikofaktor für die Entstehung der Atherosklerose (Hanefeld 1999, Wilhelmssen *et al.* 1984, Kannel 1987). Fibrinogen erhöht die Blutviskosität, die wie die Leukozytenzahl als unabhängige RF der KHK angesehen wird (Yarnell *et al.* 1991). Nikotin führt zur gesteigerten Permeation von Fibrinogen durch die Arterienwand (Leschke & Strauer 1992). Schon die Northwick-Park-Heart-Study zeigte, dass Rauchen den Fibrinogenspiegel und damit das KHK-Risiko erhöht (Meade *et al.* 1986).

## **Homocystein**

Homocystein ist ein schwefelhaltiges Zwischenprodukt im Stoffwechsel der essentiellen Aminosäure Methionin. Methionin wird im Darm aufgenommen, zu S-Adenosylmethionin metabolisiert und anschliessend zu Adenosin und Homocystein hydrolysiert. Etwa die Hälfte des Homocysteins wird mit Serin irreversibel verbunden, ein anderer Teil wird zur Homeostase des Methioninspiegels remethyliert. Durch Einwirken von Enzymen, die Vitamin B6 enthalten, bildet sich aus an Serin gekoppelten Homocystein Cystein, welches schließlich in Schwefel und Wasser gespalten und über den Urin ausgeschieden wird.

Bereits früh beschrieb McCully einen Zusammenhang von erhöhten Konzentrationen an Homocystein und Atherosklerose (McCully 1969). Jedoch konnten erst Jahrzehnte später eindeutige Hinweise dafür erbracht werden, dass Homocysteinämie ein unabhängiger Risikofaktor für die Atherosklerose ist (McCully 1996, Welch & Loscalzo 1998). Homocystein verändert offenbar die antithrombotische Wirkung des Endothels durch Verstärkung der Aktivität von Faktor XII (Rattnoff 1969) und Faktor V (Rodgers & Kane 1986). Die Protein C Wirkung wird geschwächt und damit die Entwicklung von Thrombosen gefördert (Rodgers & Conn 1990).

Obwohl Hinweise dafür existieren, dass Homocystein seine negative Wirkung durch oxidative Schädigung der Gefäße entfaltet, ist der genaue Mechanismus jedoch noch unbekannt. Die verstärkte Bildung von oxygenierten Cholesterinen, eine erhöhte Lipid-Peroxidation und auch die ox-LDL-Entstehung wird dem Homocystein zugeschrieben (Heinecke *et al.* 1993).

## **Cholesterinstoffwechsel**

Cholesterin wird zum Aufbau von Zellmembranen, zur Bildung von Steroidhormonen und Gallensalzen benötigt und ist ein lebenswichtiger Bestandteil des menschlichen Organismus. Der grösste Teil Cholesterins wird endogen synthetisiert, ein kleinerer Teil dagegen mit der Nahrung aufgenommen (Brown & Goldstein 1986). Zwar ist jede Zelle zur Cholesterinsynthese fähig, jedoch ist der Hauptsyntheseort die Leber. Auch die Nebennieren und die Gonaden synthetisieren Cholesterin für die Produktion von Steroidhormon. Die endogene Produktion hängt von der Menge an Cholesterin ab, welche mit der Nahrung zugeführt wird. Die Cholesterinsynthese beginnt mit der Bildung von Mevalonat. Durch Kondensation von 3 Acetyl-CoA-Molekülen in 2 Schritten entsteht das  $\beta$ -Hydroxy- $\beta$ -

methylglutaryl-CoA (HMG-Co-A). Diese reversible Reaktion wird von HMG-Co-A-Synthase katalysiert. Anschließend wird das HMG-Co-A irreversibel durch die HMG-Co-A-Reduktase zu Mevalonat reduziert. Wichtige Schrittmacherenzyme der Cholesterinbiosynthese sind HMG-Co-A-Synthase und HMG-Co-A-Reduktase. Die Regulation der Cholesterinbiosynthese erfolgt durch das Cholesterin selbst. Ist ausreichend Cholesterin vorhanden so erfolgt eine negative Rückkopplung zum HMG-Co-A-Reduktase und die Cholesterinsynthese wird gedrosselt.

Die HMG-Co-A-Reduktase ist Angriffspunkt der pharmakologischen Therapie der Hypercholesterinämie durch Statine. Durch Aktivitätsänderung dieses Enzyms erfolgt die jeweilige Anpassung der Syntheseleistung an die Menge des mit der Nahrung zugeführten Cholesterins. Bei cholesterinreicher Ernährung wird die HMG-Co-A-Reduktase gehemmt, während bereits vorhandene Enzymmoleküle inaktiviert werden (Goldstein & Brown 1990). Bei cholesterinarmer Ernährung beträgt die täglich synthetisierte Cholesterinmenge beim Erwachsenen 800 mg. Die Eliminierung des Cholesterins erfolgt zum einen mit der Galle über die Leber, die über die Gallenwege Cholesterin und Gallensalze in den Stuhl abgibt und zum anderen als Gallensäuren über den Dünndarm, deren Hauptanteil dort über den enterohepatischen Weg rückresorbiert wird. Ein kleiner Teil (*circa* 0,4 g pro Tag) wird mit dem Stuhl ausgeschieden (Keller & Zöllner 1995).

## **Lipoproteine und Apolipoproteine**

Dem Körper stehen gespeicherte Energien in Form von Zucker und Fetten zur Verfügung. Der Speichervorrat für Fette ist allerdings weitaus höher als für Zucker. Im Gegensatz zum wasserlöslichen Zucker existiert für die Lipide im Blutplasma ein Transportsystem in Form von sogenannten Lipoproteinen. Es handelt sich hierbei um hochmolekulare, wasserlösliche Komplexe aus Lipiden (Cholesterin, Triglyzeride, Phospholipide) und spezifischen Proteinen, die Apoproteine genannt werden (Assman & Schulte 1992). Sie ermöglichen den gerichteten Transport lipophiler Stoffe in einem hydrophilen Milieu. Die Apolipoproteine sind als Strukturprotein in die Partikel integriert, die spezifische Bindung der Lipoproteine an Rezeptoren ermöglichen oder die Enzymaktivität beeinflussen. Die verschiedenen Lipoproteinklassen unterscheiden sich in ihrer Dichte, Grösse, Lipid- und Apolipoprotein-Zusammensetzung, dem Syntheseort, sowie ihrer Funktion und Bedeutung im Stoffwechsel (Tabelle 2a und 2b). Die Lipidzusammensetzung der



Lipoproteine ist von Mensch zu Mensch unterschiedlich. Hierauf nehmen die Ernährung, Funktionsaktivität am Fettstoffwechsel der beteiligten Enzyme, Rezeptoren und Liganden Einfluss (Beisiegel 1998).

### **Chylomikronen**

Chylomikronen werden in der Mukosa des Dünndarms aus den Nahrungslipiden synthetisiert. Nahrungslipide bestehen hauptsächlich aus Triglyzeriden, Cholesterin und Phospholipiden. Chylomikronen weisen eine sehr geringe Dichte ( $< 0,95$  g/ml) auf, sie sind reich an Triglyzeriden und haben einen geringen Proteinanteil ( $< 2\%$ ). Als Apolipoprotein enthalten sie Apo B-48, Apo A-IV und Apo C. Sie werden im Darmepithel gebildet und gelangen über den Ductus thoracicus in den Blutkreislauf und in das Muskel- und Fettgewebe. Hier werden sie an der endothelständigen Lipoproteinlipase (LPL) hydrolysiert. LPL ist in Auskleidungen der Blutgefäße im Muskel und Fettgeweben lokalisiert. Durch endothelständige LPL werden Triglyzeride zu freien FS und Glycerin hydrolysiert, wobei das Apo CII der Chylomikronen als Kofaktor benötigt wird (LaRosa *et al.* 1970). Fehlt die LPL oder das Apo CII können die Chylomikronen nicht abgebaut werden und es kommt zur Chylomikronämie. Freie FS können vom Muskel- und Fettgewebe zur Energiegewinnung genutzt, gespeichert oder in allen Zellen als Membranbausteine verwendet werden. Im Hungerzustand ist die Aktivität der LPL im Fettgewebe vermindert, da die Triglyzeride dann zur Energiegewinnung verwendet werden. Das LPL und die verbliebenen Reste an Chylomikronen, Chylomikronen-Remnants genannt, werden durch die Apo E vermittelte Bindung an sogenannte „LDL-receptor-related-proteins“ (LRP) endozytotisch in die Leberzellen aufgenommen (Beisiegel *et al.* 1991, Beisiegel 1995).

### **Very-low-density-Lipoproteine**

In der Leber werden aus Triglyzeriden (TG), Cholesterin und Apoproteinen (Apo C, Apo B-100, Apo E) Very-low-density-Lipoproteine (VLDL) synthetisiert. Bei dem VLDL handelt sich ebenfalls um Lipoproteine mit sehr geringer Dichte ( $0,95$ - $1,006$  g/ml). Im Unterschied zu den Chylomikronen bestehen VLDL nicht aus Nahrungslipiden, sondern aus TG, die in der Leber gebildet (endogener Weg), in die Blutbahn abgegeben werden und so ins Fettgewebe gelangen. Dort wird erneut LPL durch Apo CII aktiviert, und es kommt zur Freisetzung von FS aus TG der VLDL.

Die Fettzellen nehmen diese auf, synthetisieren wieder TG und speichern sie. Die VLDL stellen im Nüchternzustand die Versorgung der Zellen mit lipophilen Metaboliten sicher (Brown & Goldstein 1986).

### **Intermediate-density-Lipoproteine**

Die nach dem oben genannten Schritt verbliebenen cholesterinreichen VLDL Reste werden wegen ihrer höheren Dichte intermediate-density-Lipoproteine (IDL) genannt. Ein Teil der IDL wird durch die Bindung des Apo E an den LDL oder LRP in die Leber aufgenommen. Ein weiterer Teil von circa 50% wird durch Hydrolyse und Apoproteinabspaltung zu low-density-Lipoprotein (LDL) umgewandelt (Cox & García-Palmieri 1990).

### **Low-density-Lipoprotein**

low-density-Lipoprotein (LDL) enthält, im Vergleich zu den anderen Lipoproteinen, sehr viel Cholesterin in Form der Cholesterinester sowie das Apolipoprotein B-100 (ApoB-100). Über das ApoB-100 erfolgt die rezeptorenvermittelte Endozytose, worüber Cholesterinester in die Zellen des Zielgewebes aufgenommen wird (Brown & Goldstein 1986). Auf das LDL wird in einem gesonderten Kapitel eingegangen.

### **HDL**

HDL wird in der Leber in Form kleiner proteinreicher Partikel gebildet, die wenig Cholesterin und Cholesterinester enthalten. Da sie einen hohen Protein- und geringen Lipidgehalt besitzen, haben sie im Vergleich zu anderen Lipoproteinen eine hohe Dichte (1,063-1,210 g/ml). Der Durchmesser liegt bei 5-12 nm. Sie bestehen aus Phospholipiden, Cholesterinestern und freiem Cholesterin. Die assoziierten Apolipoproteine sind Apo A-I, Apo A-II, Apo C und Apo E. Aufgrund des unterschiedlichen Gehaltes an Apolipoproteinen sowie unterschiedlichem Lipidgehalt können mindestens drei HDL-Typen unterschieden werden, die als HDL-1, HDL-2 und HDL-3 bezeichnet werden (Löffler & Petrides 1998).

Beim Abbau der Chylomikronen entstehen im extrahepatischen Gewebe diskoidale HDL. Das in der Leber synthetisierte Enzym Lecithin-Cholesterol-Acyl-Transferase (LCAT) ist strukturell mit HDL assoziiert, befindet sich an der Oberfläche des HDL und katalysiert die Bildung von Cholesterinester aus Cholesterin und Phosphatidylcholin (Lund-Katz *et al.* 2003). Dadurch nimmt der Gehalt an

Cholesterinester zu und die HDL- Struktur nimmt nach Interaktion mit peripheren Zellen eine runde Form an. Danach wird das HDL in die Leber aufgenommen, welche als einziges Organ überschüssiges Cholesterin über Bindung an Gallensäuren beseitigen kann. Die Hauptfunktion des HDL ist der sogenannte „reverse cholesterol transport“, der rückführende Transport von extrahepatischem Cholesterin in die Leber. HDL-1 hat eine besondere Bedeutung auf Grund des hohen Apo E-Gehaltes, denn HDL-1 verdrängt im extrahepatischen Gewebe kompetitiv LDL vom LDL-Rezeptor. Damit wird die Aufnahme von LDL-Cholesterin in extrahepatische Gewebe vermindert. Die Plasma HDL-Konzentration bezieht sich auf den Cholesteringehalt und beträgt 15-20%.

<b>Klasse</b>	<b>Grösse (nm)</b>	<b>Dichte (g/ml)</b>	<b>Hauptkomponenten</b>	<b>Assoziiertes Apolipoprotein</b>
<b>Chylomikrone</b>	180-500	< 0,95	exogene TG	B48, A-IV, C
<b>VLDL</b>	30-80	0,95-1,006	endogene TG	B100, C, E
<b>IDL</b>	18-25	1,006-1,019	endogene TG, Cholesterinester	
<b>LDL</b>	22	1,019-1,063	Cholesterinester	B100
<b>HDL</b>	5-12	1,063-1,210	Cholesterinester	A-I, A-II, C, E

**Tabelle 2a** Hauptklassen und Charakteristika der Lipoproteine, modifiziert nach Brown MS & Goldstein JL. The pharmacological basis of therapeutics. Editors Gilman AG, Goodman LS, Ral TW, Murad F. 7.Auflage Macmillan, New York; 1985

<b>Klasse</b>	<b>Funktion</b>	<b>Herkunft</b>
<b>Chylomikronen</b>	Transport der Nahrungsfette	Dünndarm
<b>VLDL</b>	Transport der in der Leber synthetisierten Fette	Leber
<b>IDL</b>	Zwischenform im Rahmen des Transports der in der Leber synthetisierten Fette	VLDL-Abbau
<b>LDL</b>	Cholesterin-Lieferant an periphere Zellen und zurück zur Leber	IDL-Abbau
<b>HDL</b>	Cholesterintransport von peripheren Zellen zur Leber	Leber, Dünndarm

**Tabelle 2b.** Funktion und Herkunft der Lipoproteine, modifiziert nach Brown MS & Goldstein JL. The pharmacological basis of therapeutics. Editors Gilman AG, Goodman LS, Ral TW, Murad F. 7.Auflage Macmillan, New York; 1985

## **Lipoprotein(a)**

Das Vorkommen von Lipoprotein(a) [Lp(a)] wurde erstmals 1963 beschrieben (Berg 1963). Lp(a) hat eine Dichte von 1,05-1,12 g/ml und wird ebenfalls in der Leber synthetisiert (Berg 1963, Menzel *et al.* 1990, Scanu 1988, Steinmetz & Utermann 1992). Lp(a) setzt sich aus einem LDL-ähnlichem Molekül und dem für das Lp(a) charakteristischen Apolipoprotein Apo(a) zusammen. Beide sind über Disulfidbrücken miteinander verbunden (Marcovina & Morissett 1995). Der Kern des Lp(a) besteht aus Cholesterinester und Triglyzeriden und wird von einer Hülle aus Apo B100 umgeben. Die Physiologie und Funktion von Lp(a) ist bis heute noch nicht abschließend geklärt. Man weiß, daß über 90% des Lp(a)-Spiegel genetisch bedingt ist, was erklärt, dass die Lp(a)-Spiegel sich im Laufe des Lebens kaum verändern. Er lässt sich weder medikamentös noch diätetisch im Sinne einer klinisch relevanten Senkung des Risikos von Atherosklerose und Folgeerkrankungen beeinflussen (Kostner & März 1995). Das KHK Risiko bei erhöhtem Lp(a) wird mit 1,6 fach erhöht angegeben, ähnlich verhält sich das Risiko bei Rauchen (Boerwinkle *et al.* 1992).

Es konnte eine überzeugende positive Korrelation zwischen hohen Lp(a)-Spiegeln (über 30 mg/dl) und der Arteriosklerose gezeigt werden (Utermann 1989). Zahlreiche epidemiologische und biochemische Untersuchungen bekräftigen die Vermutung, dass zwischen erhöhten Lp(a)-Spiegeln und kardiovaskulären Ereignissen ein Zusammenhang besteht (Kostner *et al.* 1981, Wattowa *et al.* 1984, Beisiegel 1990, Danesh *et al.* 2000). So wird Lp(a) in der Literatur auch als unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung der Atherosklerose angesehen (Hanefeld 1999).

Die Atherogenität von Lp(a) wird damit begründet, dass das Lp(a) eine Ähnlichkeit mit LDL und Plasminogen aufweist und damit ein mögliches Bindeglied zwischen Atherosklerose und Thrombose darstellt (Brown & Goldstein 1987, Koschinsky *et al.* 1990). Pathophysiologisch erklärt wird dies damit, dass Lp(a) um die Plasminogenbindungsstellen konkurriert und somit die zelluläre Plasminogenbindung reduziert. Auf diese Weise wird die endotheliale Zellfibrinolyse unterdrückt und ein Vorstadium der Koagulation produziert (Kostner 1992). In vitro Studien zeigten dann auch einen direkten atherogenen Effekt von Lp(a), der jedoch in vivo bisher nicht bestätigt worden ist.

## **ApoE**

Das Apolipoprotein E (ApoE) ist ein 34 kDa großes, Arginin-reiches Protein bestehend aus 299 Aminosäuren. ApoE wird hauptsächlich in der Leber, aber auch zu 20-40% in extrahepatischem Gewebe, vor allem Gehirn und Makrophagen, synthetisiert (Basu *et al.* 1981 und 1983, Kayden *et al.* 1985, Williams *et al.* 1985). Das Apo E spielt eine wichtige Rolle für die Variabilität des Serumcholesterins und die phänotypische Expression einer Hyperlipidämie (Utermann 1989).

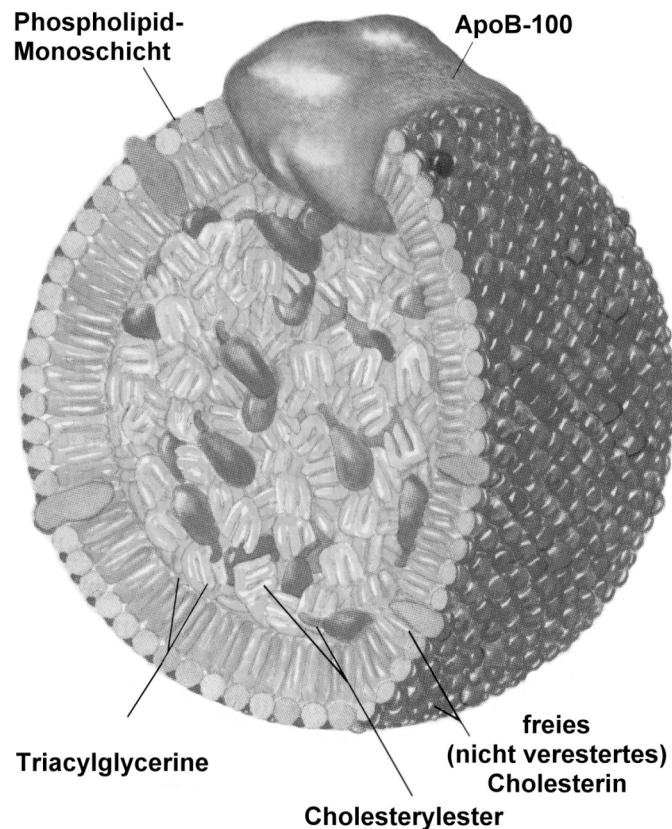
Das ApoE kodierende Gen zählt zu den am besten untersuchten menschlichen Genomabschnitten, mit tausenden von PubMed Referenzen und über fünfzig beschriebenen Single-Nucleotid-Polymorphismen (SNPs). SNPs, die zu den Protein Isoformen ApoE2, ApoE3 und ApoE4 führen, sind hier von bedeutendem Interesse. Der ApoE4 Genotyp ist bei etwa ungefähr 25% der kaukasischen Bevölkerung vorzufinden. Neben einem deutlich erhöhten Risiko eine Alzheimer Erkrankung zu entwickeln, wurde in einer Meta-Analyse aus dem Jahr 2004 ein 40-50% höheres Risiko an kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden für die Träger dieses Genotypes gesehen (Song *et al.* 2004). Traditionell sah man den Grund für ein erhöhtes Risiko in den erhöhten Cholesterin- und Triglyzerid-Spiegeln bei ApoE4 Trägern, jedoch geht man zunehmend davon aus, dass weitere biologische Mechanismen verantwortlich zu machen sind, vor allem beschriebene Genotyp-abhängige antioxidative und entzündungsmodulierende Eigenschaften.

## **LDL und Atherogenese**

Cholesterin ist ein wesentlicher Bestandteil von Plasmamembranen und relevant für die Synthese von Steroidhormonen. Der Hauptanteil des in der Leber synthetisierten Gesamtcholesterins (bis zu 70%) gelangt mit dem im Blut transportierten LDL zu den peripheren Zellen. LDL hat eine Dichte von 1,019-1,063 g/dl, einen Durchmesser von *circa* 22 nm und enthält als Apolipoprotein hauptsächlich Apo B100. Nur in geringen Mengen sind Apo C und E vorhanden (Goldstein & Brown 1979). Apo B-100, ein Protein von 4536 Aminosäuren und einem Molekulargewicht von 500 kD hat insgesamt eine positive Ladung, die durch die positiven Ladungen der Seitengruppen Lysin, Arginin und Histidin bedingt ist. Ein Verlust positiver Ladungen hat eine Änderung des Verhältnisses der Gesamtladung des Proteinmoleküls zur Folge, welcher eine Oxidationsempfänglichkeit des Moleküls

steigert. Darauf wird im Abschnitt Oxidativer Stress und Oxidation des LDL näher eingegangen. Natives LDL besteht aus sphärischen Partikeln mit einer Masse von  $3\text{--}4 \times 10^6$  (**Abbildung 3**).

**Abbildung 3.** Struktur des LDL (Nelson, Lehninger, Cox 2001)



Es trägt bis zu 170 Moleküle TG und 1600 Cholesterinester, die mit je einer langkettigen Fettsäure verestert sind. Zusammen bilden sie den Kern des LDL-Partikels. Der Kern ist von ca. 700 Phospholipiden (Sphingomyelin, Lysophosphatidylcholin) und ca. 600 freien Cholesterinmolekülen umgeben (Esterbauer & Ramos 1995). Circa die Hälfte der FS des LDL ist ungesättigt, jedoch kann der Anteil der ungesättigten FS variieren.

Neben der LDL-Synthese hat die Leber eine zentrale Rolle im Stoffwechsel des LDL. Sie reguliert über bedarfsgerechte Expression von LDL-Rezeptoren den LDL-Abbau. Bei hohem Angebot an Nahrungslipiden verringert sich die LDL-Rezeptoren-Dichte. LDL wird zu 70% wieder von der Leber über Apo B-100 und Apo E oder LDL-Rezeptor vermittelt aufgenommen. Diese Proteine binden die LDL-

Partikel und schleusen sie endozytotisch in das Zellinnere ein, wo sie von Lysosomen abgebaut werden. Die LDL-Rezeptoren lösen sich vor dem Abbau des LDL aus dem lysosomalen Komplex und gelangen wieder zurück an die Zellmembran, um erneut für die Bindung von LDL zur Verfügung zu stehen. LDL-Rezeptoren können diesen zwölfminütigen Vorgang bis zu hundertmal wiederholen. In den Lysosomen wird der Proteinanteil des LDL hydrolysiert und das aufgenommene Cholesterinester durch lysosomale saure Lipasen in FS und Cholesterin gespalten. Das freie Cholesterin kann nun zur Synthese von Steroidhormonen, Gallensäuren oder für die Membransynthese verwendet werden. Nicht benötigtes Cholesterin kann wieder verestert und gespeichert werden. Da hohe Cholesterinspiegel im Serum die Bildung von atherosklerotischer Plaques fördern, damit eine KHK begünstigen und zum Herztod führen können sind Kontrollmechanismen zur Aufrechterhaltung eines Gleichgewichtes im Cholesterinmetabolismus im menschlichen Körper von lebenswichtiger Bedeutung. Eines der wichtigsten Kontrollmechanismen ist, dass freies Cholesterin innerhalb der Zelle durch die Aktivität und Menge der HMG-CoA-Reduktase, das Enzyms der Schrittmacherreaktion in der Cholesterinbiosynthese, die Cholesterinbiosynthese verringert. Darüberhinaus werden bei Cholesterinüberschuss über einen negativen Rückkopplungs-mechanismus keine weiteren LDL-Rezeptoren von der Zelle gebildet und die LDL-Aufnahme in die Zelle gestoppt (Brown & Goldstein 1986). Monozytäre Makrophagen verfügen über ein weiteres System zur Aufnahme für LDL. Über eine Gruppe von Multiligandenrezeptoren, die als sogenannte Scavenger-Rezeptoren bezeichnet werden, nehmen Makrophagen LDL (unabhängig vom LDL-Rezeptor) und andere Lipoproteine auf. Scavenger-Rezeptoren wurden erstmals 1979 beschrieben (Goldstein & Brown 1979). Als Scavenger pathway wurde der Vorgang bezeichnet, der signifikante Mengen zirkulierenden LDLs auf oben genannte Weise abbaut (Kostner & März 1995). Scavenger-Rezeptoren sind auf endothelialen Zellen, auf Lymphozyten und Zellen des Retikulo-Histozyten-Systems, wie zum Beispiel auf Makrophagen und Kupferschen Sternzellen, sowie auf Muskelzellen und Fibroblasten zu finden (Berliner & Haberland 1993). Im Unterschied zur Verstoffwechslung des LDL über LDL-Rezeptoren ist dieser Katabolismus nicht sättigbar, was bedeutet, dass die LDL-Clearance über den Scavenger pathway linear zur LDL-Konzentration ansteigt, und damit die ungesättigte Aufnahme zur Akkumulation von Lipiden im Zellinneren führt. Dabei

erkennen Scavenger-Rezeptoren verschieden modifiziertes LDL, wie acetyliertes LDL, oxidiertes LDL (ox-LDL) und Malondialdehyd-konjugiertes LDL (MDA-LDL) als Liganden.

Durch Anreicherung von Lipiden im Zytoplasma erhalten die Makrophagen ein "schaumiges" Aussehen und werden daher Schaumzellen genannt (Steinmetz & Utermann 1988, Steinberg & Witzum 1999). Eben diese Bildung von Schaumzellen wird als wichtiger Faktor in der Atherogenese angesehen (Goldstein *et al.* 1979, Goldstein & Brown 1977).

### **Oxidativer Stress**

Sauerstoff ist direkt oder indirekt für alle Formen des Lebens notwendig und besitzt ein grosses Oxidationspotential (Hayashi 1974). Durch diese Eigenschaft kann dem Organismus eine große Menge an Energie zugeführt werden, jedoch können Reduktionsprodukte auch gefährlich für das physiologische Milieu werden. Aus diesem Grund besitzen alle lebenden Organismen zum einen Enzyme, die den Gehalt an solchen Produkten senken, zum anderen erzeugen sie selbst eine Vielzahl an Antioxidantien oder nehmen diese von der Umgebung auf (Ingaram & Meyer 1985, Davies 1995). In allen lebenden Organismen besteht somit ein Gleichgewicht an pro- und antioxidativen Vorgängen. Eine Störung dieser Balance in Richtung der oxidativen Ereignisse bezeichnet man als oxidativen Stress (Sies 1985).

Die Lipidperoxidation (LPO) bezeichnet die Veränderung von Lipiden durch oxidativen Stress. Die Lipidperoxidation wird von freien Radikalen initiiert. Der Angriffspunkt der freien Radikale, sind die mehrfach ungesättigten FS (PUFA), der Bestandteil der Phospholipide und des Cholesterinesters. Im LDL ist ungefähr die Hälfte der FS ungesättigt. Die PUFA sind durch ihre konjugierte Doppelbindung für eine radikalinduzierte Oxidation anfällig. Durch Einwirken eines Sauerstoffradikals auf die PUFA entsteht nach Wasserstoffabspaltung und Umlagerung der Doppelbindung in mehreren Schritten ein FS-Radikal. Dieses löst eine Kettenreaktion aus, wobei mehrere Radikale entstehen. Die Folge ist, dass die Lipide sich stark in ihrer Struktur, ihrer elektronischen Ladung und damit in ihrer Labilität verändern und teilweise selbst in toxische Produkte zerfallen. Die Kettenreaktion kann durch Radikalfänger-moleküle oder auch durch Reaktionen der Radikale untereinander gestoppt werden.



Die wichtigsten Vertreter der PUFA in Säugetieren und Menschen sind Linolsäure, Linolensäure und Arachidonsäure. PUFA liegen entweder in freier Form oder gebunden in Lipiden als TG, Phospholipiden oder Cholesterinestern vor.

## **Oxidation des LDL**

Die Mechanismen der LDL-Oxidation und ihre pathophysiologischen Effekte auf die Funktion von Zellen sind im Detail noch nicht abschließend geklärt. Mit Hilfe von *in vitro*, und *in vivo* Arbeiten, wird der Zusammenhang der Lipidperoxidation und der Atherosklerose-Entwicklung geprüft.

Durch Oxidation können Lipid- und Proteinkomponenten der LDL-Moleküle beeinträchtigt werden. Bei hohen Konzentrationen zirkuliert LDL über einen verlängerten Zeitraum im Plasma, hat dabei stetigen Kontakt zu den Blutgefäßen, passiert das Kapillarendothel und wandert in die arterielle Intima. Da das Plasma über effektive antioxidative Schutzmechanismen verfügt, findet die LDL-Oxidation nach dem Verbrauch vorhandener Antioxidantien hauptsächlich in der Intima statt (Esterbauer *et al.* 1992). Der Grund hierfür könnte auch das Milieu sein, in der die Antioxidantien ihre Schutzfunktion nicht erfüllen können (Navab *et al.* 1991). Oxidativ modifiziertes LDL weist eine Vielzahl biologischer und chemischer Eigenschaften mit zytotoxischer Wirkung auf Endothelzellen auf (Henriksen *et al.* 1979, Hessler *et al.* 1994). Diese führen zur Schädigung der Endothelschicht und initiieren die Atherogenese (Ross & Glomset 1976a, Cathcart *et al.* 1989).

Wie bereits oben erwähnt sind die mehrfach ungesättigten FS im LDL-Partikel besonders anfällig für Radikal-induzierte Oxidation, da biochemisch durch die Doppelbindung eine Schwächung der C-H Bindung vorliegt. Freie Radikale können die ungesättigten FS-Seitenketten beschädigen und die dabei entstehenden Produkte können zu einer Fragmentation und Aggregation der Apolipoproteine führen (Ylä-Herttuala 1994). Diese Veränderung der LDL-Struktur kann den weiteren Metabolismus negativ beeinflussen. Die klassischen LDL-Rezeptoren können das modifizierte Apolipoprotein nicht erkennen und das veränderte LDL wird dann an Scavenger-Rezeptoren der Makrophagen gebunden, die in Schaumzellen umgeformt werden (Stary *et al.* 1994, Schwarz *et al.* 1993, Lyons 1993). In atherosklerotischen Läsionen findet sich vermehrt modifiziertes, nicht jedoch natives LDL (Ylä-Herttuala *et al.* 1989, Tsimikas & Witztum 2001), woraus geschlossen werden kann, dass LDL offenbar zunächst oxidiert werden muss, um die Gefäße zu

schädigen (Witztum & Steinberg 1991). Das im Folgenden dargestellte Modell zur Lipoproteinoxidation und Oxidation des LDL erfolgt in zwei Schritten (Ylä-Herttuala 1994): I. **Lipidperoxidation** (Halliwell & Gutteridge 1989) und II. **Apo B-100-Modifikation** (Witztum & Steinberg 1991).

## I. Lipidperoxidation

Die Lipidperoxidation besteht aus 4 Phasen und beginnt damit, dass durch die Einwirkung eines freien Radikals (R) ein H-Atom aus einer mehrfach ungesättigten FS (LH) abgespalten wird (**Initiation**). Die FS wird dabei selbst zum Radikal und reagiert in der **Propagationsphase** mit einem Sauerstoffmolekül zum Peroxylradikal (LOO•). Nun können in einer Kettenreaktion aus anderen FS ebenfalls Wasserstoffradikale abgespalten werden, wobei ein Hydroperoxid (LOOH) und ein FS-Radikal (L•) entstehen. Das LOOH kann zelluläre Strukturen zerstören. In der **Dekompositionsphase** entsteht unter Metallkatalyse ein hochreaktives Hydroxylradikal (OH•) und ein Alkoxyradikal (LO•). Zum Abbruch (**Termination**) der Ketten-Reaktion kommt es durch Radikalverbindungen untereinander oder durch Reaktion mit Radikalfängern zum Beispiel Antioxidantien (Halliwell & Gutteridge 1989).

### Die vier Phasen der Lipidperoxidation modifiziert nach Halliwell & Gutteridge

Phase 1	Initiation	$LH + R^{\bullet} \rightarrow L^{\bullet} + RH$
Phase 2	Propagationsphase	$L^{\bullet} + O_2 \rightarrow LOO^{\bullet}$ $LOO^{\bullet} + LH \rightarrow LOOH + L$
Phase 3	Decompositionsphase	$LOOH + Fe^{2+} (Cu^+) \rightarrow$ $Fe^{3+} (Cu^{2+}) + LO^{\bullet} + OH^{\bullet}$
Phase 4	Termination	$LOO^{\bullet} / LO^{\bullet} / L^{\bullet} + LOO^{\bullet} / LO^{\bullet} / L^{\bullet}$ $\rightarrow \text{nichtradikale Produkte} + O_2$

---

LH=mehrfachungesättigte FS, L•=Kohlenstoffhaltige Radikale, R•= freies Radikal,  
LO•=Alkoxyradikal, LOO•=Peroxylradikal, LOOH=Lipidhydroperoxide

## II. Apo B-100-Modifikation

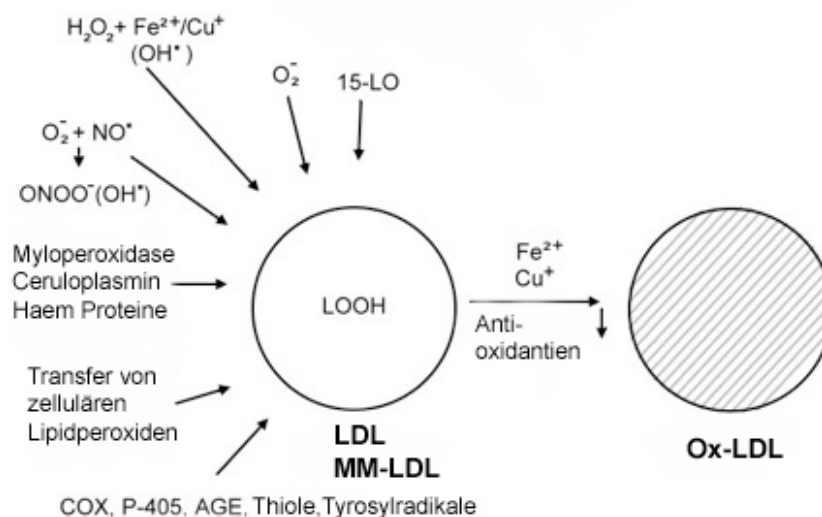
Apo B-100, der Proteinanteil des LDL, zerfällt im Verlauf, und die Restprodukte gehen kovalente Bindungen an dem Lysin-Rest des LDL mit den Aldehyden und

Ketonen ein, die zuvor bei der Lipidperoxidation entstanden sind (Witztum & Steinberg 1991, Esterbauer *et al.* 1992). Ein wichtiger Schritt ist die Anreicherung des LOOH im LDL-Molekül. Nach Verbrauch von Antioxidantien kommt es in Anwesenheit von Transitionsmetallen ( $\text{Fe}^{2+}$ ,  $\text{Cu}^{+}$ ) zum Zerfall des LOOH und Bildung von Malondialdehyd (MDA), 4-Hydroxynonenal (4-HNE) und anderen Produkten, die die weitere ApoB-100-Modifikation begünstigen. Durch Bindung dieser Abbauprodukte an das Apo B-100 wird dieses Protein soweit verändert, dass es seine positive Ladung verliert (Steinbrecher *et al.* 1987) und gegen diese veränderte Epitope spezifische Antikörper gebildet wird. Schreitet die Veränderung des LDL fort, so kann es von den klassischen LDL-Rezeptoren nicht erkannt werden. Sie werden von Makrophagen über Scavenger Rezeptoren metabolisiert und entziehen sich der Regulierung durch den Cholesterinspiegel (Steinberg *et al.* 1989). Es kommt zur Akkumulation der oxidierten Lipoproteine und zur Bildung von Schaumzellen. Aldehyd-Protein-Bindungen die aus der Apo B-Modifikation hervorgehen sind immunogen, weswegen der Organismus Antikörper gegen oxidiertes LDL bildet. Die Lipidperoxidation kann von verschiedenen Antioxidantien aufgehalten werden. Zu den wichtigsten Antioxidantien des LDL gehören das  $\alpha$ -Tocopherol und Ubiquinol-10. Der Oxidationswiderstand wird hauptsächlich durch den Antioxidantiengehalt bestimmt (Jessup *et al.* 1990), jedoch kann allein aus dem Antioxidantiengehalt keine Voraussage über den Oxidationswiderstand gemacht werden (Babiy *et al.* 1990). Die LDL Größe und Komposition der FS scheinen ebenfalls einen Einfluss zu haben. Es konnte gezeigt werden, dass kleinere LDL-Partikel empfänglicher für eine Oxidation sind als größere, und eine Oxidation des LDL-Moleküls erschwert ist, wenn vermehrt einfach ungesättigte FS anstatt mehrfach ungesättigte FS vorhanden sind (De Graf *et al.* 1991, Reaven *et al.* 1993). Auch Raucher neigen vermehrt zur Oxidation von LDL als Nichtraucher. Denn sie haben einen deutlich erhöhten Gehalt an freien Radikalen und damit ein gesteigertes Oxidationsrisiko, welches einen vermehrten Verbrauch von Antioxidantien nach sich zieht (Halliwell & Gutteridge 1989).

Der Grad der Lipid-Peroxidation ist nicht einheitlich. So kann LDL auch nur teilweise oxidiert werden, wobei Zwischenstufen entstehen, die minimal oxidiertes LDL (MM-LDL) produzieren. Diese Zwischenstufen sollen entzündungsfördernde Zytokine und prothrombotische Faktoren produzieren, aber nicht die Akkumulation von Lipiden in den arteriellen Gefäßen fördern (Daugherty *et al.* 1995). Diese

Eigenschaft besitzt nur komplett oxidiertes LDL über Scavenger-Rezeptoren (Ylä-Herttuala 1998). Zytotoxisches ox-LDL hat auch chemotaktische Wirkung auf Monozyten im Blut, kann den endothelial cell-derived relaxing factor inaktivieren (Kugiyama *et al.* 1990), dessen Transkriptionsaktivität beeinflussen und damit dessen Genexpression erhöhen (Nagy *et al.* 1998). Bei diesem Vorgang werden Proteine gebildet, die zur Entzündungsreaktion führen und die Bildung von Schaumzellen initiieren. Weitere Genaktivierungen können schließlich zu einer Kalzifizierung der Gefäßwände führen. In Teilen von Gefäßabschnitten sind die Gefäßwände soweit verändert, dass Plaques leicht rupturieren und Monozyten verstärkt einwandern können, was Thrombosen zur Folge hat (Berliner *et al.* 1995). Folgende Substanzen wie Lipoxygenasen, Superoxidanion  $O_2^-$ , Hydroxylradikal  $OH$ , Peroxynitrite  $ONOO^-$ , Haemprotein, Ceruloplasmin, Myeloperoxidase und weitere sind an der LDL-Oxidation beteiligt (Sparrow *et al.* 1988, Parthasaraty *et al.* 1989, Belkner *et al.* 1993, Heinecke *et al.* 1986, Halliwell & Gutteridge 1989, Beckman *et al.* 1990, Darley-Usmar *et al.* 1992, Steinmetz & Utermann 1988, Eisenberg 1984, Berg 1963, Menzel *et al.* 1990).

**Abbildung 4.** Schematische Darstellung der wichtigen prooxidativen Mechanismen der LDL-Oxidation modifiziert nach Ylä-Herttuala 1994



Mehrere Mechanismen führen zur Bildung von Hydroperoxiden innerhalb des LDL. In der Anwesenheit von Übergangsmetallen und nach Depletion von LDL Antioxidantien entsteht vollständig oxidiertes Ox-LDL.

Im Folgenden sind einige Charakteristika von oxidiertem LDL nach Esterbauer *et al.* 1992 dargestellt (im Unterschied zu nativem LDL):

Zu den chemisch/physiochemischen Eigenschaften von Ox-LDL gehört

- ein extremer Verlust von Antioxidantien,
- eine Verminderung der PUFA, Phosphatidylcholine und Cholesterinester (Spiteller 2005)
- ein partieller Verlust von freien Aminogruppen des Apo B-100,
- eine Fragmentierung des Apo B-100 in kleinere Peptide,
- Erkennung von Apo B-100 MDA- und HNE-Epitopen durch spezifische Antikörper,
- eine steigende elektrophoretische Mobilität und Dichte,
- sowie eine erhöhte Tendenz zur Aggregation.

Zu den biologischen Charakteristika von Ox-LDL gehören

- eine erhöhte Aufnahme durch Makrophagen,
- die Zytotoxizität auf viele Zellen (Sparrow *et al.* 1988, Cathcart *et al.* 1989, Morrel & Chisolm 1989, Chisolm & Morell 1988, Kuzuya *et al.* 1991, Kosugi *et al.* 1987),
- chemotaktische Wirkung auf Monozyten und glatte Muskelzellen (Autio *et al.* 1998),
- Hemmung der Vasomotorik der Arterienwand durch Inhibition der Stickstoffmonoxid (NO) Produktion (Jessup 1996),
- Behinderung des reversen Cholesterintransport durch verminderte Abgabe von Membrancholesterin an HDL (Kritharides *et al.* 1995).

In den letzten Jahren ist immer deutlicher geworden, dass es sich bei der Für jedes der in **Tabelle 3** aufgelisteten sequenziellen Ereignisse in der Entstehung der Atherosklerose gibt es einen Mechanismus, an dem oxidiertes oder minimal verändertes LDL beteiligt sein könnte.

<b>Atherosklerotische Ereignisse in sequenzieller Reihenfolge</b>	<b>Mögliche Beteiligung von minimal- und komplett oxidiertem LDL</b>
Monozytenadhäsion	VCAM-1-Expression, induziert durch Lysophospholipide des oxidiertem LDL
Monozytenrekrutierung	Minimal oxidiertes LDL stimuliert die Bildung von MCP-1.
Transdifferenzierung zu Makrophagen	Minimal oxidiertes LDL stimuliert MCSF
Expression von Scavenger Rezeptoren	Oxidiertes LDL stimuliert die Expression von Scavenger Rezeptoren.
Schaumzellenbildung	Oxidiertes LDL wird über Scavenger Rezeptoren aufgenommen.
Zelltod	Oxidiertes LDL ist zytotoxisch.
Thrombusbildung	Minimal oxidiertes LDL stimuliert die Expression von Tissue-Factor.

**Tabelle 3.** Atherogene Wirkungen von oxidiertem LDL und typische Ereignisse in der Entstehung von atherosklerotischen Plaques (nach Daugherty & Roselaar 1995). (VCAM-1: Vascular-Cell-Adhesion-Molecule; MCP-1: Monocyte-Chemotactic-Protein-1; MCSF: Monocyte-Colony-Stimulating-Factor)

### **Immunantwort und Antikörper gegen verändertes LDL**

In den letzten Jahren ist immer deutlicher geworden, dass es sich bei der Atherosklerose auch um eine inflammatorische Erkrankung handelt, bei der die Ausprägung der Entzündungsreaktion durch die Immunantwort mit beeinflusst wird (Hansson & Libby 2006). Entzündungsmarker wie das C-reaktive Protein korrelieren mit dem Auftreten und dem klinischen Verlauf der KHK (Liuzzo *et al.* 1994, Ridger *et al.* 2000, Danesh *et al.* 2004). Immunmodulatorische Effekte von Medikamenten, zum Beispiel die sogenannte pleiotrope Wirkungen der Statine, werden mit einer positiven Beeinflussung des Krankheitsverlaufs von atherosklerotischen Folgeerkrankungen in Verbindung gebracht (Ridger *et al.* 2005, Greenwood & Mason 2007, Lahera *et al.* 2007).

Wie bereits erwähnt fanden Witztum und Steinberg Hinweise darauf, dass natives LDL per se keine atherosklerotischen Effekte an den Gefäßwänden erzeugen, während oxidiertes LDL schädigende Effekte und damit atherosklerotisches Potential zeigte (Witztum & Steinberg 1991). Die Oxidation von LDL führt zu einer Reaktion des Immunsystems mit konsekutiver Produktion spezifischer Antikörper gegen oxidativ modifizierte Epitope des LDL (Palinski *et al.* 1989). In atherosklerotischen Gefäßläsionen werden Immunglobuline (IgG) nachgewiesen, die spezifisch ox-LDL binden (Ylä-Hertualla 1994). Diese Beobachtung führte zu der Hypothese, dass Antikörper gegen oxidiertes LDL einen prädiktiven Wert für die Entstehung und den Verlauf der Atherosklerose haben könnten. Daraus würden sich viele therapeutische Ansätze ergeben, z.B. eine prophylaktische antioxidative Behandlung bei Menschen mit positiver Familienanamnese für atherosklerotische Erkrankungen.

Dass eine antioxidative Behandlung die Atherosklerose vermindern kann, konnte im Tierexperiment gezeigt werden (Steinberg *et al.* 1997, Landmesser & Harrison 2001).

Oxidiertes LDL kann im Blut nicht einfach gemessen werden. Es gibt mittlerweile Verfahren die dieses möglich machen. Eine bessere Möglichkeit ox-LDL im Organismus zu erfassen ist daher, zum Zeitpunkt dieser Arbeit, die Bestimmung der Menge von Antikörpern gegen ox-LDL (Wu & Wu 1997). Ob Antikörper gegen oxidiertes LDL (Ox-LDL-Ak) eine prognostische Aussage über das Risiko einer Atherosklerose zulassen, wird in Studien unterschiedlich beurteilt. Die bisherigen Ergebnisse sind insgesamt widersprüchlich.

## **Ziel der vorliegenden Arbeit**

Atherosklerose ist eine pathophysiologisch relevante Veränderung der arteriellen Gefässwände. Sie bleibt lange Zeit symptomfrei und führt im Verlauf jedoch zu vaskulärer Erkrankung, unter anderem zur KHK und zum Myokardinfarkt.

Es ist eine Vielzahl von Risikofaktoren bekannt, die zur frühzeitigen Atherosklerose führen. Übergewicht, Bluthochdruck, Rauchen und erhöhte Blutfettwerte sind Faktoren, die Atherosklerose begünstigen. Bei den Blutfetten ist das LDL, im speziellen das oxidierte LDL in der Pathogenese der Atherosklerose entscheidend.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit war zu prüfen, ob Antikörper gegen oxidiertes LDL (Ox-LDL-Ak) als diagnostischer Marker für das Ausmass der Atherosklerose dienen können (als primäre Endpunkte wurden KHK, Re-Stenose nach PTCA, In-Stent-Re-Stenose sowie Bypassstenose angesehen).

Dazu wurde zunächst ein Kollektiv von 280 Patienten, die mit typischen Beschwerden für eine KHK zur Koronarangiographie kamen, erfasst und anschliessend in Hinsicht auf ihr Risikoprofil für atherosklerotische Gefässveränderungen charakterisiert. Neben anderen routinemässig bestimmten Blutparametern wurde dann mittels ELISA-Methode die Konzentration der ox-LDL-Ak bestimmt und zu den anderen erhobenen Parametern, sowie zu einer klinisch gesunden Kontrollgruppe in Beziehung gesetzt.

Um eventuelle aktuelle Einflussgrössen (strengere Diät, regelmässige Medikamenteneinnahme, Stress vor Koronarangiographie) auf den Cholesterinspiegel zu reduzieren oder sogar auszuschalten wurde bei 59 Patienten eine Kontrolluntersuchung der Lipidparameter durchgeführt, dabei erfassten wir oder der betreuende Hausarzt, mindestens das Gesamt- und LDL-Cholesterin.



## **2. Material und Methoden**

### **Auswahl des Patientenkollektives**

Die Studie wurde in den Jahren 1997 und 1998 an der Universitätsklinik Hamburg-Eppendorf durchgeführt. Insgesamt wurden 280 Patienten, die zur Koronarangiographie oder perkutanen transluminalen Koronarangioplastie in die Abteilung für Kardiologie der Medizinischen Klinik kamen, rekrutiert. Nach einer ausführlichen Aufklärung über den Sinn und Zweck der Untersuchungen und anschließender freiwilligen Einwilligung zur Teilnahme, wurde den Patienten Blut abgenommen. Von den initial 280 rekrutierten Patienten konnten 258 nach der Koronarangiographie in die Studie eingeschlossen werden, da bei den verbliebenen 22 Patienten eine Anamneseerhebung auf der jeweiligen Station nicht möglich war, da diese aus verschiedenen Gründen „lost to follow-up“ waren. Die Auswertung der Daten erfolgte nach Erfassung von klinischen und laborchemischen Parametern.

Im Rahmen der spezifischen Anamneseerhebung wurden folgende Risikofaktoren berücksichtigt:

1. Familienanamnese:
  - gab es familiäre kardiovaskuläre Risikofaktoren oder Todesfälle?
2. Spezielle kardiovaskuläre Anamnese bzw. Aktenausarbeitung:
  - wie hoch ist das Ausmaß der Erkrankung (1-, 2-, oder 3-Gefässerkrankung),
  - Erkrankungsdauer,
  - Art der Symptomatik (Angina pectoris, stabile oder instabile KHK),
  - bei Infarkt, Infarkthäufigkeit und Zeitpunkt der Ereignisse,
  - an Untersuchungsbefunden: EKG, Echokardiographie, Angiographie,
  - bei peripherer arterieller Verschlusskrankheit (PAVK) das jeweilige Stadium,
  - oder ob eine manifeste zerebrovaskuläre Erkrankung vorlag.
3. Fettstoffwechselstörungen:
  - welcher Art ist die Störung zuzuordnen?
  - seit wann ist diese Störung bekannt?
  - wie hoch sind die gemessenen Lipid-Werte?
  - werden Lipid-senkende Medikamente (Statine) eingenommen?
  - wenn ja, seit wann und in welcher Dosierung?

4. Rauchen:
  - wie lange und wie viele Zigaretten werden geraucht?
  - falls das Rauchen aufgegeben wurde, seit wann besteht Exfumatorium?
5. Hochdruck:
  - wie lange ist ein Hypertonus bekannt?
  - wie hoch sind die gemessenen Werte? (inklusive Mittelwert, Maximum)
  - erfolgt eine Selbstmessung?
  - werden blutdrucksenkende Medikamente eingenommen?
6. Diabetes mellitus:
  - seit wann ist dieser bekannt?
  - welcher Typ liegt vor?
  - werden blutzuckersenkende Medikamente eingenommen?
  - wie ist die Einstellung der Blutzuckerwerte?
7. Medikamentenanamnese:
  - welche weiteren Medikamente werden eingenommen (Statine)?
  - erfolgte eine Selbstmedikation?

Für die laborchemischen Untersuchungen wurden im Serum, Plasma bzw. Vollblut folgende Werte erhoben:

1. Fettstoffwechsel:
  - Gesamt-, LDL-, HDL-, VLDL-Cholesterin
  - Triglyzeride (TG)
  - Lp(a)
  - Apo B, Apo AI, Apo E
2. Gerinnung:
  - Fibrinogen, Quick, PTT, ATIII, Plasminogen
3. Großes Blutbild
4. Leber- und Nierenfunktion:
  - GOT, GPT,  $\gamma$ -GT, Bilirubin
  - Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure
5. Zuckerstoffwechsel:
  - Nüchtern-BZ, Insulin, C-Peptid, HbA1C

6. Entzündungsparameter und Infekte:
  - CRP, Blutbild
7. Gesamt-CK eventuell mit CK-MB Bestimmung
8. Homocystein
9. Antikörper gegen oxidiertes LDL

Der individuelle Patientenbogen wurde nach der Koronangiographie mit einer individuellen Anamnese durch Eintragung der ermittelten Parameter vervollständigt.

### **Kontrollgruppe**

Die Kontrollgruppe wurde im Juli 1998 im Rahmen einer Doktorarbeit aus unserer Arbeitsgruppe untersucht (Pohlmeier 2000). Sie setzt sich aus 200 Blutspendern aus dem Raum Hamburg zusammen. Die Probanden wurden anonym in der Abteilung für Transfusionsmedizin im UKE rekrutiert. Die Kriterien für die Zulassung zur Blutspende richten sich nach den Richtlinien zur Blutgruppenbestimmung und Bluttransfusion der Bundesärztekammer Hamburg. Diese geben vor, dass der Blutspender nach ärztlicher Beurteilung in einem gesunden Gesundheitszustand sein muss und damit keine Bedenken gegen die Blutspende vorliegen. Von der Spende werden Personen mit chronischen Erkrankungen, neu diagnostiziertem arteriellem Hypertonus, insulinpflichtigem Diabetes mellitus Typ I, sowie Personen mit einer bekannten Infektionserkrankung in der Anamnese, ausgeschlossen. Desweiteren wurde für diese Arbeit die Altersgruppe von Blutspendern zwischen 40-61 Jahren gewählt, sowie das Geschlecht und Rauchverhalten dokumentiert.

### **Probengewinnung**

Bei allen Patienten wurde nach zwölfstündiger Nahrungskarenz 9 ml Vollblutprobe in einem EDTA-Röhrchen entnommen. Innerhalb der nächsten Stunde wurde das Blut in einer Zentrifuge (Hettich Rolanta/RP) für 10 Minuten (4°C) bei 2500 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert und das Plasma anschliessend mit einer Pasteur-Pipette gewonnen, in Eppendorf-Küvetten aliquotiert, und auf -20°C eingefroren. Ein Teil des Plasmas wurde für die Bestimmung des Cholesterin, der Triglyzeride und des HDL-Cholesterin noch am selben Tag verwendet.

## **Bestimmung der Blutfette**

Bei der Lipidbestimmung sind biologische Schwankungen zu erwarten. Diese betragen für TG 20%, Gesamt-Cholesterin 15%, HDL-Cholesterin 10% und für das mit der Friedewald-Formel errechnete LDL-Cholesterin 8% (Bookstein *et al.* 1990).

### **Gesamt-Cholesterin**

Das Gesamt-Cholesterin wurde mit der CHOD-Pap-Methode bestimmt (Siedel *et al.* 1983). Es wurde 0,02 ml Plasma mit 2 ml Reagenzlösung gemischt und anschliessend 10 Minuten bei 20-25° C inkubiert. Hierbei werden die Cholesterinester der Probe über Cholesterin-Esterasen, -Oxidasen und -Peroxidasen zu 4-p-Benzochininmonoiminophenazon umgewandelt. Anschließend wurde bei einer Wellenlänge von 546 nm photometrisch die Extinktion gemessen. Die Konzentration wurde nach der Formel  $c = 853 \times \text{Extinktion der Probe}$  errechnet.

### **HDL-Cholesterin**

Das HDL-Cholesterin wurde mit der CHOD-Pap-Methode gemessen (Burstein *et al.* 1970). Hierbei handelt es sich wie bei der Gesamtcholesterinbestimmung um eine photometrische Messung. Der Probe wurden 500 µl Fällungsreagenz zugegeben, das Phosphowolframsäure und Magnesiumionen enthielt (Boehringer Mannheim HDL-Cholesterin Fällungsreagenz). Nach Mischung und 10-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur wurde das Gemisch bei 12000 Umdrehungen in der Minute zentrifugiert (Hettich Mikroliter-Zentrifuge). Dabei präzipitieren die Chylomikronen, das VLDL und LDL. Der Überstand, der nur noch das HDL enthält, wurde mit 100 µl aqua dest. verdünnt und anschliessend mit 1 ml Reagenzlösung versetzt (Eppendorf Dilutor Modell 5213). Nach erneuter Mischung und 10-minütiger Inkubation bei 20-25°C, wurde die Extinktion der Probe bei einer Wellenlänge von 546 nm gemessen.

### **LDL-Cholesterin**

Aus den bestimmten Werten wurde mit Hilfe der Friedewald-Formel [LDL-Cholesterin = Gesamt-Cholesterin – (Triglyzeride/5 – HDL-Cholesterin)] die LDL-Cholesterinmenge berechnet.

### **Triglyzeride**

Die quantitative Bestimmung der Triglyzeride wurde mittels des enzymatischen GPO-PAP in vitro Test durchgeführt (Roche Diagnostics GmbH, Mannheim) und beruht auf einer etablierten enzymatischen Methode (Wahlefeld & Bergemeyer 1974). Unter der Verwendung einer Lipoproteinlipase aus Mikroorganismen werden Triglyzeride schnell und vollständig zu Glycerin hydrolysiert mit anschließender Oxidation zu Dihydroxyacetonphosphat und Wasserperoxid. Das entstehende Wasserperoxid bildet unter der katalytischen Wirkung der Peroxidase mit 4-Aminophenazon und 4-Chlorphenol in einer Endpunktreaktion nach Trinder einen roten Farbstoff, welcher quantitativ mittels Roche/Hitachi Analyseautomaten gemessen wird (Trinder 1969).

### **Apolipoprotein A, B- und Lp(a)-Bestimmung**

Die Apolipoproteine und das Lp(a) wurden mit dem Beckman Array 360 (Beckman Instruments) gemessen. Dieses ist ein computergesteuertes Analyse System zur quantitativen Proteinbestimmung in menschlichen Körperflüssigkeiten. Die Bestimmung erfolgte mittels kinetischer Nephelometrie (Beckman Array Systeme, 1996). Durch die in der Probe schwebenden Partikel wird Streulicht erzeugt, deren Zunahme gemessen wird. Bis zu 40 Proben können pro Lauf gemessen werden, wobei das Apo A und Apo B zeitgleich bestimmt werden können. Das Lp(a) wird gesondert bestimmt. Dafür müssen die Proben zunächst mit einem Apo-Diluent vermischt, inkubiert und zentrifugiert werden. Der Überstand wird dann entnommen und zur Messung in die Arrays pipettiert.

### **Apo-E-Bestimmung Methodik**

Zur Bestimmung üblicher Apolipoprotein E Genotypen (Isoformen E2, E3, E4) wurde die schnelle Methode der Restriktionsenzym Isoform Genotypisierung benutzt (Hixson & Vernier 1990).

Hierbei werden Oligonukleotide mit Aminosäure-Positionen 112 und 158 verwendet, um Apolipoprotein E-Gen-Sequenzen zu amplifizieren. Die Amplifikationsprodukte werden mit HhaI verdaut und per Elektrophorese auf Polyacrylamidgelen getrennt. Jede Isoform wird durch eine einzigartige Kombination von Fragmentgrößen identifiziert, so dass eine eindeutige Typisierung (Unterscheidung homo- und heterozygoter Kombinationen) möglich ist.

## **Bestimmung der Antikörper gegen Ox-LDL im Serum**

Zur Bestimmung der Antikörper gegen oxidiertes LDL (Ox-LDL-Ak) wurde ein kommerzieller Enzymimmunoassay angewandt (BI 20032 oLAB-ELISA von Biomedica, Wien, Austria).

### **Reagenzien**

- Verdünnungspuffer,
- Waschpufferkonzentrat,
- Konjugat, bestehend aus an Peroxidase gekoppelter gebrauchsfertiger Kaninchen anti-human IgG-Antikörper,
- Standards, Fläschchen enthalten 1200; 600; 300; 150; 75; 37 mU/ml oLAB gebrauchsfertig in 0,5ml Humanserum, also Ak-gegen oxidierte LDL,
- Kontrollen enthalten ca. 1000 und 300 mU/ml oLAB gebrauchsfertig in 0,5 ml Humanserum,
- Substrat, Fläschchen enthält gebrauchsfertige Tetramethylbenzidin (TMB),
- Stopplösung enthält verdünnte H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.

Kupfer-(Cu<sup>++</sup>)-oxidiertes LDL ist als Antigen auf 12 Mikrotiter-Streifen mit je 8 Wells, die damit beschichtet sind, aufgetragen (Esterbauer *et al.* 1989). In der vorverdünnten Probe vorhandene Antikörper binden spezifisch an dieses Antigen. Ein mit Peroxidase konjugierter anti-human-IgG-Antikörper, der in Kaninchen generiert wurde, wird hinzugegeben. Dieser bindet an die humanen Antikörper. Tetramethylbenzidin wird als nicht-toxisches Substrat dazugegeben. Die photometrisch messbare Farbentwicklung ist direkt proportional zur Antikörperkonzentration in der Probe. Die tiefgefrorenen Plasmen werden zunächst langsam auf Eis aufgetaut. Der Waschpuffer gemäss Anleitung 1:10 mit aqua dest vorverdünnt, sowie weitere Reagenzien (Konjugat, Substrat, Stopplösung, Verdünnungspuffer, Standards und Kontrollen) werden bei Raumtemperatur bereitgestellt. Zum Zwecke der Dokumentation werden die Positionen für Leerwert, Standards, Kontrollen und Proben auf dem beiliegenden Protokollblatt mit seinen 96 Feldern eingetragen. Die Mikrotiterstreifen werden markiert, wobei jeweils 2 Wells für den Leerwert frei bleiben. Je 1000 µl Verdünnungspuffer werden in die Röhren vorgelegt. 20 µl Standard, Kontrolle bzw. Probe werden zugegeben und anschliessend mit einem Vortex-Gerät vorsichtig gemischt. Im nächsten Schritt

werden 200 µl Verdünnungspuffer innerhalb von höchstens 15 Minuten in die Wells des Leerwertes und die anderen Wells die vorverdünnten 6 Standards, Kontrollen und 2 Proben pipettiert. Nun werden die Streifen mit Folie luftdicht abgedeckt, vorsichtig geschüttelt und bei 37°C für 90 Minuten inkubiert. Danach wird die Flüssigkeit abgegossen, und die Streifen bis zu 4 mal mit Waschpuffer gewaschen. Dabei wird der Überstand mit Schwung ausgekippt und kopfüber auf Zellstoff gelegt, damit die abfließende Flüssigkeit vollständig entfernt wird. Anschliessend werden 100 µl Konjugat pro Well zugesetzt und die Platten erneut nach Abdeckung mit Folie bei Raumtemperatur 30 Minuten inkubiert. Danach werden die Wells wieder mit Waschpuffer behandelt. Jetzt wird Substrat in alle Wells pipettiert und 15 Minuten im Dunkeln inkubiert, um die Farbreaktion ablaufen zu lassen. Nach Ablauf der 15 Minuten wird die Reaktion mittels 50 µl Stopplösung angehalten und die Platten leicht nachgeschüttelt. Nun kann die Messung am Photometer erfolgen. Liegt die Konzentration einer Probe bei >1100 mU/ml, muss diese 1:10 vorverdünnt werden und in der nächsten Versuchsreihe erneut bestimmt werden. Das Photometer errechnet die Konzentration der Proben, in dem es automatisch von allen Proben den Leerwert (Well ohne Patienten-, Kontroll- oder Standard-Serum, mit Konjugat, Substrat und Pufferlösung) abzieht. Aus den Standardkurven wird durch ein entsprechendes Computer-Programm eine Eichkurve auf halblogarithmischem Papier erstellt und die Messwerte der Probe anhand dieser Kurve errechnet. Die in der Gebrauchsanweisung des verwendeten Assay angegebenen Normwerte der ox-LDL-Ak-Titer werden altersabhängig angegeben (**Tabelle 4**).

<b>Alter (Jahre)</b>	<b>Männer</b>		<b>Frauen</b>	
	<b>Mittelwert (mU/ml)</b>	<b>SD</b>	<b>Mittelwert (mU/ml)</b>	<b>SD</b>
<b>20-29</b>	548,8	±343,2	593,3	±347,5
<b>30-39</b>	464,0	±324,4	438,8	±318,8
<b>40-49</b>	450,2	±332,5	425,2	±372,4
<b>50-59</b>	400,4	±270,5	461,3	±344,3
<b>Gesamt</b>	476,1	±327,9	492,6	±348,5

**Tabelle 4.** Normwerte für ox-LDL-Ak-Titer SD = Standardabweichung

## **Statistik**

Für die einzelnen Parameter wurden arithmetische Mittelwerte und die Standardabweichungen ermittelt. Der Vergleich zweier unabhängiger Stichproben erfolgte durch den Mann-Whitney-U-Test mit Berechnung der Irrtumswahrscheinlichkeit ( $p$ ). Als statistisch signifikant wurde  $p < 0.05$  angesehen. Für den Vergleich von mehr als zwei Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test als Rangvarianzanalyse den Paarvergleichen vorgeschaltet. Zur Ermittlung von Korrelationen zwischen den Parametern wurde der Spearman-Rangkorrelationskoeffizient ( $\rho$ ) verwendet.

Die statistische Auswertung wurde für das Patientenkollektiv und die Kontrollgruppe in Geschlechter getrennt beschrieben und verglichen. Anschließend wurde eine Korrelation von Ox-LDL-Ak mit bekannten Risikofaktoren, erneut in Geschlechter getrennt, gezeigt. Danach wurden bezüglich der Lipidparameter nachuntersuchte Patienten dargestellt und ein Vergleich von Ausgangslipidwerten mit aktuellen Lipidwerten aufgestellt.



### 3. Ergebnisse

#### Beschreibung des Kollektivs

Insgesamt wurden 280 Patienten zur Teilnahme eingeladen und über den Studienablauf aufgeklärt. Im Verlauf der Studie konnten jedoch 22 Patienten nach der Koronarangiographie nicht mehr befragt werden, oder sie lehnten nachträglich eine weitere Befragung und Teilnahme ab.

Die Kontrollgruppe bestand aus 200 gesunden Blutspendern im Alter von 40-61 Jahren. Sie hatten als Blutspender keine bekannte chronische Erkrankung und keine Angina pectoris Beschwerden. Diese Gruppe setzte sich aus 61 (30,5%) Frauen und 139 (69,5%) Männer zusammen. Neben Alter und Geschlecht wurde das Rauchverhalten erfasst. Insgesamt waren in der Kontrollgruppe 29% Raucher und in der Patientengruppe 70%. In der Patientengruppe (n = 258) befanden sich 76% Männer und 24% Frauen. Es gaben 238 (94%) Patienten an, eine ihnen bekannte KHK zu haben. 180 Patienten hatten Beschwerden in Form von Angina pectoris und 49% der Patienten hatten bereits einen Myokardinfarkt hinter sich. Die Hyperlipoproteinämie war mit 62% einer der häufigsten bekannten Risikofaktoren für atherosklerotische Erkrankungen in der Patientengruppe, gefolgt von arterieller Hypertonie mit 54%. Insgesamt gaben 75% der Patienten eine positive Familienanamnese für atherosklerotische Erkrankungen an (**Tabelle 5, 6, 7**).

	Patientengruppe		Kontrollgruppe	
	n=258 (100%)		n=200 (100%)	
Geschlecht	Frauen	Männer	Frauen	Männer
Anzahl	62 (24,1%)	196 (75,9%)	61 (30,5%)	139 (69,5%)
Alter in Jahren (Mittelwert)	63	62,3	49,9	50,7
[Median/Min-Max]	62,5 (37-83)	62 (18-86)	49 (40-60)	50(40-61)

**Tabelle 5.** Alter und Geschlecht des Gesamtkollektivs

<b>Patientengruppe</b> n=258 (100%)		
	Frauen	Männer
keine KHK	7 (2,7%)	7 (2,7%)
1-Gefäss-KHK	9 (3,5%)	34 (13,2%)
2-Gefäss-KHK	14 (5,4%)	38 (14,7%)
3-Gefäss-KHK	31 (12,0%)	112 (43,4%)
keine Angaben	1 (0,4%)	5 (1,9%)
keine Angina pectoris	18 (7,0%)	52 (20,2%)
Angina pectoris	42 (16,2%)	138 (53,5%)
keine Angaben	2 (0,8%)	6 (2,4%)
kein Myokardinfarkt	32 (12,4%)	96 (37,2%)
≥1 Myokardinfarkt	29 (11,2%)	95 (37,6%)
keine Angaben	1 (0,4%)	5 (1,9%)
Nichtraucher	31 (12,0%)	38 (14,7%)
Nikotinkonsum	29 (11,2%)	151 (58,5%)
Keine Angaben	2 (0,8%)	7 (2,7%)
Kein Alkohol	22 (8,5%)	58 (22,6%)
Alkoholkonsum	34 (13,4%)	123 (47,7%)
Keine Angaben	6 (2,3%)	15 (5,8)
Hyperlipoproteinämie	42 (16,3%)	119 (46,1%)
Keine HLP	18 (7,0%)	68 (26,4%)
keine Angaben	2 (0,8%)	9 (3,5%)
Hypertonus	44 (17,1%)	95 (36,8%)
Kein Hypertonus	17 (6,6%)	93 (36,0%)
keine Angaben	1 (0,4%)	8 (3,1%)
Diabetes mellitus	16 (6,2%)	30 (11,6%)
Kein Diabetes mellitus	44 (17,1%)	159 (61,6%)
keine Angaben	2 (0,8%)	7 (2,7%)
Keine PTCA	41 (15,9%)	106 (41,1%)
-eine PTCA	10 (3,9%)	51 (19,8%)
-zwei PTCA	8 (3,1%)	22 (8,5%)
-drei oder mehr PTCA	2 (0,8%)	9 (3,5%)
keine Angaben	1 (0,4%)	8 (3,1%)

**Tabelle 6.** Anamnestische Angaben von Patienten

	<b>Patientengruppe n=258 (100%)</b>	
<b>Geschlecht</b>	<b>Frauen</b>	<b>Männer</b>
keine Ereignisse	12 (4,7%)	42 (16,3%)
- KHK	11 (4,3%)	42 (16,3%)
- Myokardinfarkt	1 (0,4%)	11 (4,3%)
- Apoplex	9 (3,5%)	22 (8,5%)
- KHK + MI	13 (5,0%)	43 (16,7%)
- KHK + Apoplex	5 (1,9%)	11 (4,3%)
- MI + Apoplex	1 (0,4%)	4 (1,6%)
- KHK + Apoplex +	7 (2,7%)	13 (5,0%)
- MI	3 (1,2%)	8 (3,1%)

**Tabelle 7.** Aufteilung der Familienanamnese für atherosklerotische Erkrankungen

### **Koronarangiographie**

Die aktuelle Koronarangiographie war zu 90% pathologisch mit häufigen Restenosen (20%), In-Stent-Restenosen (14%), sowie Bypass-Restenosen (21%) (**Tabelle 8**).

Die Angaben stammen aus der Datenbank des Herzkatheterlabors.

	<b>Patientengruppe n=258 (100%)</b>	
<b>Geschlecht</b>	<b>Frauen</b>	<b>Männer</b>
Nicht pathologisch	7 (2,7%)	5 (1,9%)
pathologisch	53 (20,5%)	180 (69,8%)
Keine Angaben	2 (0,8%)	11 (4,3%)
Re-Stenose vorhanden	10 (3,9%)	42 (16,3%)
Keine Re-Stenose	50 (19,4%)	139 (53,9%)
Keine Angaben	2 (0,8%)	15 (5,8%)
In-Stent-Stenose	10 (3,9%)	23 (8,9%)
Keine In-Stent-Stenose	50 (19,4%)	157 (60,9%)
Keine Angaben	2 (0,8%)	16 (6,2%)
Bypass-Stenose	8 (3,1%)	46 (17,8%)
Keine Bypass-Stenose	53 (20,5%)	141 (54,7%)
Keine Angaben	1 (0,4%)	9 (3,5%)

**Tabelle 8.** Ergebnisse der aktuellen Koronarangiographie der Patientengruppe nach Geschlechtern getrennt

## Statistischer Vergleich

### Lipidparameter

Hinsichtlich des Vergleiches der Lipidparameter, Apolipoproteine und Homozystein von Patienten- und Kontrollgruppe konnten signifikante Unterschiede für Triglyzeride, VLDL, Lp (a) und Apo AI gefunden werden. Beim Cholesterin und Apolipoprotein B konnte lediglich eine Tendenz eines Unterschieds im Gruppenvergleich gesehen werden. Für LDL, HDL und Homozystein fanden sich keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Die Rangsummenvergleiche der einzelnen Lipidparameter, Apolipoproteine und Homozystein der Patienten- und Kontrollgruppe sind in **Tabelle 9** zusammengefasst.

Parameter [mg/dL]	Patienten n=258 (100%)	Kontrollgruppe n=200 (100%)	p-Wert*
	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert		
Gesamtzahl	258 (100%)	200 (100%)	
Cholesterin	212±45,5/209	203±33,5/203	n.s.
TG	166±116,3/139	140±80,5/120	p<0,01
LDL	130±38,7/127	127±31,6/128	n.s.
HDL	49±15,7/47	48±13,6/46	n.s.
VLDL	33±23,3/28	28±16,1/24	p<0,05
Lp (a) [median]	10±32,9	6± 23,0	p<0,0001
Apo AI	130± 23,4/129	136± 17,6/136	p<0,001
Apo B	99± 27,4/96	95± 21,8/90	n.s.
Homozystein	10± 3,8/10	10± 2,8/10	n.s.

**Tabelle 9.** Vergleich Lipidparameter und Homozystein zwischen Patienten- und Kontrollen; \* Mann-Whitney-U Homogenitätstest; n.s. = nicht signifikant

### Vergleich männlicher und weiblicher Lipidparameter

Hinsichtlich der Lipidparameter, Apolipoproteine und des Homozysteins in der Patientengruppe konnten signifikante Unterschiede für HDL, Lp(a) und ApoAI zwischen Männern und Frauen gefunden werden. Bei den übrigen Parametern waren keine signifikanten Unterschiede zu sehen. In der **Tabelle 10** sind die signifikanten Parameter aufgelistet.

	Patientengruppe n=258 (100%)		
Geschlecht	Frauen	Männer	p-Wert*
Anzahl	62 (24,1%)	196 (75,9%)	
Parameter (mg/dl)	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert		
HDL	55±20,3/53	47±13,4/45	p<0,001
Lp(a) [median]	14±47,0	9±25,9	p<0,05
ApoA1	136±22,5/134	128±23,3/128	p<0,05

**Tabelle 10.** Vergleich männlicher und weiblicher Lipidwerte der Patientengruppe  
\*Mann-Whitney-U Homogenitätstest

Auch in der Kontrollgruppe waren mehrere signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern zu sehen. Diese betreffen das Gesamtcholesterin, Triglyzeride, LDL, HDL, VLDL, ApoB, ApoAI und das Homozystein (**Tabelle 11**).

	Kontrollgruppe n=200 (100%)		
Geschlecht	Frauen	Männer	p-Wert*
Parameter (mg/dl)	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert		
Cholesterin	194±35,0/188	206±32,3/207	p<0,001
TG	109±66,0/94	154±82,6/137	p<0,0001
LDL	117±32,8/111	131±30,1/134	p<0,001
HDL	56±14,3/57	45±11,7/44	p<0,0001
VLDL	22±12,9/19	31±16,5/27	p<0,0001
ApoB	85±22,0/84	99±20,2/100	p<0,0001
ApoA1	145±19,1/148	133±15,6/134	p<0,0001
Homozystein	9±3,0/9	10±2,5/10	p<0,01

**Tabelle 11.** Vergleich männlicher und weiblicher Lipidwerte der Kontrollgruppe  
\*Mann-Whitney-U Homogenitätstest

Auf Grund der geschlechterspezifischen Unterschiede verglichen wir als nächstes die Werte der Frauen innerhalb des Gesamtkollektivs. Hier zeigten sich statistisch signifikante Unterschiede in Bezug auf das Gesamtcholesterins, TG, LDL, VLDL, Lp(a), ApoB und ApoA1 (**Tabelle 11a**).

<b>Frauen</b>	Patientengruppe n=60	Kontrollgruppe n=61	<b>p-Wert*</b>
Parameter (mg/dl)	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert		
Cholesterin	221±54,4/225	195±35,1/188	p<0,01
TG	155±100,6/143	109±66,0/94	p<0,001
LDL	137±45,3/133	117±32,9/111	p<0,01
HDL	55±20,3/53	56±14,4/57	n.s.
VLDL	31±20,1/29	22±13,0/19	p<0,01
Lp (a) [median]	14±47,1	4±19,0	p<0,0001
ApoB	104±29,2/101	85±22,0/84	p<0,0001
ApoA1	136±22,5/134	145±19,2/148	p<0,05
Homozystein	10±3,5/9	9±3,0/9	n.s.

**Tabelle 11a.** Vergleich der Lipidwerte der Frauen im Gesamtkollektiv, \*Mann-Whitney-U Homogenitätstest, n.s. = nicht signifikant

Der Vergleich der Männer der Patientengruppe mit denen der Kontrollgruppe zeigte dagegen weniger statistisch signifikante Unterschiede. Diese waren im LDL, Lp(a) und ApoA1 zu sehen (**Tabelle 11b**).

<b>Männer</b>	Patientengruppe n=184	Kontrollgruppe n=139	<b>p-Wert*</b>
Parameter (mg/dl)	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert		
Cholesterin	209±41,9/207	206±32,3/207	n.s.
TG	169±121,0/134	154±82,6/137	n.s.
LDL	127±36,1/127	131±30,2/134	p<0,01
HDL	47±13,5/45	45±11,8/44	n.s.
VLDL	34±24,2/27	31±16,5/27	n.s.
Lp (a) [median]	9±26,0	7±24,4	p<0,05
ApoB	98±26,7/96	99±20,2/100	n.s.
ApoA1	128±23,4/128	133±15,7/134	p<0,05
Homozystein	11±3,8/10	10±2,6/10	n.s.

**Tabelle 11b.** Vergleich der Lipidwerte der Männer im Gesamtkollektiv, \*Mann-Whitney-U Homogenitätstest, n.s.=nicht signifikant

## Vergleich Lipidparameter von Patienten die Cholesterinsenker einnehmen zu nichttherapierten Patienten

In **Tabelle 12** werden Patienten (Gesamt-Patientenkollektiv, Frauen, Männer) die cholesterinsenkende Therapie erhalten im Lipidprofil mit Patienten die keine cholesterinsenkende Therapie erhalten verglichen. Nur die signifikanten Unterschiede sind aufgeführt. Im Gesamt-Patientenkollektiv war das LDL bei der therapierten Gruppe niedriger. Wenn man dieses geschlechtsspezifisch analysierte so war der Unterschied bei den Männern zu sehen. Das HDL war in der Frauengruppe signifikant höher. Und in Bezug auf das Lp(a) war im Gesamt-Patientenkollektiv ein signifikant niedriger Spiegel in der nicht therapierten Gruppe zu sehen. Bei näherer Betrachtung lag der signifikante Unterschied bei den nicht therapierten Männern.

Patienten	Cholesterinsenker	Keine Cholesterinsenker	p-Wert*
Parameter (mg/dl)	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert		
LDL Männer + Frauen	125±42,5/119	134±33,7/136	<0,05
LDL Frauen	137±51,3/129	138±37,4/145	n.s.
LDL Männer	121±38,4/118	133±32,8/136	<0,05
HDL Männer + Frauen	48±13,5/46	50±17,8/48	n.s.
HDL Frauen	50±16,5/47	62±23,2/58	<0,05
HDL Männer	47±12,3/46	47±14,7/45	n.s.
Lp(a) [median] Männer+Frauen	12±34,1	8±31,2	<0,05
Lp(a) [median] Frauen	15±46,4	12±48,6	n.s.
Lp(a) [median] Männer	10±27,7	6±23,5	<0,05

**Tabelle 12.** Lipidparameter (Patienten) getrennt nach Behandlung mit Cholesterinsenkern, \* Mann-Whitney-U Homogenitätstest, n.s.= nicht signifikant

## Apolipoprotein-E-Genotyp

Das Apo E ist im Plasma in mehreren Isoformen zu finden, die auf den genetischen Polymorphismus beruht. Dieser wirkt sich auf den Abbau der triglyceridreichen Lipoproteine, die Konzentration der LDL und das Koronarrisiko aus (Huang *et al.* 1996). Der Apo-E-Genotyp 2/2 gilt als kardioprotektiv und dem entgegengesetzt wird der Apo-E-Genotyp 4/4 eher ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse. Im Chi-Quadrat-Test waren signifikant häufiger entsprechende Mutation in der Patientengruppe zu sehen. Die Kontrollgruppe zeigte im Vergleich zur Normalverteilung ein selteneres Vorkommen des Apo-E-Genotyp 2/4, was in dieser Eigenschaft ebenfalls zu einem signifikanten Unterschied zwischen Patienten und Kontrollgruppe führte (**Tabelle 13**).

<b>ApoE-Genotypen</b>	<b>Patienten</b> n= 220 (%)	<b>Kontrollen</b> n= 200 (%)	<b>Normalverteilung</b> (%)
2/2	0 (0)	2* (1)	0,5
2/3	14 (6)	25* (13)	13
2/4	7* (3)	2 (1)	3
3/3	120 (55)	125 (63)	58
3/4	71* (32)	46 (23)	25
4/4	8* (4)	0 (0)	1

**Tabelle 13.** ApoE-Verteilung in der Patienten-, Kontrollgruppe und Normalverteilung (Kostner & März 1995), \*Häufigkeit signifikant erhöht ( $p < 0,01$ ) im Chi-Quadrat-Test gegenüber den Erwartungswerten für Gleichverteilung



## Vergleich Ox-LDL-Ak

Bei den gemessenen Ox-LDL-Ak Werten zeigte sich besonders innerhalb der Kontrollgruppe eine hohe Standardabweichung. Diese war vor allem auf einen Extremwert von >19000 mU/ml eines männlichen Blutspenders zurückzuführen, der als Messfehler interpretiert wurde. Deshalb sind in **Tabellen 14 a** und **Tabelle 14 b** Vergleichsberechnungen von Ox-LDL-Ak zwischen dem gesamten Patienten- und Kontrollkollektiv mit und ohne Einschluss des vermutlichen Messfehlers dargestellt. Es zeigt sich jeweils kein signifikanter Unterschied.

Ox-LDL-Ak	Patienten	Kontrollgruppe	p-Wert*
	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert [mU/ml]		
	476,9±527,4/338	787,7±1754,9/361	n.s.
Minimum	45,0	0	
Maximum*	5133	19567,0	

**Tabelle 14 a.** Ox-LDL-Ak für das gesamte Patienten- und Kontrollgruppe inklusive Extremwert >19000 mU/ml, \* Mann-Whitney-U Test; n.s. = nicht signifikant

Ox-LDL-Ak	Patienten	Kontrollgruppe	p-Wert*
	Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert [mU/ml]		
	476,9±527,4/338	696,9±1144,3/361	n.s.
Minimum	45,0	0	
Maximum	5133	8573,0	

**Tabelle 14 b.** Ox-LDL-Ak für das gesamte Patienten- und Kontrollgruppe exklusive Extremwert >19000 mU/ml, \* Mann-Whitney-U Test; n.s. = nicht signifikant

## Geschlechterspezifischer Vergleich Ox-LDL-Ak

Um geschlechtsspezifische Unterschiede der Ox-LDL-Ak Spiegel vergleichen zu können wurden Patienten und Kontrollen nach Geschlecht aufgeteilt. Innerhalb der Geschlechtergruppen zeigten sich besonders hohe Spiegel bei den männlichen Kontrollen, mit statistisch signifikant höheren Werten als bei den weiblichen Kontrollen (Median 389 mU/ml *versus* 286 mU/ml,  $p = 0.02$ ; Mann-Whitney-U Test). Im folgenden wurden die gemessenen Ox-LDL-Ak-Werte für das Gesamtkollektiv nach Geschlechtern getrennt zwischen Patienten und Kontrollen

vergleichend dargestellt (**Tabelle 15 a**). Die sich anschliessende **Tabelle 15 b** zeigt die Ergebnisse ohne den oben beschriebenen vermeintlich falschen Messwert von >19000 mU/ml. Zwischen Patienten und Kontrollen ergeben sich keine signifikanten geschlechterspezifischen Unterschiede.

	<b>Patientengruppe</b>	<b>Kontrollgruppe</b>	<b>p-Wert*</b>
	<b>Frauen</b> Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert [mU/ml]		
<b>Ox-LDL-Ak</b>	440± 358,1/310	427± 458,2/286	n.s.
	<b>Männer</b> Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert [mU/ml]		
<b>Ox-LDL-Ak</b>	488± 569,4/341	953± 2071,5/389	n.s.

**Tabelle 15 a.** Vergleich Ox-LDL-Ak zwischen Patienten und Kontrollen

\* Mann-Whitney-U Test; n.s. = nicht signifikant

	<b>Patientengruppe</b>	<b>Kontrollgruppe</b>	<b>p-Wert*</b>
	<b>Frauen</b> Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert [mU/ml]		
<b>Ox-LDL-Ak</b>	440± 358,1/310	427± 458,2/286	n.s.
	<b>Männer</b> Mittelwert ± Standardabweichung/Medianwert [mU/ml]		
<b>Ox-LDL-Ak</b>	488± 569,4/341	817± 1325,4/385	n.s.

**Tabelle 15 b.** Vergleich Ox-LDL-Ak zwischen Patienten- und Kontrollen (ohne Messwert >19000 mU/ml), \* Mann-Whitney-U Test; n.s. = nicht signifikant

### **Vergleich Ox-LDL-Ak der Patienten in Risikogruppen**

Wir betrachten die Patienten unterteilt in Gruppen nach Risikofaktoren der KHK, um eventuelle Unterschiede in der Verteilung der Ox-LDL-Ak-Titer zu erfassen. In der Gruppe der Diabetiker waren im Vergleich zu Nicht-Diabetikern die Mittel- und Medianwertunterschiede für Ox-LDL-Ak statistisch nicht signifikant. Ähnliche Ergebnisse zeigten Vergleiche der Patienten mit arterieller und ohne Hypertonie, Raucher und Nicht-Raucher, Patienten mit und ohne Apoplex, mit und ohne Myokardinfarkt, mit und ohne Re-Stenose der entsprechenden Koronararterie nach PTCA in der Vorgeschichte. Zusätzlich wurden Patienten die zum Zeitpunkt der Untersuchung Cholesterin senkende Medikamente einnahmen mit denen, die keine

solchen Medikamente einnahmen, verglichen. Die Ergebnisse zeigten allesamt keinen signifikanten Unterschied und sind im Anhang dargestellt (**Tabellen 18-20**).

### **Ox-LDL-Ak und die Atherosklerose beeinflussende Faktoren**

Korrelationen von Ox-LDL-Ak mit den bekannten Parametern, die als relevant für die Atherosklerose beschrieben worden sind, zeigten in der Patientengruppe eine positive Korrelation mit Homozystein (**Tabelle 16**). In der Kontrollgruppe war eine negative Korrelation von Ox-LDL-Ak mit Gesamtcholesterin zu sehen. Für alle anderen artherogenen Faktoren zeigte sich kein Zusammenhang.

	<b>Patientengruppe</b>		<b>Kontrollgruppe</b>	
	<b>Korrelationskoeffizient (rho)</b>	<b>p-Wert*</b>	<b>Korrelationskoeffizient (rho)</b>	<b>p-Wert*</b>
<b>Homozystein</b>	0,154	0,03	0,036	0,62
<b>Alter</b>	0,071	0,32	0,009	0,90
<b>KHK-Dauer</b>	0,082	0,22	Keine KHK	Keine KHK
<b>Zigaretten/Tag</b>	0,093	0,16	Keine Angabe	Keine Angabe
<b>Nikotindauer</b>	0,017	0,79	Keine Angabe	Keine Angabe
<b>Alkoholgenuss</b>	-0,088	0,18	Keine Angabe	Keine Angabe
<b>Cholesterin</b>	-0,020	0,76	-0,147	0,04
<b>Triglyzeride</b>	-0,020	0,77	0,041	0,56
<b>LDL</b>	-0,018	0,79	-0,123	0,08
<b>HDL</b>	-0,027	0,69	-0,129	0,07
<b>VLDL</b>	-0,012	0,85	0,042	0,56
<b>Lp (a)</b>	-0,017	0,80	-0,036	0,62
<b>ApoB</b>	-0,014	0,83	-0,090	0,21
<b>ApoAI</b>	0,027	0,68	-0,139	0,05

**Tabelle 16.** Korrelationskoeffizienten zwischen Ox-LDL-Ak und artherogenen Faktoren, \* Korrelationskoeffizient nach Spearman

## Nachuntersuchung der Patienten

In der Patientengruppe waren die Lipidparameter, insbesondere das Gesamtcholesterin unerwartet niedrig. Wir wollten herausfinden, ob bestimmte Einflussgrößen, wie z.B. die Aufregung vor der anstehenden Untersuchung, eine eventuell zuvor durchgeführte strengere Diät und/oder eine regelmässige Medikamenteneinnahme vor dem Vorstellungstermin, die Lipidparameter beeinflusst haben. Deshalb erfolgte mindestens 3 Monate nach der Koronarangiographie bei 59 zufällig ausgesuchten Patienten eine ambulante Nachuntersuchung. Diese fand teilweise in der Uniklinik, teilweise beim niedergelassenen Hausarzt statt und beinhaltete eine Bestimmung des Blutlipidstatus. Zu diesem Zeitpunkt stand eine Vielzahl der Patienten (60%) bereits unter einer medikamentösen lipidsenkenden Therapie, meist mit Statinpräparaten, während 40% der nachuntersuchten Patienten keinerlei cholesterinsenkende Medikamente einnahmen. Bei der Wiedervorstellung zeigten sich erneut niedrige Werte an Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin. Der Unterschied zwischen dem Ausgangsmittelwert und dem Mittelwert bei der Wiedervorstellung war statistisch signifikant niedriger (**Tabelle 17**).

[mg/dl]	<b>Ausgangswert</b> [mean/median; SD]	<b>Nachuntersuchung</b> [mean/median; SD]	<b>p-Wert*</b>
Gesamtcholesterin	210,7/201,0; ±37,3	191,2/183,0; ±45,0	<0,01
TG	170,6/142; ±95,9	148,7/111,0; ±104,6	n.s.
LDL-Cholesterin	128,3/122,0; ±36,3	113,6/109,0; ±33,9	<0,05
HDL- Cholesterin	48,7/48,0; ±14,2	48,1/48,0; ±13,3	n.s.
VLDL-Cholesterin	33,2/28; ±19,4	29,7/22,5; ±20,9	n.s.

**Tabelle 17.** Vergleich der Lipidparameter von 59 Patienten bei Nachuntersuchung

\* Wilcoxon-Rangsummentest; n.s. = nicht signifikant

Erwartungsgemäss lagen innerhalb des Patientengutes das Gesamt- und LDL-Cholesterin der nicht therapierten Gruppe deutlich höher als das der therapierten Patienten (Gesamtcholesterin 203,1 mg/dl *versus* 185,3 mg/dl; LDL-Cholesterin 124,1 mg/dl *versus* 109,3 mg/dl, Wilcoxon-Rangsummentest  $p < 0,05$ ).

## 4. Diskussion

Die Koronare Herzkrankheit ist eine Erkrankung mit multifaktorieller Genese und gilt als eine der führenden Ursachen für Morbidität und Mortalität in der westlichen Welt. Ein Hauptinteresse der klinischen Forschung besteht in der Erkennung und Erfassung von Risikofaktoren, die eine Verbesserung der Diagnostik und präventive Erweiterung der Therapieansätze möglich machen. Ohne Zweifel ist die Hypercholesterinämie eine der wichtigsten Risikofaktoren für die Arteriosklerose und ihre Folgeerkrankungen.

Neben den erhöhten Lipidwerten spielt auch die Lipidperoxidation eine zentrale Rolle in der Atherogenese, denn diese führt zu Modifikation der Lipid- als auch der Proteinuntereinheit dieser Partikel und ist Voraussetzung für die Entstehung von oxidiertem LDL (Ross & Glomset 1976, Brown & Goldstein 1975, Ross 1993, Steinberg & Witzum 1999).

Um die Pathogenese der Atherosklerose besser zu verstehen, haben Untersuchungen an oxidiertem LDL in den vergangenen Jahren zunehmend an Interesse gewonnen, und oxidiertes LDL (Ox-LDL) wurde als ein wichtiger Faktor bei der Entstehung der Atherosklerose identifiziert (Parthasarathy & Rankin 1992, Ding *et al.* 1997, Zhang *et al.* 1990, Witzum & Steinberg 1999, Witzum & Steinberg 2001).

Ox-LDL unterscheidet sich in seiner Eigenschaft und Zusammensetzung grundlegend vom nativen LDL. Modifiziertes Ox-LDL wirkt zytotoxisch auf Endothelzellen (Hessler *et al.* 1994), und die daraus resultierenden Schädigungen am Endothel fördern dann die Atherosklerose. Ox-LDL stimuliert die Expression von Scavenger-Rezeptoren (Daugherty & Roselaar 1995), über welche Makrophagen in einem unregulierten Prozess weiteres Ox-LDL in ihr Zellinneres aufnehmen (Morel *et al.* 1984) und in der Folge durch die Anhäufung von intrazellulärem Cholesterin bzw. Cholesterinestern Schaumzellen entstehen lassen (Goldstein *et al.* 1979, Steinbrecher *et al.* 1984, Heinecke *et al.* 1984), was eines der ersten Kennzeichen früher arteriosklerotischer Läsionen darstellt (Witzum & Steinberg 1991).

Das modifizierte, oxidierte LDL wirkt immunogen, so dass der Organismus Ox-LDL-Ak bildet (Itabe H *et al.* 1996, Witzum & Steinberg 1999), die wiederum in atherosklerotischen Plaques beschrieben wurden (Ylä-Herttuala *et al.* 1989). Eine Reihe von experimentellen Untersuchungen zeigte, dass die Lipidoxidation durch den Zusatz von Antioxidantien terminiert werden kann, und damit die Atherosklerose potentiell gestoppt und sogar zurückgebildet werden kann (Steinberg *et al.* 1989,

Witztum 1994, Chisolm & Steinberg 2000). Die klinische Relevanz von Ox-LDL-Ak wird kontrovers diskutiert. Erste Daten und einige spätere Studien zeigten hohe Ox-LDL-Ak Titer bei Patienten mit Atherosklerose (Puurunen *et al.* 1994, Lehtimäki *et al.* 1999, Wu *et al.* 1997, Bergmark *et al.* 1995, Salonen *et al.* 1992), während andere Studien inverse Assoziationen sowohl in der kardiovaskulären Risikopopulation (Festa *et al.* 1998, Karvonen *et al.* 2003, Hulthe *et al.* 1998), als auch in der Normalbevölkerung beschreiben (Tinahones *et al.* 2002, Tinahones *et al.* 2007).

Die vorliegende Arbeit sollte an einem Kollektiv von symptomatischen Herzkatheter-Patienten prüfen, ob Ox-LDL-Ak eine Vorhersagekraft in der Atherosklerose-Entstehung besitzen und ob Ox-LDL-Ak als möglicher Risikofaktor kardiovaskulärer Ereignisse verwertbar ist. Das Ziel war es, die Prävalenz und die Titerhöhe von Ox-LDL-Ak bei Patienten mit manifester koronarer Herzkrankheit zu ermitteln und den Bezug auf das umfassende Risikoprofil zu beurteilen. Dazu verglichen wir in unserer Studie die Ox-LDL-Ak-Titer von 252 Patienten mit manifester KHK, die zu einer Koronarangiographie in die Universitätsklinik kamen, mit denen einer Kontrollgruppe von 200 gesunden Blutspendern (Pohlmeier 2000). Desweiteren wurden aus der Studienpopulation 59 zufällig ausgewählte Patienten nachuntersucht, um deren Lipidwerte nach mindestens 3 Monaten erneut zu bestimmen und um eventuelle Einflussgrößen auf den Verlauf der Lipidparameter der Patienten zu erfassen.

### **Ox-LDL-Ak und Lebensalter**

Eine grundsätzliche Schwäche der vorliegenden Arbeit besteht darin, dass die ausgewählte Kontrollgruppe im Mittel mehr als 10 Jahre jünger (50,4 Jahre) als die untersuchten Patienten (62,5 Jahre) war. Wünschenswert wäre es gewesen, die erhobenen Messwerte mit denen einer exakt alterskontrollierten Kontrollgruppe vergleichen zu können. Bereits in den vom Hersteller des verwendeten Tests angegebenen Normwerten zeigt sich ein inverser Zusammenhang zwischen dem Alter und Antikörper-Titer. Eine Studie an 1354 zufällig ausgewählten gesunden Personen im Alter zwischen 5 und 65 Jahren zeigte ebenfalls, dass generell höhere Titer von Ox-LDL-Ak bei jüngeren und weiblichen Probanden zu messen sind (Tinahones *et al.* 2007). Auch eine spanische Arbeitsgruppe fand tendenziell niedrigere Ox-LDL-Ak Spiegel bei älteren Personen (Balada *et al.* 2002). In den oben genannten Arbeiten, sowie in den vom Hersteller angegebenen Referenzwerten,

ist die höhere Altersgruppe jedoch jeweils mit einem Lebensalter von über 50 Jahren angegeben, so dass es insgesamt gerechtfertigt erschien, in unseren vorgenommenen Vergleichsberechnungen keine Alterskorrektur vorzunehmen.

Ein wesentlicher Vorteil in der Wahl unserer Kontrollgruppe lag in der leichten Zugänglichkeit der Proben und in der Tatsache, dass die gewählte Population auch der Erstellung einer weiteren Doktorarbeit innerhalb unserer Arbeitsgruppe über Homocystein und Ox-LDL-Antikörper als mögliche Marker für die Atherosklerose dienen konnte (Pohlmeier 2000).

### **Lipidparameter**

Betrachtet man das gesamte Studienkollektiv, so war das Gesamtcholesterin in der Patientengruppe nur diskret (nicht statistisch signifikant) erhöht, obwohl es zu erwarten gewesen wäre, eine Hypercholesterinämie in der Patientengruppe vorzufinden. Eine Erklärung hierfür könnte sein, dass bereits ungefähr die Hälfte der Patienten eine Therapie mit Cholesterin senkenden Medikamenten, meist mit Statinpräparaten erhielten. Die eingenommenen Medikamente könnten somit einen niedrigeren Cholesterinspiegel zum Zeitpunkt der Untersuchung herbeigeführt haben, obwohl sie initial, also vor Diagnosestellung und vor Beginn einer cholesterinsenkenenden Behandlung über lange Zeit hohe Cholesterinwerte aufgewiesen haben könnten. Allerdings waren die Messwerte für TG, VLDL und Lp(a) in der Patientengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe statistisch signifikant erhöht ( $p=0,0075$ ,  $p=0,0125$  und  $p<0,0001$ ), während Apo AI Werte in der Patientengruppe niedriger waren ( $p=0,0003$ ). Sowohl erhöhte Lp(a) Werte (Erqou *et al.* 2009), als auch niedrige ApoAI Spiegel wurden als unabhängige Risikofaktoren für die Entstehung der Atherosklerose (Beisiegel 1990, Utermann 1989) und KHK (Drexel *et al.* 1991) beschrieben. Somit konnten wir diese risikoassoziierten Zusammenhänge auch in unserem Patientenkollektiv bestätigen.

Wie in der Literatur beschrieben (Song *et al.* 2004) war die Häufigkeit der prognostisch ungünstigen Apo E-Genotypen 4/4 und 3/4, die einen höheren Gesamt- und LDL-Cholesterin zur Folge haben, sowie mit einer frühen KHK-Manifestation verbunden sind, ebenfalls in unserer Patientengruppe signifikant erhöht. Neben dem Vergleich der Patienten zur Kontrollgruppe haben wir untersucht, inwieweit die Geschlechtszugehörigkeit die untersuchten Lipidparameter, insbesondere auch die Höhe der Ox-LDL-Ak beeinflusst. In der Verteilung der Geschlechter gab es keine

signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen. Da jedoch Unterschiede im Lipidprofil zwischen Männern und Frauen zu erwarten sind, und wie oben bereits erwähnt wurde, in Studien tendenziell höhere Ox-LDL-Ak Titer bei Frauen gefunden wurden, verglichen wir unsere Messwerte geschlechterspezifisch. In der Patientengruppe zeigten sich signifikant höhere Messwerte für HDL, Lp(a) und ApoAI in der Gruppe der Frauen. Auch in der Kontrollgruppe zeigten sich bei den Frauen höhere Messwerte für HDL und ApoAI, nicht jedoch für Lp(a). Zusätzlich gab es in der Kontrollgruppe weitere signifikante Unterschiede zwischen den Geschlechtern. Das Gesamtcholesterin, TG, LDL, VLDL, ApoB und Homozystein waren bei den Männern signifikant höher als bei den Frauen. Betrachtet man diese Ergebnisse, so sprechen hohe HDL und hohe ApoAI Spiegel, wie in der Literatur beschrieben (Drexel et al. 1991), bei gleichzeitig nicht erhöhtem Lp(a) bei weiblichen Kontrollpersonen für eine protektive Wirkung. Das generell niedrigere KHK-Risiko bei prämenopausalen Frauen (Assmann 1989) kann in unserer Studienpopulation auf Grund des hohen Lebensalters nicht geltend gemacht werden, denn Daten zur Einnahme von Hormonpräparaten wurden nicht erfasst. Zudem erschwert die bestehende Kontroverse zum Thema der postmenopausalen Hormonsubstitutionstherapie (Hulley & Grady 2009), sowie zu prinzipiellen biologischen Unterschieden zwischen den Geschlechtern in der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen (Arain et al. 2009) die Deutung unserer Befunde. Auffallend jedoch ist das deutlich erhöhte Lp(a) in der weiblichen Patientengruppe, das mit den kardiovaskulären Ereignissen in Zusammenhang stehen könnte (Erqou et al. 2009), um so mehr, weil auch andere bekannte Risikofaktoren, wie die Verteilung des Apo E Genotyps, keine signifikanten Unterschiede im Geschlechtervergleich ergaben.

Zum Zeitpunkt der Koronarangiographie waren zwischen Patienten, die mit Cholesterinsenker therapiert wurden und solchen die nicht therapiert wurden statistisch signifikante Unterschiede im LDL- und Lp(a)-Spiegel (nur bei den Männern) zu dokumentieren. Das LDL war bei nicht therapierten Männern erwartungsgemäß höher als bei therapierten Männern, was am ehesten auf die Wirkung der cholesterinsenkenden Medikamente zurückzuführen ist. Das erhöhte Lp(a) bei therapierten Männern könnte ein Ausdruck dafür sein, dass eine cholesterinsenkende Therapie in dieser Patientengruppe eher begonnen bzw. dass die Medikamente in dieser Gruppe konsequenter eingenommen wurden.



In der Gruppe der mit Cholesterinsenkern therapierten Patientinnen war das HDL statistisch signifikant erniedrigt. Auch hier ist eine mögliche Erklärung, dass Patientinnen mit KHK bei niedrigen HDL Werten bereits eher mit Cholesterinsenkern behandelt wurden.

Die Untersuchung der Lipidparameter von Patienten mindestens 3 Monate nach erfolgter Koronarangiographie zeigte, dass durch cholesterinsenkende Medikamente das Gesamtcholesterin und LDL noch weiter gesenkt werden konnte. Da die Nachuntersuchungen jeweils unter stressarmen Bedingungen stattfanden und trotzdem noch niedrigere Werte als zum Zeitpunkt der Koronarangiographie hervorbrachten, zeigt dieses Ergebnis auch, dass Stress vor dem Eingriff keinen massgeblichen cholesterinsenkenden Einfluss hatte, wie wir zunächst angenommen hatten. Obwohl der Zeitpunkt der Koronarangiographie zur Messung der Lipidparameter für retrospektive Aussagen zum Zusammenhang von Ox-LDL-Ak und KHK Risiko wahrscheinlich nicht optimal war, lagen auch nicht maximal therapeutisch gesenkte Cholesterinwerte vor, so dass unserer Meinung nach die Daten insgesamt als valide und verwertbar anzusehen sind.

Eine mögliche Erklärung für den insgesamt relativ normalen Lipidstatus des Patientengutes ist neben des bereits erfolgten medikamentösen Behandlungsbeginns, wie sich aus der Anamnese teilweise ableiten ließ, eine bewusstere Ernährung, körperliche Aktivität und die regelmässige Medikamenteneinnahme. In der Nachuntersuchung berichteten viele Patienten, über ihre Risikofaktoren noch aufgeklärter zu sein, und versuchten durch noch bewusstere Lebensweise, positiven Einfluss zu nehmen.

### **Ox-LDL-Ak**

In der Kontrollgruppe waren die gemessenen Ox-LDL-Ak Spiegel, wie bereits zuvor beschrieben (Pohlmeier 2000), bei den Männern signifikant höher als bei den Frauen. Diese Beobachtung ist nicht ohne weiteres zu erklären, denn nach Angaben des Herstellers, sowie nach den Ergebnissen einer bereits genannten Studie, die die Messwerte in der Normalbevölkerung untersuchte (Tinahones *et al.* 2007), sind hohe Ox-LDL-Ak Spiegel eher bei Frauen jüngeren Alters anzutreffen. Die Ox-LDL-Ak Werte bei männlichen Kontrollen zeigten eine erhebliche Streubreite. Ein Extremwert von über 19000 mU/ml wurde zur Sicherheit als möglicher Messfehler aus den Berechnungen herausgenommen.

Es zeigten sich in den vergleichenden Berechnungen zwischen Patienten und Kontrollen weder signifikante Unterschiede der Ox-LDL-Ak Spiegel im gesamten Kollektiv, noch nach geschlechterspezifischer Aufteilung. Auch eine im Ergebnisteil nicht aufgezeigte zusätzliche Berechnung unter Ausschluss aller Ox-LDL-Ak Extremwerte von über 2000 mU/ml zeigte keinen signifikanten Unterschied, keinen Trend oder eine Tendenz.

In der Vergangenheit zeigten große Studien einen deutlichen Zusammenhang zwischen koronarer Atherosklerose und erhöhten Ox-LDL-Ak-Titern (Bui *et al.* 1999, Lehtimaki *et al.* 1999), so dass wir, um eventuelle Unterschiede im Ox-LDL-Ak-Titer innerhalb verschiedener Risikogruppen aufzudecken (Diabetiker, Hypertoniker, Raucher, Patienten mit Hypercholesterinämie, Z.n. Apoplex oder Myokardinfarkt), weitere Ox-LDL-Ak Vergleiche innerhalb dieser Untergruppen vornahmen. Auch diese Tests zeigten keinerlei statistisch signifikanten Unterschied, auch nicht nach Trennung in Geschlechtergruppen. Damit weichen unsere Daten von den beschriebenen Studien ab. Unsere Ergebnisse stimmen auch nicht mit Untersuchungen überein, die deutlich erhöhte Ox-LDL-Ak-Titer bei Hypercholesterinämie und Nikotinabusus (Heitzer *et al.* 1996), sowie Rauchern ohne kardiovaskuläre Symptomatik nachweisen konnten (Fickl *et al.* 1996).

Erhöhte Ox-LDL-Ak-Titer wurden bereits als prädiktiv für von Myokardinfarkt und Mortalität (Wu *et al.* 1997), sowie für Re-Stenose nach PTCA bei KHK-Patienten (Georg *et al.* 1999) beschrieben, was durch unsere Ergebnisse ebenfalls nicht nachzuvollziehen ist. In diesem Zusammenhang ist interessant, dass Patienten mit ausgedehnter Arteriosklerose der Carotisgefäße erhöhte Ox-LDL-Ak-Titer (Maggi *et al.* 1994) und Patienten mit peripherer Gefässerkrankung im frühen Stadium erhöhte Ox-LDL-Ak Werte (Bergmark *et al.* 1995) aufzeigten. Auch bezüglich einer Progression der Arteriosklerose der Carotis wurden erhöhte Ox-LDL-Ak-Titer schon früh als möglicher prädiktiver Marker beschrieben (Salonen *et al.* 1992).

Andererseits zeigen auch einige Veröffentlichungen keinerlei Zusammenhang oder sogar eine umgekehrte Korrelation zwischen Ox-LDL-Ak Spiegeln und atherosklerotischen Ereignissen, wobei insgesamt zu bedenken ist, dass negative Ergebnisse seltener Eingang in die Fachliteratur finden (The *PLoS Medicine* Editors 2009). So konnte bei symptomatischen KHK-Patienten mit und ohne arteriellen Hypertonus quantitativ kein signifikanter Unterschied bezüglich Ox-LDL-Ak festgestellt werden (Sherer *et al.* 2001). Auch zwischen gesunden Rauchern und

Nichtrauchern konnte bezüglich ihrer Ox-LDL-Ak keinerlei Unterschied festgestellt werden (Marangon *et al.* 1997), ebenso wenig wie zwischen Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie und einer altersentsprechenden Kontrollgruppe (Hulthe *et al.* 1998). In letzterer Studie hatten Patienten, die einen Myokardinfarkt in der Vorgeschichte hatten, sogar niedrigere Ox-LDL-Ak-Titer (IgM) als die restlichen Patienten und die Kontrollgruppe. Auch in einer Studie mit älteren Patienten nach zerebralen Schlaganfall wurden erniedrigte Ox-LDL-Ak-Titer beschrieben (Cherubini *et al.* 1997).

Veröffentlichungen die speziellen Bezug zu Ox-LDL-Ak bei atherosklerotischen Risikofaktoren nahmen, zeigen ebenfalls sehr unterschiedliche Untersuchungsergebnisse. Bei nicht insulinpflichtigen Diabetikern (NIDDM) fanden sich zwar erhöhte Ox-LDL-Ak-Titer im Vergleich zur Kontrollgruppe, jedoch konnte keine Korrelation mit vorhandener KHK oder diabetischer Nephropathie nachgewiesen werden (Leinonen *et al.* 1998). Eine prospektive Follow-up Studie über 10 Jahre konnte keinen Unterschied zwischen Patienten mit NIDDM und der Kontrollgruppe bezüglich der Ox-LDL-Ak-Titer, keinen Zusammenhang mit kardiovaskulären Ereignissen oder Arteriosklerose der Karotisarterien feststellen (Uusitupa *et al.* 1996). Eine 8 Jahres Follow-up Studie hat bei Patienten mit insulinpflichtigem Diabetes mellitus (IDDM), die eine KHK entwickelten, niedrigere Ox-LDL-Ak-Titer als in der Kontrollgruppe beschrieben (Lopes-Virella *et al.* 1999). In einer anderen Studie korrelierten Ox-LDL-Ak umgekehrt mit dem Krankheitsgrad des Diabetes mellitus. Bei diesen IDDM Patienten waren bei negativem Ox-LDL-Ak Nachweis spezifische Ox-LDL Immunkomplexe nachzuweisen (Festa *et al.* 1998). Die Kombination von niedrigen Ox-LDL-Ak Spiegeln und LDL-haltigen Antigen-Antikörperkomplexen wiederum gab eine Vorhersage bezüglich KHK-Inzidenz (Orchard *et al.* 1999). In einer grossen prospektiven Studie, die an die Framingham Studie angelehnt war, konnte eine hohe negative Korrelation korrelierender zwischen zunehmendem Alter und der Höhe der gemessenen Ox-LDL-Ak-Titer festgestellt werden (Wilson *et al.* 2006). Jedoch war in einem Beobachtungszeitraum von 8 Jahren keine Assoziation mit dem Erstauftreten einer KHK oder der Gesamtinzidenz von kardiovaskulären Ereignisse festzustellen. Diese Ergebnisse wurden kontrovers diskutiert, da Tinahones *et al.* in einer grossen epidemiologischen Studie einen umgekehrten, altersabhängigen Ox-LDL-Ak-Titer messen konnte (Tinahones *et al.* 2005). In dieser Studie waren Ox-LDL-Ak-Titer von 16-35 jährigen Personen höher

als die Spiegel von über 35-jährigen Personen. Dieser Unterschied war deutlich ausgeprägter bei der weiblichen Studienpopulation. Die Autoren führen diese gegensätzlichen Ergebnisse auf die Unterschiede in den angewandten Messmethoden und Studienpopulationen zurück (Tinahones et al. 2007). Wichtig sind hierbei die Ergebnisse einer Studie, die Ox-LDL-Ak-Titer von gesunden 17- bis 25-jährigen Probanden mit denen von 45- bis 65-jährigen Probanden verglichen, die jeweils einen normalen Echokardiografiebefund, normale Blutzuckerwerte und ein unauffälliges Belastungs-EKG aufwiesen (Karabinos & Koulouris 2007). Die junge gesunde Probandengruppe hatte signifikant höhere Ox-LDL-Ak-Titer als die ältere Gruppe. Während in der jüngeren Gruppe die Ox-LDL-Ak-Titer positiv mit LDL Spiegeln und negativ mit HDL und dem assoziierten Apo-A I korrelierten, war dieser Effekt in der Gruppe der Älteren nicht darstellbar. Die Autoren schlussfolgerten, dass jüngere Menschen eine ausgeprägtere humorale Immunität und damit eine entsprechend höhere Ox-LDL-Ak-Titer zur Folge haben, während ältere Menschen mit generell schwächerer Immunkompetenz weniger Antikörper bilden. Im höheren Alter und fortgeschrittenem Atheroskleroseprozess könnte dieser immunitätsbedingte Effekt weniger bedeutend und deshalb weniger ausgeprägt sein. Dies könnte wiederum erklären warum in der älteren Studienpopulation keine Assoziation von Ox-LDL-Ak-Titer mit Hypercholesterinämie, positiver Familienanamnese für KHK und Nikotinabusus festzustellen war. Es ist ebenfalls vorstellbar, dass in der Frühphase der Atherosklerose die humorale Immunität, die in jüngerem Lebensalter stärker ausgebildet ist, eine entscheidende Rolle spielt. Die Tatsache, dass die Qualität und Quantität der Immunantwort in direktem Zusammenhang mit der Atherosklerose steht, lieferte eine plausible Erklärung für erniedrigte Ox-LDL-Titer im Vergleich zur Kontrollgruppe und wird durch viele Arbeiten unterstützt. Hansson & Libby bezeichneten die Immunmechanismen der Artherosklerose als doppel-schneidiges Schwert, weil diese sowohl protektiv als auch artherogen wirken können (Hansson & Libby 2006).

Eine weitere Erklärung für den Zusammenhang zwischen der Höhe des zirkulierenden Ox-LDL und der Ox-LDL-Ak kam von einer japanischen Arbeitsgruppe, die bei gesunden Probanden eine umgekehrte Beziehung zwischen dem Ox-LDL und Ox-LDL-Ak fanden (Shoji *et al.* 2000). In dieser Arbeit vertreten die Autoren die These, dass Ox-LDL-Ak durch Bindung an Ox-LDL aus dem Blutkreislauf entfernt werden könnte, und man deshalb hohe Ox-LDL-Ak-Titer bei

Personen mit niedrigem Ox-LDL finden würde. Unterstützt wird diese These durch Messungen an Patienten mit arterieller Borderline Hypertonie, bei denen pathophysiologischerweise frühe Arteriosklerosestadien vorlagen (Wu *et al.* 1999). Ox-LDL-Ak waren hier im Vergleich zur Kontrollgruppe erniedrigt, was unter anderem damit erklärt wird, dass bereits gebildete Ox-LDL-Ak an Antigene in artherosklerotischen Läsionen gebunden sind und somit nicht mehr im Blutkreislauf nachzuweisen seien. Auch in den Korrelationsuntersuchungen von Ox-LDL-Ak und anderen artherogenen Risikofaktoren war in unserer Kontrollgruppe eine inverse Korrelation von Gesamtcholesterin und tendenziell auch von LDL mit Ox-LDL-Ak zu sehen, so dass man argumentieren könnte, dass auch in unserer Studienpopulation eine Antikörperbindung vorlag.

Mittlerweile ist auch klar geworden, dass die Hauptursache der Unterschiede der verschiedenen Studienergebnissen und die damit enttäuschende Vorhersagekraft als Biomarker für Artherosklerose durch die Bildung von Ox-LDL-Ak zu Immunkomplexen zu liegen scheint (Lopes-Virella & Virella 2010). Die Interferenz von zirkulierenden modifizierten Lipoproteinkomplexen wurde in Studien dieser Arbeitsgruppe belegt (Virella & Lopes-Virella 2003; Mironova *et al.* 1997, Lopes-Virella *et al.* 1999). Dieselben Autoren haben auf die Bedeutung von einheitlichen Assays, vorzugsweise einem internationalen „Goldstandard“ hingewiesen, da die Immunkomplexbildung logischerweise das beschriebene inverse Verhältnis von Ox-LDL und Ox-LDL-Ak (Shoji *et al.* 2000) am wahrscheinlichsten erklären dürfte.

Eine definitive Klärung der Bedeutung von Ox-LDL-Ak als möglicher Biomarker lässt sich demnach nur durch die Verwendung von standardisierten Assays, vorzugsweise in grossen prospektiven Studien, ermitteln.

Die Beobachtung einer positiven Korrelation Ox-LDL-Ak und Homozystein in unserer Patientengruppe könnten einen interessanten Hinweis auf einen möglichen pathophysiologischen Zusammenhang aufzeigen. Erhöhte Homozysteinspiegel erhöhen das Risiko von Atherosklerose, Myokardinfarkt und Schlaganfall (Wald *et al.* 2002; Castro *et al.* 2006). Homozystein fördert die Atherosklerose auf unterschiedliche Weise, unter anderem durch eine Induktion von oxidativem Stress (Jakubowski 2006; Wald *et al.* 2004). Hohe Homozysteinspiegel gingen in mehreren Studien mit hohen Ox-LDL Spiegel, mit einem erhöhtem kardiovaskulärem Risiko (Seo *et al.* 2010; Mansoor *et al.* 2000) und, wie in unserer Studie, mit erhöhten Ox-LDL-AK (Faviou *et al.* 2005) einher.

## 5. Zusammenfassung

Die Lipidperoxidation spielt eine zentrale Rolle in der Atherogenese. Antikörper gegen oxidiertes LDL (Ox-LDL-Ak) werden als ein diagnostischer Marker für die Atherosklerose-Progression diskutiert. Zahlreiche Arbeiten zeigen einen Zusammenhang von Ox-LDL-Ak-Titer mit artherosklerotischen Erkrankungen und deren Fortschreiten, während andere Arbeiten diesen Zusammenhang nicht beweisen konnten.

In dieser Arbeit wurde der Ox-LDL-Ak-Titer von 258 Patienten mit einer koronaren Herzkrankheit, die im Jahr 1998 zu einer diagnostischen oder interventionellen Koronarangiographie kamen, mit denen von 200 gesunden Blutspendern verglichen. Zusätzlich wurden Lipidparameter zwischen den Probanden und Kontrollen vergleichend dargestellt. Das Ziel der vorliegenden Arbeit war zu prüfen, ob ein Zusammenhang zwischen Ox-LDL-Ak, Lipidparametern und dem Ausmaß der Atherosklerose besteht, um Ox-LDL-Ak als möglichen diagnostischen Marker für artherosklerotische Erkrankungen zu verifizieren.

Die Lipidparameter, die mit atherosklerotischen Ereignissen assoziiert sind, waren tendenziell in unserer Patientengruppe erhöht vorzufinden, obwohl die Einnahme von cholesterinsenkenden Medikamenten eine vorbestehende Hyperlipoproteinämie potentiell bereits beeinflusst hatten. Während weitere typische Risikofaktoren wie ein ungünstiger Apolipoprotein-E Genotyp, Rauchen, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus sowie eine positive Familienanamnese bei den Patienten anzutreffen waren, konnte kein signifikanter Unterschied im Ox-LDL-Ak-Titer zwischen den Patienten und Kontrollen festgestellt werden. Hypothetisch könnten diese Ergebnisse durch eine stärkere Immunkompetenz der jüngeren Kontrollgruppe und damit der schwächeren humoralen Immunität der älteren Patientengruppe erklärt sein.

Abschließend kann man feststellen, dass unsere Ergebnisse es nicht erlauben, einen Zusammenhang zwischen Ox-LDL-Ak und Atheroskleroseentstehung herzustellen. Es bedarf weiterer kontrollierter, prospektiver Studien mit ausreichender Fallzahl, standardisierten Ox-LDL-Ak Assays und breiter Erfassung der bisher bekannten Risikofaktoren, um den Stellenwert von Ox-LDL-Ak an dem Atheroskleroseprozess näher zu definieren.

## Abkürzungen

Ox-LDL-Ak	Antikörper gegen oxidiertes LDL
Acyl-Co-A (ACAT)	Cholesterin-Acyltransferase
AGE	advanced glycation endproducts
AH	Antioxidantien
Apo	Apolipoprotein
BMI	Body-mass-Index
CETP	Cholesterinester-Transfer-Protein
FS	Fettsäure
HDL	High-density-Lipoproteine
HMG-CoA-Reduktase	$\beta$ -Hydoxy- $\beta$ -methyl-glutaryl-CoenzymA-Reduktase
4-HNE	4-Hydroxynonenal
IDL	Intermediate-density-Lipoproteine
LCAT	Lecithin-Cholesterol-Acyl-Transferase
LDL	Low-density-Lipoproteine
Lp(a)	Lipoprotein(a)
LPL	Lipoproteinlipasen
LPO	Lipidperoxidation
LRP	LDL-receptor-related-protein
MCP-1	Monocyte-Chemotactic-Protein-1
MCSF	Monocyte-Colony-Stimulating-Factor
MDA	Malondialdehyde
MI	Myokardinfarkt
MM-LDL	minimal oxidiertes LDL
NIDDM	nicht insulinpflichtiger Diabetes mellitus
TBARS	Thiobarbitursäure reaktive Substanzen
TG	Triglyzeride
VCAM-1	Vascular-Cell-Adhesion-Molecule-1
VLDL	Very-low-density-Lipoproteine
Ak-MDA-LDL	Antikörper gegen malondialdehyd-modifizierte LDL
PUFA	Polyunsaturated fatty acid
PRIND	prolongiertes reversibles ischämisches neurologisches Defizit

## Literaturverzeichnis

ALLHAT Officers and Coordinators for the ALLHAT Collaborative Research Group. Major outcomes in high-risk hypertensive patients randomized to angiotensin-converting enzyme inhibitor or calcium channel blocker vs diuretic: The Antihypertensive and Lipid-Lowering Treatment to Prevent Heart Attack Trial (ALLHAT) *JAMA* 288:2981-2997; **2002**

Almgren T, Persson B, Wilhelmsen L, Rosengren A, Andersson OK. Stroke and coronary heart disease in treated hypertension -- a prospective cohort study over three decades. *J Intern Med* 257:496-502; **2005**

Anitschkoff N. Über die Veränderung der Kaninchenaorta bei experimenteller Cholesterinsteatose. *Beiträge zur pathologischen Anatomie und zur allgemeinen Pathologie* 56:376-404; **1913**

Araín FA, Kuniyoshi FH, Abdalrhim AD, Miller VM. Sex/gender medicine. The biological basis for personalized care in cardiovascular medicine. *Circ J* 73:1774-1782; **2009**

Assmann G, Schulte H. PROCAM Trial. Hedingen-Zürich, Conscientia; **1986**

Assman G. Primärprevention, Diagnostik und Therapie-Leitlinien für die Praxis. *Fettstoffwechsel und koronare Herzkrankheit*, MMV Medizinverlag München; **1988**

Assmann G, Schulte H. Ergebnisse und Folgerungen aus der prospektiven kardio-vaskulären Münster-Studie. *Fettstoffwechselstörungen und koronare Herzkrankheit*, MMV-Medizinverlag München: 97-131; **1988**

Assmann G, Schulte H. Relation of high-density lipoprotein cholesterol and triglycerides to incidence of atherosclerotic coronary artery disease (the PROCAM experience). Prospective Cardiovascular Munster Study. *Am J Cardiol* 70:733-737; **1992**

Autio I, Jaakkola O, Solakivi T, Nikkari T. Oxidized low-density lipoprotein is chemotactic for arterial smooth muscle cells in culture. *FEBS Lett* 277:247-249; **1990**

Babiy AV, Gebicki JM, Sullivan DR. Vitamin E content and low-density lipoprotein oxidizability induced by free radicals. *Atherosclerosis* 81:175-182; **1990**

Balada E, Ordi-Ros J, Matas L, Mauri M, Buján S, Vilardell-Tarrés M. Atherosclerosis and anti-oxidized low density lipoprotein antibodies in an elderly population (Artikel in Spanisch). *Med Clin (Barc)* 119:161-165; **2002**

Basu SK, Brown MS, Ho YK, Havel RJ, Goldstein JL. Mouse macrophages synthesize and secrete a protein resembling apolipoprotein E. *Proc Natl Acad Sci USA* 78:7545-7549; **1981**

Basu SK, Goldstein JL, Brown MS. Independent pathways for secretion of cholesterol and apolipoprotein E by macrophages. *Science* 219:871-873; **1983**



Beaglehole R. International trends in coronary heart disease mortality, morbidity and risk factors. *Epidemiol Rev* 12:1-15; **1990**

Beckman Array Systeme, Betriebsanleitung Beckman Array 360. Beckman Instruments; **1996**

Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitrit oxide and superoxide. *Proc Natl Acad Sci USA* 87:1620-1624; **1990**

Beisiegel U. Lipoprotein(a) - ein Risikofaktor für Atherosklerose. *Lipid aktuell* 1:1-5; **1990**

Beisiegel U, Weber W, Bengtsson-Olivecrona G. Lipoprotein lipase enhances the binding of chylomicrons to low density lipoprotein receptor-related protein. *Proc Natl Acad Sci* 88:8342-8346; **1991**

Beisiegel U. Receptors for triglyceride-rich lipoproteins and their role in lipoprotein metabolism. *Curr Opin Lipidol* 6:117-122; **1995**

Beisiegel U. Lipoprotein Metabolism. *Eur Heart J* 19 Suppl:A20-A23; **1998**

Belkner J, Wiesner R, Rathman J, Barnett J, Sigal E, Kühn H. Oxygenation of lipoproteins by mammalian lipoxygenases. *Eur J Biochem* 213:251-261; **1993**

Berg K. A new serum type system in man-the Lp-system. *Acta Pathol Microbiol Scand* 59:369-382; **1963**

Bergmark C, Wu R, de Faire U, Lefvert AK, Swedenborg J. Patients with early-onset peripheral vascular disease have increased levels of autoantibodies against oxidized LDL. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:441-445; **1995**

Berliner JA, Haberland ME. The role of oxidized low-density lipoprotein in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 4:373-381; **1993**

Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, Watson AD, Lusis AJ. Atherosclerosis: basic mechanism. Oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation* 91:2488-2496; **1995**

Bertelli AA. Wine, research and cardiovascular disease: Instructions for use. *Atherosclerosis* 195:242-247; **2007**

Boerwinkle E, Leffert CC, Lin J, Lackner C, Chiesa G, Hobbs HH. Apolipoprotein(a) gene accounts for greater than 90% of the variation in plasma lipoprotein (a) concentrations. *J Clin Invest* 90:52-60; **1992**

Bookstein L, Gidding SS, Donovan M, Smith FA. Day-to-day variability of serum cholesterol, triglyceride, and high-density lipoprotein cholesterol levels. Impact on the assessment of risk according to the National Cholesterol Education Program guidelines. *Arch Intern Med* 150:1653-1657; **1990**

- Bräsen JH, Niendorf A. Atherosklerose – Formale Pathogenese, Klassifikation und funktionelle Bedeutung. *Pathologe* 18:218-227; **1997**
- Brown MS, Goldstein JL. Familial hypercholesterolemia: Defective binding of lipoproteins to cultured fibroblast associated with impaired regulation of 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl coenzyme A reductase activity. *Proc Natl Acad Sci* 3:788-792; **1974**
- Brown MS, Goldstein JL. Regulation of the activity of the LDL receptor in human fibroblasts. *Cell* 6:307-316; **1975**
- Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 232:34-47; **1986**
- Brown MS, Goldstein JL. Teaching old dogmas new tricks. *Nature* 83:113-114; **1987**
- Bui MN, Sack MN, Moutsatsos G, Lu DY, Katz P, McCown R, Breall JA, Rackley CE. Autoantibody titers to oxidized low density lipoprotein in patients with coronary atherosclerosis. *Am Heart J* 131:663-667; **1996**
- Burstein M, Scholnick HR, Morfix R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res* 11:583-595; **1970**
- Castro R, Rivera I, Blom HJ, Jakobs C, Tavares de Almeida I. Homocysteine metabolism, hyperhomocystenemia and vascular disease: an overview. *J Inherit Metab Dis* 29:3-20. **2006**
- Cathcart MK, McNally AK, Morel DW, Chrisolm GM 3rd. Superoxide anion participation in human monocyte-mediated oxidation of low-density lipoprotein and conversion of low-density lipoprotein to a cytotoxin. *J Immunol* 142:1963-1969; **1989**
- Cherubini A, Mecocci P, Senin U. Autoantibodies against low density lipoprotein in older stroke patients. *J Am Geriatr Soc* 45:125; **1997**
- Chisolm GM, Morel DW. Lipoprotein oxidation and cytotoxicity: Effect of probucol on streptozotocin-treated rats. *Am J Cardiol* 62:20B-26B; **1988**
- Colditz GA, Willett WC, Stampfer MJ, Rosner B, Speizer FE, Hennekens CH. Menopause and the coronary heart disease in women. *N Eng J Med* 316:1105-1110; **1987**
- Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, Godwin J, Qizilbash N, Taylor JO, Hennekens CH. Blood pressure, stroke and coronary heart disease. Part 2, Short term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet* 335:827-838; **1990**
- Cox RA, García-Palmieri MR. Cholesterol, Triglycerides, and Associated Lipoproteins. In: Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations. 3rd edition. Walker HK, Hall WD, Hurst JW, editors. Boston: Butterworths; **1990**

Cremer P, Nagel D, Labrot B, Muche R, Elster H, Mann H, Seidel D. Göttinger Risiko-, Inzidenz- und Prävalenzstudie (GRIPS). Springer, Berlin, Heidelberg, New York; **1991**

Dahlof B, Lindholm LH, Hansson L, Scherstén B, Ekblom T, Wester PO. Morbidity and mortality in the Swedish Trial in Old Patients with Hypertension (STOP-Hypertension) *Lancet* 338:1281-1285; **1991**

Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 102: 1082-1085; **2000**

Danesh J, Wheeler JG, Hirschfield GM, Eda S, Eiriksdottir G, Rumley A, Lowe GD, Pepys MB, Gudnason V. C-reactive protein and other circulating markers of inflammation in the prediction of coronary heart disease. *N Engl J Med* 350:1387-1397; **2004**

Darley-Usmar VM, Hogg N, O'Leary VJ, Wilson MT, Moncada S. The simultaneous generation of superoxide and nitric oxide can initiate lipid peroxidation in human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 17: 9-20; **1992**

Daugherty A, Roselaar SE. Lipoprotein oxidation as a mediator of atherogenesis: insights from pharmacological studies. *Cardiovasc Res* 29:297-311; **1995**

Davies KJA. Oxidative stress: the paradox of aerobic life. *Biochem Soc Symp* 61:1-31; **1995**

Dawber TR. The Framingham Study: The epidemiology of atherosclerotic disease. Cambridge, Mass.: Harvard Univ.; **1980**

De Graf J, Hak-Lemmers HL, Hectors MP, Demacker PN, Hendriks JC, Stalenhoef AF. Enhanced susceptibility to *in vitro* oxidation of the dense low density lipoprotein subfraction in healthy subjects. *Arteriosclerosis Thromb* 11:298-306; **1991**

de Lorgeril M, Salen P. The Mediterranean-style diet for the prevention of cardiovascular diseases. *Public Health Nutr* 9:118-123; **2006**

Eisenberg S. High density lipoprotein metabolism. *J Lipid Research* 25:1017-1057; **1984**

Emerging Risk Factors Collaboration, Erqou S, Kaptoge S, Perry PL, Di Angelantonio E, Thompson A, White IR, Marcovina SM, Collins R, Thompson SG, Danesh J. Lipoprotein(a) concentration and the risk of coronary heart disease, stroke, and nonvascular mortality. *JAMA* 302(4):412-423; **2009**

Esterbauer H, Striegl G, Puhl H, Rotheneder M. Continuous monitoring of *in vitro* oxidation of human low density lipoprotein. *Free Radic Res Commun* 6:67-75; **1989**

Esterbauer H., Gebichi J., Puhl H., Jürgens G. The role of lipid peroxidation and antioxidants in the oxidative modification of LDL. *Free radical biology & medicine* 13:341-390; **1992**

Esterbauer H, Ramos P. Chemistry and pathophysiology of oxidation of LDL; *Rev Physiol Biochem Pharmacol* 31-64; **1995**

Expert panel of the National Cholesterol Education Program. Report of the national cholesterol education program expert panel on detection, evaluation, and treatment of high blood cholesterol in adults. *Arch Intern Med* 148:36-69; **1988**

Faggiotto A, Ross R, Harker L. Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate. I. Changes that lead to fatty streak formation. *Atherosclerosis* 4:323-340; **1984**

Faggiotto A, Ross R. Studies of hypercholesterolemia in the nonhuman primate. II. Fatty streak conversion to fibrous plaque. *Atherosclerosis* 4:341-356; **1984**

Faviou E, Vourli G, Nounopoulos C, Zachari A, Dionyssiou-Asteriou A. Circulating oxidized low density lipoprotein, autoantibodies against them and homocysteine serum levels in diagnosis and estimation of severity of coronary artery disease. *Free Radic Res* 39:419-429; **2005**

Festa A, Kopp HP, Schernthaner G, Menzel EJ. Autoantibodies to oxidised low density lipoproteins in IDDM are inversely related to metabolic control and microvascular complications. *Diabetologia* 41:350-356; **1998**

Fickl H, Van Antwerpen VL, Richards GA, Van der Westhuyzen DR, Davies N, Van der Walt R, Van der Merwe CA, Anderson R. Increased levels of autoantibodies to cardiolipin and oxidized low density lipoprotein are inversely associated with vitamin c status in cigarette smokers. *Atherosclerosis* 124:75-81; **1996**

Fraser GE. Preventive cardiology. Oxford university press, New York **1986**

George J, Harats D, Bakshi E, Adler Y, Levy Y, Gilburd B, Shoenfeld Y. Anti-oxidized low density lipoprotein antibody determination as a predictor of restenosis following percutaneous transluminal coronary angioplasty. *Immunol Lett* 68:263-266; **1999**

Goldstein JL, Brown MS. The low density lipoprotein pathway and its relation to atherosclerosis. *Annu Rev Biochem* 46:897-930; **1977**

Goldstein J, Ho YK, Basu SK, Brown MS. Binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low density lipoprotein, producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci* 76:333-337; **1979**

Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 343:425-430; **1990**

Gordon T, Kannel WB. Drinking and mortality. The Framingham study. *Am J Epidemiol* 120: 97-107; **1984**

Greenwood J, Mason JC. Statins and the vascular endothelial inflammatory response. *Trends Immunol* 28:88-98; **2007**

- Grady D. Postmenopausal Hormones - Therapy for symptoms only. *N Engl J Med* 348:1835-1837; **2003**
- Grundy SM. Pathogenesis of hyperlipoproteinemia. *Journal of Lipid Research* 25:1611-1618; **1984**
- Heart Protection Study Collaborative Group. MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet* 360:7-22; **2002**
- Halliwell B, Gutteridge JMC. Free radicals in biology and medicine. 2nd Ed. Clarendon press, Oxford; **1989**
- Hanefeld M. Fettstoffwechselstörungen, Gustav Fischer Verlag Jena, 3. Auflage; **1999**
- Hansson GK, Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nature Reviews Immunity* 6:508-519; **2006**
- Hauner H. Ernährung und metabolisches Syndrom. *Internist* 36:1040-1045; **1995**
- Hayashi O. Molecular Mechanism of Oxygen Activation; Academic Press, New York and London; **1974**
- Heinecke JW, Baker L, Rosen H, Chait A. Superoxide-mediated modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cell. *J Clin Invest* 77:757-761; **1986**
- Heinecke JW, Kawamura M, Suzuki L, Chait A. Oxidation of low density lipoprotein by thiols: superoxide-dependent and -independent mechanisms. *J Lipid Res* 34:2051-2061; **1993**
- Heitzer T, Ylä-Herttuala S, Luoma J, Kurz S, Munzel T, Just H, Olschewski M, Drexler H. Cigarette smoking potentiates endothelial dysfunction of forearm resistance vessels in patients with hypercholesterolemia. Role of oxidized LDL. *Circulation* 93:1346-1353; **1996**
- Hennekens CH, Rosner B, Cole DS. Daily alcohol consumption and fatal coronary heart disease. *Am J Epidemiol* 107:196-200; **1978**
- Henriksen T, Evensen SA, Carlander B. Injury to human endothelial cells in culture induced by low-density lipoproteins. *Scan J Clin Lab Invest* 39:361-368; **1979**
- Hessler JR, Morel DW, Lewis LJ, Chisolm GM. Lipoprotein oxidation and lipoprotein-induced cytotoxicity. *Atherosclerosis* 3:215-222; **1994**
- Hixson JE, Vernier DT. Restriction isotyping of human apolipoprotein E by gene amplification and cleavage with HhaI. *J Lipid Res.* 31:545-8; **1990**

Holme I, Enger SC, Helgeland A, Hjermmann I, Leren P, Lund-Larsen PG, Solberg LA, Strong JP. Risk factors and raised atherosclerotic lesions in coronary and cerebral arteries. Statistical analysis from the Oslo Study, *Atherosclerosis* 1:250-256; **1981**

Huang Y, Schwendner SW, Rall SC, Mahley RW. Hypolipidemic and hyperlipidemic phenotypes in transgenic mice expressing human apolipoprotein E2. *J Biol Chem* 271: 29146-51; **1996**

Hulley S, Grady D. Postmenopausal hormone treatment. *JAMA* 301:2493–2495; **2009**

Hulthe J, Wikstrand J, Lidell A, Wendelhag I, Hansson GK, Wiklund O. Antibody titers against oxidized LDL are not elevated in patients with familial hypercholesterolemia. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 18:1203–1211; **1998**

Ingaram LL & Meyer DL. Biochemistry of Dioxygen; Plenum Press New York and London; **1985**

Jakubowski H. Pathophysiological consequences of homocysteine excess. *J Nutr* 136:1741S-1749S. **2006**

Jessup W, Rankin SM, De Whalley CV, Hoult JS, Scott J, Leake DS. Alpha-Tocopherol consumption during low-density lipoprotein oxidation. *Biochem J* 265:399-405; **1990**

Jessup W. Oxidized lipoproteins and nitric oxide. *Curr Opinion Lipidol* 7:274-280; **1996**

Kagan A, Harris BR, Winkelstein W Jr, Johnson KG, Kato H, Syme SL, Rhoads GG, Gay ML, Nichaman MZ, Hamilton HB, Tillotson J. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California: Demographic, physical, dietary and biochemical characteristics. *J Chronic Dis* 27:345-364; **1974**

Kane JP, Hardmann DA, Paulus HE. Heterogeneity of apolipoprotein B: isolation of a new species of human chylomicrons. *PNAS* 77:2465-2469; **1980**

Kannel WB. An overview of the risk factors for cardiovascular disease. In: Prevention of coronary heart disease: practical management of the risk factors. Saunders, Philadelphia **1983**

Kannel WB, Wolf PA, Castelli WP, D'Agostino RB. Fibrinogen and risk of cardiovascular disease. *JAMA* 258:1183-1186; **1987**

Karabinos I, Koulouris S. Increased serum titers of autoantibodies against oxidized LDL cholesterol in young healthy adults. *Artherosclerosis* 192:448-450; **2007**

Karvonen J, Paivansalo M, Kesaniemi YA, Horkko S. Immunoglobulin M type of autoantibodies to oxidized low-density lipoprotein has an inverse relation to carotid artery atherosclerosis. *Circulation* 108: 2107–2112; **2003**

Kato H, Tillotson J, Nichaman MZ, Rhoads GG, Hamilton HB. Epidemiologic studies of coronary heart disease and stroke in Japanese men living in Japan, Hawaii and California. *Am J Epidemiol* 97: 372-385; **1973**

Kayden HJ, Maschio F, Traber MG. The secretion of apolipoprotein E by human monocyte-derived macrophages. *Arch Biochem Biophys* 239:388-395; **1985**

Keller C, Zöllner N. Serumcholesterinkonzentration und Stoffwechsel; in Schwandt P, Richter WO. *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer Verlag Stuttgart:146; **1995**

Keys A, Taylor HL, Blackburn H, Brozek J, Anderson JT, Simonson E. Mortality and coronary heart disease among men studied for 23 years. *Arch Intern Med* 128: 201-214; **1971**

Keys A. Coronary heart disease - the global picture. *Atherosclerosis* 22:149-212; **1975**

Koschinsky ML, Beisiegel U, Henne-Bruns D, Eaton DL, Lawn RM. Apolipoprotein(a) size heterogeneity is related to variable number of repeat sequences in its mRNA. *Biochemistry* 29:640-644; **1990**

Kostner GM, Avogaro P, Cazzolato G, Marth E, Bittolo-Bon G, Qunici GB. Lipoprotein Lp(a) and the risk for myocardial infarction. *Atherosclerosis* 38:51-61; **1981**

Kostner GM. Lipoprotein(a) und das fibrinolytische System. *Hämostasiologie* 12:17-22; **1992**

Kostner GM, März W. Zusammensetzung und Stoffwechsel der Lipoproteine. In: *Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer Verlag Stuttgart:28-31; **1995**

Kosugi K, Morel DW, DiCorleto PE, Chisolm GM. Toxicity of oxidized LDL to cultured fibroblasts is selective for S phase of the cell cycle. *J Cell Physiol* 130:311-320; **1987**

Kritharides L, Jessup W, Mander EL, Dean RT. Apolipoprotein A-I mediated efflux of sterols from oxidized LDL-loaded macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 15:276-89; **1995**

Kugiyama K, Kerns SA, Morrisett JD, Roberts R, Henry PD. Impairment of endothelium-dependent arterial relaxation by lysolecithin in modified low-density lipoproteins. *Nature* 344:160-162; **1990**

Kuzuya M, Naito M, Funaki C, Hayashi T, Asai K, Kuzuya F. Lipid peroxide and transition metals are required for the toxicity of oxidized low density lipoprotein to cultured endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* 1096:155-161; **1991**

- Lahera V, Goicoechea M, de Vinuesa SG, Miana M, de las Heras N, Cachofeiro V, Luno J. Endothelial dysfunction, oxidative stress and inflammation in atherosclerosis: beneficial effects of statins. *Curr Med Chem* 14:243-248; **2007**
- Lande KE, Sperry WM. Human atherosclerosis in relation to the cholesterol content of the blood serum. *Arch Path* 22:301; **1936**
- Landmesser U, Harrison DG. Oxidant stress as a marker for cardiovascular events: Ox marks the spot. *Circulation* 104:2638-40; **2001**
- LaRosa JC, Levy RI, Herbert P, Lux SE, Fredrickson DS. A specific apoprotein activator for lipoprotein lipase. *Biochem Biophys Res Commun* 41:57-62; **1970**
- Lehtimäki T, Lehtinen S, Solakivi T, Nikkila M, Jaakkola O, Jokela H, Ylä-Herttuala S, Luoma JS, Koivula T, Nikkari T. Autoantibodies against oxidized low density lipoprotein in patients with angiographically verified coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 19:23-27; **1999**
- Leinonen JS, Rantalaiho V, Laippala P, Wirta O, Pasternack A, Alho H, Jaakkola O, Ylä-Herttuala S, Koivula T, Lehtimäki T. The level of autoantibodies against oxidized LDL is not associated with the presence of coronary heart disease or diabetic kidney disease in patients with non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Free Radic Res* 29:137-141; **1998**
- Leschke M, Strauer BE. Hyperlipoproteinämie und Hyperfibrinogenämie. *Hämostasiologie* 12:11-16; **1992**
- Levy RI. Primary prevention of coronary heart disease by lowering lipids: results and implications. *Am Heart J* 110:1116-1122; **1985**
- Levy D, Kannel WB. Cardiovascular risks: new insights from Framingham. *Am Heart J* 116:266-272; **1988**
- Li JM, Mukamal KJ. An update on alcohol and atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 15:673-680; **2004**
- Liuzzo G, Biasucci LM, Gallimore JR, Grillo RL, Rebuffi AG, Pepys MB, Maseri A. The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. *N Engl J Med* 331:417-424; **1994**
- Löffler G, Petrides P. *Biochemie & Pathobiochemie*. Springer Verlag Berlin, Heidelberg, **1998**
- Lopes-Virella MF, Virella G, Orchard TJ, Koskinen S, Evans RW, Becker DJ, Forrest KY. Autoantibodies to oxidized LDL and LDL-containing immune complexes as risk factors for coronary artery disease in diabetes mellitus. *Clin Immunol* 90:165-172; **1999**
- Lopes-Virella MF, Virella G. Clinical significance of the humoral immune response to modified LDL. *Clin Immunol* 134:55-65; **2010**



- Lund-Katz S, Liu L, Thuahnai ST, Phillips MC. High density lipoprotein structure. *Front Biosci* 8:d1044-d1054; **2003**
- Lyons TJ. Glycation and oxidation: A role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Am J Cardiol* 71:26-31B; **1993**
- Maggi E, Chiesa R, Melissano G, Castellano R, Astore D, Grossi A, Finardi G, Bellomo G. LDL oxidation in patients with severe carotid atherosclerosis: a study in vitro and in vivo oxidation markers. *Arterioscler Thromb* 14:1892-1899; **1994**
- Mahley RW, Innerarity TL, Bersot TP, Lipson A, Margolis S. Alterations in human high-density lipoproteins, with or without increased plasma cholesterol, induced by diets high in cholesterol. *Lancet* 2:807-809; **1978**
- Mansoor MA, Bergmark C, Haswell SJ, Savage IF, Evans PH, Berge RK, Svardal AM, Kristensen O. Correlation between plasma total homocysteine and copper in patients with peripheral vascular disease. *Clin Chem* 46:385-391; **2000**
- Marangon K, Herbeth B, Artur Y, Esterbauer H, Siest G. Low and very low density lipoprotein composition and resistance to copper-induced oxidation are not notably modified in smokers. *Clin Chim Acta* 265:11-12; **1997**
- Marcovina SM, Morisett JD. Structure and metabolism of lipoprotein(a). *Curr Opin Lipidol* 6:136-145; **1995**
- Martin MJ, Hulley SB, Browner WS, Kuller LH, Wentworth D. Serum cholesterol, blood pressure, and mortality: implications from a cohort of 361.662 men. *Lancet* 2:933-936; **1986**
- McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 56 :111-128; **1969**
- McCully KS. Homocysteine and vascular disease. *Nat Med* 2:386-389; **1996**
- Meade TW, Mellows S, Brozovic M, Miller GJ, Chakrabarti RR, North WR, Haines AP, Stirling Y, Imeson JD, Thompson SG. Haemostatic function and ischaemic heart disease: principal results of the Northwick Park Heart Study. *Lancet* 2:533-537; **1986**
- Menzel HJ, Dieplinger H, Lackner C, Hoppichler F, Lloyd JK, Müller DR, Talmud PJ, Utermann G. Abetalipoproteinemia with an ApoB-100-lipoprotein(a) glycoprotein complex in plasma. Indication for an assembly defect. *J Biol Chem* 265:981-986; **1990**
- Mironova M, Virella G, Virella-Lowell, Lopes-Virella MF. Anti-modified LDL antibodies and LDL-containing immune complexes in IDDM patients and healthy controls. *Clin Immunol Immunopathol* 85:73-82; **1997**
- Morel DW, Chisolm GM. Antioxidant treatment of diabetic rats inhibits lipoprotein oxidation and cytotoxicity. *J Lipid Res* 30:1827-1834; **1989**

- Muscat JE, Harris RE, Haley NJ, Wynder EL. Cigarette smoking and plasma cholesterol. *Am Heart J* 121:141-147; **1991**
- Nagy L, Tontonoz P, Alvarez JG, Chen H, Evans RM. Oxidized LDL regulates macrophage gene expression through ligand activation of PPARgamma. *Cell* 93:229-40; **1998**
- Navab M, Imes SS, Hama SY, Hough GP, Ross LA, Bork LA, Valente AJ, Berliner JA, Drinkwater DC, Laks H. Monocyte transmigration induced by modification of low density lipoprotein in cocultures of human aortic wall cells is due to induction of monocyte chemotactic protein 1 synthesis and is abolished by high density lipoprotein. *J Clin Invest* 88:2039-2046; **1991**
- Orchard TJ, Virella G, Forrest KY, Evans RW, Becker DJ, Lopes-Virella MF. Antibodies to oxidized LDL predict coronary artery disease in type 1 diabetes: a nested case-control study from the Pittsburgh Epidemiology of Diabetes Complications Study. *Diabetes* 48:1454-1458; **1999**
- Palinski W, Rosenfeld ME, Ylä-Herttuala S, Gurtner GC, Socher SA, Butler SW, Parthasarathy S, Carew TE, Steinberg D, Witztum JL. Low density lipoprotein undergoes oxidative modification in vivo. *Proc Natl Acad Sci* 86:1372-1376; **1989**
- Palinski W, Ylä-Herttuala S, Rosenfeld ME, Butler SW, Socher SA, Parthasarathy S, Curtiss LK, Witztum JL. Antisera and monoclonal antibodies specific for epitopes generated during oxidative modification of low-density lipoprotein. *Arteriosclerosis* 10:325-335; **1990**
- Parthasarathy S, Wieland E, Steinberg D. A role for endothelial cell lipoxygenase in the oxidative modification of low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci* 86:1046-1050; **1989**
- Pedersen TR. for the Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease, the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S) *Lancet* 344: 1383-1389; **1994**
- Pohlmeier L. Homocystein und Ox-LDL-Antikörper als mögliche Marker für die Atherosklerose: Eine Untersuchung an 200 Blutspendern in Hamburg. Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades in der Medizin aus der Medizinischen Kernklinik und Poliklinik des Universitätsklinikums Hamburg-Eppendorf (zum freien Download unter <http://deposit.ddb.de/cgi-bin/dokserv?idn=967105145>); **2000**
- Puurunen M, Manttari M, Manninen V, Tenkanen L, Alfthan G, Ehnholm C, Vaarala O, Aho K, Palosuo T. Antibody against oxidized low density lipoprotein predicting myocardial infarction. *Arch Intern Med* 154: 2605–2609; **1994**
- Ratnoff OD. Activation of Hageman factor by L-homocysteine. *Science* 162:1007-1009; **1968**

Reaven P, Parthasarathy S, Grasse BJ, Miller E, Steinberg D, Witztum JL. Effects of oleate-rich and linoleate-rich diets on the susceptibility of low density lipoprotein to oxidative modification in mildly hypercholesterolemic subjects. *J Clin Invest* 91:668-76; **1993**

Ridkers PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* 342:836-843; **2000**

Ridkers PM, Cannon CP, Morrow D, Rifai N, Rose LM, McCabe CH, Pfeffer MA, Braunwald E. C-reactive protein levels and outcome after statin therapy. *N Engl J Med* 352:20-28; **2005**

Rodgers GM, Kane WH. Activation of endogenous factor V by a homocysteine-induced vascular endothelial cell activator. *J Clin Invest* 77:1909-1916; **1986**

Rodgers GM, Conn MT. Homocysteine, an atherogenic stimulus, reduces protein C activation by arterial and venous endothelial cells. *Blood* 75:895-901; **1990**

Rokitansky C. Handbuch der speziellen pathologischen Anatomie. Wien Braunmüller & Seidel; **1844**

Ross R, Glomset JA. Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science* 180:1332-1339; **1973**

Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (part I). *N Engl J Med* 295:369-377; **1976**

Ross R, Glomset JA. The pathogenesis of atherosclerosis (part II). *N Engl J Med* 295: 420-425; **1976**

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis, an update. *N Engl J Med* 314:488-500. **1986**

Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990's. *Nature* 362: 801-809; **1993**

Ross R. Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340:115-126; **1999**

Salonen JT, Ylä-Herttuala S, Yamamoto R, Butler S, Korpela H, Salonen R, Nyssönen K, Palinski W, Witztum JL. Autoantibody against oxidised LDL and progression of carotid atherosclerosis. *Lancet* 339:883-887; **1992**

Samuelsson O, Wilhelmsen L, Andersson O, Pennert K, Berglund G. Cardiovascular morbidity in relation to change in blood pressure and serum cholesterol levels in treated hypertension. Results from the primary prevention trial in Göteborg, Sweden. *JAMA* 258:1768-1776; **1987**

Scanu AM. Lipoprotein(a): a genetically determined lipoprotein containing a glycoprotein of the plasminogen family. *Semin Thromb Hemostas* 14:266-270; **1988**

- Schwarz CJ, Valente AJ, Sprague EA. A modern view of atherogenesis. *Am J Cardiol* 71:9-14B; **1993**
- Seo H, Oh H, Park H, Park M, Jang Y, Lee M. Contribution of dietary intakes of antioxidants to homocysteine-induced low density lipoprotein (LDL) oxidation in atherosclerotic patients. *Yonsei Med J* 51:526-533; **2010**
- Siedel J, Hägele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 29:1075-1080; **1983**
- Sies H. Oxidative stress; Academic Press London; **1985**
- Shekelle RB, Shryock AM, Paul O, Lepper M, Stamler J, Liu S, Raynor WJ Jr. Diet, serum cholesterol, and death from coronary heart disease. The Western Electric study. *N Engl J Med* 304:65-70; **1981**
- Sherer Y, Tenenbaum A, Blank M, Shemesh J, Harats D, Fisman EZ, Praprotnik S, Motro M, Shoenfeld Y. Autoantibodies to oxidized low density lipoprotein in coronary artery disease. *Am J Hypertension* 14:149-154; **2001**
- Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kimura J, Kanda H, Emoto M, Kawagishi T, Morii H. Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (ox-LDL) and anti-ox-LDL levels in healthy subjects. *Atherosclerosis* 148:171-177; **2000**
- Sparrow CP, Parthasarathy S, Steinberg D. Enzymatic modification of low density lipoprotein by purified lipoxygenase plus phospholipase A2 mimics cell-mediated oxidative modification. *J Lipid Res* 29:745-753; **1988**
- Spelsberg K, Keil U. Epidemiologie der Atherosklerose; Schwandt P., Richter WO., *Handbuch der Fettstoffwechselstörungen*. Schattauer Verlag, Stuttgart, New York; **1995**
- Spiteller G. The relation of lipid peroxidation processes with atherogenesis: a new theory on atherogenesis. *Mol Nutr Food Res* 49:999-1013; **2005**
- Stampfer MJ, Willett WC, Colditz GA, Speizer FE, Hennekens CH. A prospective study of past use of oral contraceptive agents and risk of cardiovascular diseases. *N Engl J Med* 319:1313-1317; **1988**
- Stary HC. Composition und classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows archiv (A)* 421:277-290; **1992**
- Stary HC, Chandler BA, Glagov S, Guyton JR, Insul W jr, Rosenfeld ME, Schwarz CJ, Wagner WD, Wissler RW. A definition of initial, fatty streak and intermediate lesions of atherosclerosis. *Artheroscler Thromb Vasc Biol* 14:840-856; **1994**
- Stary HC. Natural history and histological classification of atherosclerotic lesions: an update. *Artheroscler Thromb Vasc Biol* 20:1177-1178; **2000**

Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: Modification of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *New Engl J Med* 320:915-924; **1989**

Steinberg D. A critical look at the evidence for the oxidation of LDL in atherogenesis. *Atherosclerosis* 131 Suppl:S5-7; **1997**

Steinberg D, Witztum JL. Lipoproteins, lipoprotein oxidation and atherogenesis. In: Chien KR ed. *Molecular Basis of Cardiovascular Disease*. Philadelphia, Saunders:458-475; **1999**

Steinbrecher UP, Witztum JL, Parthasarathy S, Steinberg D. Decrease in reactive amino groups during oxidation or endothelial cell modification of LDL. Correlation with changes in receptor-mediated catabolism. *Arteriosclerosis* 7:135-143; **1987**

Steinbrecher UP, Lougheed M, Kwan WC, Dirks M. Recognition of oxidized low-density lipoprotein by scavenger receptor of macrophages results from derivatization of apolipoprotein B by products of fatty acid peroxidation. *J Biol Chem* 264:15216-15223; **1989**

Steinmetz A, Utermann G. Rezeptoren im Lipoproteinstoffwechsel. *Internist* 29:372-389; **1988**

Steinmetz A, Utermann G. Lipoprotein(a) als Risikofaktor für Atherosklerose. *Internist* 33:24-31; **1992**

Stevens A, Lowe J. *Pathologie*, 1. Auflage, Ullstein Mosby, Stuttgart; 1997

Shimano H, Ohsuga J, Shimada M, Namba Y, Gotoda T, Harada K, Katsuki M, Yazaki Y, Yamada N. Inhibition of diet-induced atheroma formation in transgenic mice expressing apolipoprotein E in the arterial wall. *J Clin Invest* 95:469-476. **1995**

Sjöström LV. Morbidity of severely obese subjects. *Am J Clin Nutr* 55:508S-523S; **1992**

Song Y, Stampfer MJ, Liu S. Meta-analysis: Apolipoprotein E genotypes and risk for coronary heart disease. *Ann Intern Med* 141:137-147; **2004**

The *PLoS Medicine* Editors. Ensuring Integrity in Comparative Effectiveness Research: Accentuate the Negative. *PLoS Med* 6(9): e1000152; **2009**

Tinahones FJ, Gomez-Zumakuero JM, Garrido-Sanchez L, García-Fuentes E, Rojo-Martínez G, Esteva I, Ruiz de Adana MS, Cardona F, Soriguer F. Influence of age and sex on levels of anti-oxidized LDL antibodies and anti-LDL immune complexes in the general population. *J Lipid Res* 46:452-457; **2005**

Tinahones FJ, Gomez-Zumaquero JM, Rojo-Martinez G, Cardona F, Esteva de Antonio IE, Ruiz de Adana MS, Soriguer FJ. Increased levels of anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies are associated with reduced levels of cholesterol in the general population. *Metabolism* 51:429-431; **2002**

- Tinahones FJ, Garrido-Sanchez L, Cardona F. Autoantibodies to oxidized LDL and age. *Artherosclerosis* 190:24-25; **2007**
- Trinder P. Determination of glucose in blood using glucose oxidase with an alternative oxygen receptor. *Ann Clin Biochem* 6:24; **1969**
- Tsimikas S, Witztum JL. Measuring circulating oxidized low-density lipoprotein to evaluate coronary risk. *Circulation* :1903-1930; **2001**
- Tuomilehto J, Kuulasmaa K, Torppa J. WHO MONICA Project: geographic variation in mortality from cardiovascular disease. Baseline data on selected population characteristics and cardiovascular mortality. *World Health Stat Q* 40:171-184; **1987**
- Uemera K, Pisa Z. Trends in cardiovascular disease mortality in industrialized countries since 1950. *World Health Stat Q* 41:155-178; **1988**
- Utermann G. The mysteries of Lipoprotein(a). *Science* 249:904-910; **1989**
- Uusitupa MI, Niskanen L, Luoma J, Vilja P, Mercuri M, Rauramaa R, Ylä-Herttuala S. Autoantibodies against oxidized LDL do not predict atherosclerotic vascular disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 16:1236-1242; **1996**
- Van Gaal LF, Mertens IL, De Block CE. Mechanisms linking obesity with cardiovascular disease. *Nature* 444:875-880; **2006**
- Van Itallie TB. Health implications of overweight and obesity in the United States. *Ann Intern Med* 103:983-988; **1985**
- Verse M. Beitr. Z. Path. Anat. U. Z. Allg. Path 63:789; **1916**
- Virella G, Lopes-Virella MF. Lipoprotein autoantibodies: measurement and significance. *Clin Diagn Lab Immunol* 10:499-505; **2003**
- Virchow R. Handbuch der speziellen Pathologie und Therapie, Ferdinand Enke, Erlangen; **1854**
- Vogel RA. Comparative clinical consequences of aggressive lipid management, coronary angioplasty and bypass surgery in coronary artery disease. *J Cardiology* 69:1229-1233; **1992**
- Vogel RA. Comparative clinical consequences of aggressive lipid management, coronary angioplasty and bypass surgery in coronary artery disease. *Am J Cardiol* 69:1229-1233; **1992**
- Wahlefeld AW, Bergmeyer HU, eds. Methods of Enzymatic Analysis. 2nd English Edition New York, Academic Press Inc:1831; **1974**
- Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 325:1202; **2002**

- Wald DS, Law M, Morris JK. The dose-response relation between serum homocysteine and cardiovascular disease: implications for treatment and screening. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 11: 250-253; **2004**
- Wottawa A, Fromme K, Klein G. Lipoprotein(a) bei koronarer Herzkrankheit und Myokardinfarkt. *Münch Med Wochenschrift* 126:53-55; **1984**
- Wechsler JG, Ditschuneit H. Blutdruck und Übergewicht. In: Rosenthal J. Arterielle Hypertonie. Springer Verlag, Berlin; **1986**
- Wechsler JG, Wenzel H. Adipositas und Dyslipoproteinämien. In: Schwandt P, Richter WO: Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. Schattauer Verlag, Stuttgart; **1995**
- Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 338:1042-1050; **1998**
- Wilhelmsen L, Svärdsudd K, Korsan-Bengtson K, Larsson B, Welin L, Tibblin G, Fibrinogen as a risk factor for stroke and myocardial infarction. *N Engl J Med* 311:501-505; **1984**
- Williams DL, Dawson PA, Newman TC, Rudel LL. Synthesis of apolipoprotein E by peripheral tissues. Potential functions in reverse cholesterol transport and cellular cholesterol metabolism. *Ann N Y Acad Sci* 454:222-229. **1985**
- Wilson PW, Ben-Yehuda O, McNamara J, Massaro J, Witztum J, Reaven PD. Autoantibodies to oxidized LDL and cardiovascular risk: The Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 189:364-368; **2006**
- Witztum JL, Steinberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atheriogenesis. *J Clin Invest* 88: 1785-1792; **1991**
- World Health Organisation. The classification of atherosclerotic lesions. Report of a study group. *WHO Tech Rep Ser* 143:1-20; **1985**
- World Health Organization. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO Consultation. Geneva. WHO Technical Report Series 894; **2000** ([http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_894.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_894.pdf), accessed 20 March 2007).
- Wu R, Nityanand S, Berglund L, Lithell H, Holm G, Lefvert AK. Antibodies against cardiolipin and oxidatively modified LDL in 50-year-old men predict myocardial infarction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 17:3159-3163; **1997**
- Wu R, de Faire U, Lemne C, Witztum JL, Frostegard J. Autoantibodies to oxidized LDL are decreased in individuals with borderline hypertension. *Hypertension* 33:53-59; **1999**
- Wu JT, Wu LL. Autoantibodies against oxidized LDL. A potential marker for atherosclerosis. *Clin Lab Med* 17:595-604; **1997**

Ylä-Herttuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, Witztum JL, Steinberg D. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of the rabbit and man. *J Clin Invest* 84:1086-1095; **1989**

Ylä-Herttuala S. Role of lipid and lipoprotein oxidation in the pathogenesis of atherosclerosis. *Drugs of today* 30:507-514; **1994**

Ylä-Herttuala S. Is oxidized low-density lipoprotein present in vivo? *Curr Opin Lipidol* 9:337-344; **1998**

Yarnell JW, Baker IA, Sweetnam PM, Bainton D, O'Brien JR, Whitehead PJ, Elwood PC. Fibrinogen, viscosity and white blood cell count are major risk factors for ischemic heart disease. The Caerphilly and Speedwell collaborative heart disease studies. *Circulation* 83:836-844; **1991**

Zeleny M, Swertfeger DK, Weisgraber KH, Hui DY. Distinct apolipoprotein E isoform preference for inhibition of smooth muscle cell migration and proliferation. *Biochemistry* 41:11820-11823; **2002**



## Anhang

**Tabelle 18.** Vergleich Ox-LDL-Ak [mU/ml] von Patienten aufgeteilt in Gruppen von KHK Risikofaktoren und Therapie mit Cholesterin senkenden Medikamenten

Einheit [mU/ml]		Mittelwert	SD	Min	Max	Median	n
<b>Diabetes</b>	ja	392,9	±244,4	80	1120	310	46
	nein	486,9	±572,4	45	5133	339	197
<b>Hypertonus</b>	ja	448,1	±384,8	45	2998	341	133
	nein	495,6	±660,1	52	5133	317	110
<b>Nikotin</b>	ja	476,8	±582,7	52	5133	338	176
	nein	449,7	±342,6	45	1943	321	67
<b>Re-Stenose</b>	ja	548,8	±754,4	45	5133	337	50
	nein	456,2	±468,1	52	3570	332	185
<b>Apoplex</b>	ja	854,3	±1732,5	52	133	268	8
	nein	455,3	±437,4	45	3570	336	236
<b>Myokard- infarkt</b>	ja	504,2	±598,1	52	5133	341	120
	nein	447,5	±460,5	45	3030	331	126
<b>Cholesterin- Senker</b>	ja	500,0	±632,3	45	5133	321	129
	nein	452,7	±389,4	52	3570	363	123

**Tabelle 19.** Geschlechterspezifischer Vergleich Ox-LDL-Ak [mU/ml] von Patienten aufgeteilt nach KHK Risikofaktoren

Einheit [mU/ml]		Mittelwert	SD	Min	Max	Median	n
<b>Diabetes Frauen</b>	ja	412,2	±328,9	80	1120	299,5	16
	nein	437	±366,5	45	1943	300	41
<b>Diabetes Männer</b>	ja	382,6	±190,9	119	713	313,5	30
	nein	500,1	±615,4	52	5133	340	156
<b>Hypertonus Frauen</b>	ja	427,7	±375,3	45	1943	310	41
	nein	430,1	±293,4	108	1176	295	17
<b>Hypertonus Männer</b>	ja	457,2	±390,7	104	2998	358,5	92
	nein	507,6	±707,4	52	5133	317	93
<b>Nikotin Frauen</b>	ja	383,2	±259,6	80	1137	332	27
	nein	473,8	±420,3	45	1943	295,5	30
<b>Nikotin Männer</b>	ja	493,8	±622,7	52	5133	341	149
	nein	430,3	±268,4	120	1052	326	37
<b>Re-Stenose Frauen</b>	ja	428,4	±357,7	45	1137	391,5	10
	nein	433,5	±355,1	80	1943	300	47
<b>Re-Stenose Männer</b>	ja	579	±825,1	128	5133	337	40
	nein	463,9	±501,7	52	3570	340	138
<b>Apoplex Frauen</b>	ja	259	±302,6	45	473	259	2
	nein	434,5	±353,2	80	1943	305,6	56
<b>Apoplex Männer</b>	ja	1052,7	±2001,1	124	5133	268	6
	nein	462,1	±461,1	52	3570	340	180

**Tabelle 20.** Geschlechterspezifischer Vergleich Ox-LDL-Ak [mU/ml] von Patienten aufgeteilt nach Therapie mit Cholesterinsenker

Einheit [mU/ml]		Mittelwert	SD	Min	Max	Median	n
Cholesterin - senker <b>Frauen</b>	ja	448	±403,6	45	1943	295	35
	nein	428	±287,3	80	1137	410	24
Cholesterin- senker <b>Männer</b>	ja	520	±700	85	5133	337	94
	nein	459	±411	52	3570	354	99

## **Danksagung**

Ich danke Frau Professorin Dr. Ulrike Beisiegel, nicht nur für die Überlassung dieses Themas und die Möglichkeit zur Promotion, sondern auch für die Fürsorge und Rücksichtnahme während meiner Krankheitsphase, ihrem Team, insbesondere Frau Christine Runge für ihre Geduld und Motivation.

Ich danke Herrn Dr. Jan-Hinrich Bräsen für die sehr freundliche Betreuung und Unterstützung im Kontakt mit den Patienten und Frau Daniela Berg für die Anleitung im Labor.

Bedanken möchte ich mich auch bei den Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter im Lipidlabor von Professor Dr. Ulrich Beil und in der Abteilung Transfusionsmedizin von Professor Dr. Peter Kühnl, sowie natürlich den Probandinnen und Probanden und den Blutspenderinnen und Blutspendern.

Besonderer Dank gilt meiner Mutter und meiner Schwester, die mir die Möglichkeit gaben, einen akademischen Bildungsweg zu gehen, meinem Bruder Mustafa, der mir immer beratend zur Seite stand, und meinem Ehemann, der mich stets geduldig unterstützte.

## **Eidesstattliche Versicherung:**

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 entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

Ferner versichere ich, dass ich die Dissertation bisher nicht einem Fachvertreter an einer anderen Hochschule zur Überprüfung vorgelegt oder mich anderweitig um Zulassung zur Promotion beworben habe.

**Ayse Kobbe**