

# **Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf**

Aus der III. Medizinischen Klinik und Poliklinik  
des Zentrums für Innere Medizin

Direktor: Prof. Dr. med. Rolf A. K. Stahl

## **Assoziation zwischen dem LIPC-514C/T-Polymorphismus im Promotor der Hepatischen Lipase und HDL-Cholesterin – Daten der CORA-Studie**

### **Dissertation**

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
an der medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von:

Dorith Maria Bartel  
aus Braunschweig

Hamburg 2012

**Angenommen von der  
Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg am: 01.08.2012**

**Prüfungsausschuss, der/die Vorsitzende: Prof. Dr. E. Windler**

**Prüfungsausschuss, 2. Gutachter/in: Prof. Dr. K. Wegscheider**

**Prüfungsausschuss, ~~3. Gutachter/in:~~**

## **INHALTSVERZEICHNIS**

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG</b> .....	<b>3</b>
<b>2</b>	<b>METHODIK</b> .....	<b>6</b>
2.1	DESIGN UND STUDIENPOPULATION.....	6
2.2	DATENERHEBUNG.....	7
2.3	MOLEKULARBIOLOGISCHE BESTIMMUNGEN .....	8
2.4	BIOSTATISTIK.....	8
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>10</b>
3.1	CHARAKTERISTIKA DER FÄLLE UND KONTROLLEN.....	10
3.2	GENOTYPISIERUNG.....	11
3.3	CHARAKTERISIERUNG DER GENOTYPEN.....	12
3.4	EINFLÜSSE AUF DAS HDL-CHOLESTERIN .....	13
3.4.1	Korrelationsanalyse .....	13
3.4.2	Varianzanalyse (ANOVA) .....	14
3.4.3	Regressionsanalyse .....	15
<b>4</b>	<b>DISKUSSION</b> .....	<b>17</b>
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG</b> .....	<b>24</b>
<b>6</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS</b> .....	<b>25</b>
<b>7</b>	<b>DANKSAGUNG</b> .....	<b>35</b>
<b>8</b>	<b>LEBENS LAUF</b> .....	<b>36</b>
<b>9</b>	<b>EIDESSTÄTTLICHE VERSICHERUNG</b> .....	<b>37</b>

# 1 Einleitung

Die Hamburger CORA-Studie (Coronare Risikofaktoren für Arteriosklerose bei Frauen, Zyriax et al. 2005) ist eine populationsbezogene Fall-Kontroll-Studie. Die Studie hat den Einfluss von Ernährung, Lebensstil und soziodemographischen Merkmalen auf die koronare Herzkrankheit bei Frauen untersucht. Die anerkannte Meinung, dass die Ernährung ein wichtiger Faktor für die primäre Prävention und Therapie einer KHK ist, wird durch die CORA-Studie auch für Frauen untermauert.

Eine niedrige Plasmakonzentration des HDL-Cholesterins ist ein wesentlicher Risikofaktor für eine koronare Herzkrankheit (KHK). Die Hauptfunktion der HDL-Partikel liegt dabei im reversen Cholesterintransport aus der Körperperipherie zur Leber. Es ist allgemein anerkannt, dass der HDL-Stoffwechsel sowohl von Umweltfaktoren als auch von genetischen Faktoren beeinflusst wird. Man konnte bisher einige genetische Varianten identifizieren, die für den komplexen quantitativen Phänotypus des HDL-Cholesterin-Spiegels relevant sind (Willer et al. 2008, Kathiresan et al. 2008, Heid et al. 2008, Lu et al. 2008). Allgemein anerkannt sind signifikante Assoziationen zwischen der HDL-Konzentration und genetischen Polymorphismen des Cholesterylester-Transfer-Proteins, der Lipoprotein-Lipase und der hepatische Lipase (LIPC-514C/T).

Bisher fehlen jedoch zwischen den verschiedenen genetischen Assoziationsstudien durchgehend reproduzierbare und konsistente Ergebnisse. Diese Arbeit analysiert Daten der CORA-Studie mit der Frage, ob die HDL-Konzentration durch den -514C/T-Polymorphismus im Promoterbereich des Gens der hepatischen Lipase (LIPC-Gen) beeinflusst wird.

Generell gilt, dass sich das HDL-Cholesterin durch körperliche Ausdaueraktivität, Alkoholkonsum, Gewichtsnormalisierung und Ernährung mit einem hohen Anteil an gesättigten Fettsäuren erhöhen lässt. Rauchen und eine Kohlenhydratdiät erniedrigen das HDL-Cholesterin (Mensink et al. 1992). Weiterhin ist bekannt, dass der Einfluss der Nahrungsfette auf die Plasmalipide interindividuell sehr variiert (Berglund et al. 1999, Dreon et al. 1998, Katan et al. 1997). In der Zwillingsforschung wurde festgestellt, dass 40 - 60% der interindividuellen Variabilität der Plasmalipide genetisch bedingt sind (Heller et al. 1993).

Die hepatische (Triglyzerid)-Lipase ist ein leberspezifisches Schlüsselenzym im HDL-Stoffwechsel. Sie ist ein Glykoprotein mit multiplen Funktionen, das abhängig von genetischem Einfluss und Expression einen variablen Effekt auf die Arteriosklerose haben kann. Eine Überexpression der hepatischen Lipase erniedrigt die Konzentration des

HDL-Cholesterins, während eine niedrige Aktivität der hepatischen Lipase sie erhöht (Santamarina-Fojo et al. 1998). Die hepatische Lipase ist ein lipolytisches Enzym, das Triglyzeride und Phospholipide zu Plasmalipoproteinen hydrolysiert (Thuren 2000). Weiterhin spielt die hepatische Lipase eine Rolle als Ligand bei der Bindung und Aufnahme der Lipoproteine durch Proteoglykane und durch Rezeptorwege (Lambert et al. 2001).

Die Aktivität der hepatischen Lipase wird von mehreren Faktoren beeinflusst. Sie ist mit zunehmendem Alter, beim männlichen Geschlecht und bei Rauchern höher. Weiterhin ist sie mit dem endogenen Östrogenspiegel invers assoziiert (Tikkanen et al. 1986) und entsprechend bei postmenopausalen Frauen verglichen mit prämenopausalen Frauen höher (Ikenoue et al. 1999). Die Aktivität der hepatischen Lipase wird durch Insulin stimuliert (Jansen et al. 1997) und steigt mit zunehmendem viszeralem Fett und BMI (Tan et al. 2001). Androgene (Sorva et al. 1988), Thyroxin (Nozaki et al. 1992) und Glukokortikoide (Jansen et al. 1975) bewirken ebenfalls eine Aktivitätssteigerung der hepatischen Lipase, während eine hypothyreote Stoffwechsellage mit einer Aktivitätsminderung assoziiert zu sein scheint (Nozaki et al. 1986).

Der für die hepatische Lipase kodierende Genlocus (LIPC) befindet sich auf dem langen Arm des Chromosom 15q21 (Sparkes et al. 1987), hat eine Länge von 476 Aminosäuren und ein Molekulargewicht von 65 kDa. Vier Single Nukleotid Polymorphismen (SNP -250G/A, -514C/T, -710T/C, -763A/G) im LIPC-Promoterbereich sind bekannt, die bei Kaukasiern in einem Kopplungsungleichgewicht ("linkage disequilibrium") vererbt werden, wodurch zwei Haplotypen (haploider Genotyp) entstehen. Das bedeutet, dass bei diesen haploiden Nukleotidsequenzen die vier Mutationen immer gemeinsam auftreten, so dass diese Sequenzen keiner Rekombination unterliegen. Die Häufigkeit des resultierenden selteneren Haplotypen (-514T) rangiert bei Kaukasiern zwischen 0,15 - 0,21, bei Afroamerikanern zwischen 0,45 - 0,53 und liegt bei japanischen Amerikanern bei 0,47 (Zambon et al. 1998). In-vitro-Analysen konnten zeigen, dass der Basenaustausch von Cytosin an Position -514 durch Thymin die Transkriptions-Aktivität im LIPC-Promoter reduziert (Deeb und Peng, 2000).

Die insulinabhängigen Transkriptionsfaktoren USF1 und USF-2 (upstream-stimulatory-factor) spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation einer Reihe von am Lipid- und Glukose-Stoffwechsel beteiligten Gene, so auch bei der Expression des Gens der hepatischen Lipase (LIPC). Die Aktivität im LIPC-Promoter wird durch die USF stimuliert (Botma et al. 2001). Der LIPC-514C/T-Polymorphismus liegt innerhalb einer Erkennungssequenz (E-Box) für die USF. Varianten (SNP) der USF-Gene könnten mit Polymorphismen im LIPC-Promoter interagieren (Gen-Gen-Interaktionen).

Das -514T-Allel wird mit einer erniedrigten Aktivität der hepatischen Lipase und erhöhten HDL-Konzentrationen assoziiert (T-Allel-Effekt) (Guerra et al. 1997, Vega et al. 1998). Für den T-Allel-Effekt haben Isaacs et al. (2004) in einer Metaanalyse, die 25 Studien mit insgesamt über 24000 Individuen umfasste, einen Allel-Dosis Effekt beobachtet. Das heißt alle T-Allel-Träger (heterozygot + homozygot), aber noch ausgeprägter die homozygoten T-Allel-Träger, haben ein höheres HDL-Cholesterin bzw. eine niedrigere Aktivität der hepatischen Lipase als CC-Genotypen.

Shohet et al. (2002) haben gezeigt, dass der Effekt des Polymorphismus auf die Gen-Expression interindividuell variiert. Das bedeutet, dass die Aktivität der hepatischen Lipase auch unter den homozygoten T-Allel-Trägern variabel ist und zusätzliche Interaktionen mit anderen Einflussfaktoren den resultierenden Phänotyp modulieren. Carr et al. (2001) fanden, dass 50 Prozent der Variabilität der Aktivität der hepatischen Lipase durch kombinierte Effekte von zentraler Adipositas (14,4 %), Geschlecht (14,2 %) und LIPC-Polymorphismus (10,9 %) verursacht werden.

Zentrale Adipositas, Geschlecht, Nahrungsfette sowie ethnische Differenzen sind mittlerweile anerkannte Größen, die den T-Allel Effekt beeinflussen. Ordovas et al. (2002) haben Daten der Framingham-Studie analysiert und festgestellt, dass der T-Allel-Effekt nur für Individuen zutrifft, die sich fettarm ernähren (<30% der Energiezufuhr). St. Pierre et al. (2003) zeigten, dass eine zentrale Adipositas die Wirkung des T-Allels auf das HDL-Cholesterin abschwächt. Auch das Geschlecht zeigt einen Einfluss auf die Wirkung des T-Allels auf das HDL-Cholesterin. Die Assoziation des T-Allels mit hohen HDL-Cholesterin-Werten scheint für das männliche Geschlecht zu gelten, aber nur abgeschwächt oder gar nicht für Frauen (Guerra et al. 1997, Ko et al. 2004, Chena et al. 2003).

Es ist offensichtlich, dass der HDL-Stoffwechsel komplex beeinflusst wird. Die genetische Komponente spielt eine große Rolle, wird ihrerseits aber durch andere Faktoren beeinflusst. In den vergangenen Jahren sind zunehmend Gen-Gen-Interaktionen analysiert worden (Turner et al. 2011). Die bekannten Risikofaktoren für arteriosklerotische Herz-Kreislauf-Erkrankungen müssen anscheinend nach interindividuellen Einflussgrößen aufgeschlüsselt werden. Diese Analyse untersucht speziell den -514C/T-Polymorphismus im LIPC-Promoter und dessen Einfluss auf das HDL-Cholesterin. Es soll analysiert werden, ob bei den Frauen der CORA-Studie ein T-Allel-Effekt nachvollzogen werden kann, und ob dieser mit anderen unabhängigen Einflussfaktoren auf das HDL-Cholesterin interagiert.

## 2 Methodik

### 2.1 Design und Studienpopulation

Das Design und die Methodik der CORA-Studie sind ausführlich beschrieben (Zyriax et al. 2005). 200 Frauen im Alter von 30 bis 80 Jahren wurden rekrutiert, die wegen inzidenter koronarer Herzkrankheit stationär erstmals aufgenommen wurden. Die Erkrankung durfte retrospektiv nicht länger als 1 Jahr symptomatisch sein. Die koronare Herzkrankheit wurde in allen Fällen mittels Koronarangiographie bestätigt. Ausschlusskriterien waren eine bereits diagnostizierte KHK, eine Beratung hinsichtlich Ernährung und Lebensstil zur Prävention von KHK, andere akute Erkrankungen, schwere chronische Erkrankungen und eine aktuelle Krebsdiagnose. Die Teilnehmerrate lag bei 100 %.

Die Rekrutierung der Kontrollen erfolgte randomisiert aus demselben Stadtteil wie die Fälle, weil der Wohnort für das Risiko einer koronaren Herzkrankheit eine unabhängige sozioökonomische Einflussgröße darstellt (Dietz Roux et al. 2001). Kontrollpersonen mit schweren chronischen Erkrankungen oder bereits durchgemachtem Infarkt oder diagnostizierter KHK bzw. dem dringenden Verdacht auf KHK, wurden ausgeschlossen. Es konnten von je zwei randomisiert ausgewählten Kontrollen 255 Probandinnen eingeschlossen werden.

Die CORA-Studie ist von der Ethikkommission in Hamburg genehmigt worden. Die Probanden mussten schriftlich ihr Einverständnis geben. Alle Daten sowie die Blutproben und DNA-Proben zur Genotypisierung des -514C/T-Polymorphismus im Promoter des Gens der hepatischen Lipase (LIPC) wurden ausschließlich pseudonymisiert unter einer Nummer geführt und analysiert.

Bei den Kontrollen wurde in der Regel folgende Abfolge eingehalten: Befragung, Untersuchungen und Blutabnahme. Der letzte Alkoholkonsum sollte mehr als 24 Std. zurückliegen. Bei den Fällen erfolgte die Blutabnahme morgens nüchtern auf den Stationen, in der Regel vor den Befragungen bzw. Untersuchungen. Wegen möglicher Verfälschungen der Werte aufgrund des Ereignisses wurde bei Patienten mit akutem Infarkt angestrebt, das Blut möglichst unmittelbar nach Einlieferung auf den Intensivstationen abzunehmen (Windler E 1998).

## 2.2 Datenerhebung

Das Erhebungsinstrumentarium bestand aus zwei Fragebögen zu Ernährung und Lebensstil und einem PC-gestützten Zusatzinterview. Es war im Rahmen einer großangelegten internationalen Kohortenstudie (EPIC-Studie: European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition) validiert und eignet sich für Untersuchungen zu anderen chronischen Erkrankungen wie der koronaren Herzkrankheit (Bohlscheid et al. 1997, Boeing et al. 1999). Dabei wurde es um spezifische Fragestellungen der CORA-Studie zum kardiovaskulären Risiko erweitert.

Der Fragebogen zur Ernährung erfasst die Nahrungsaufnahme des letzten Jahres. Er beinhaltet Angaben zu Verzehrshäufigkeit (Food-Frequency) und Portionsgröße von 146 Nahrungsmitteln überwiegend anhand von Abbildungen. Ergänzt wurden Fragen zur Nahrungszusammensetzung und Gebrauch spezieller diätetischer Nahrungsmittel sowie Aussagen zum Obstverzehr für die Sommer- und Wintermonate. Der Fragebogen zum Lebensstil erfasst den soziodemografischen Status (Familienstand, Ausbildung, Beruf), den zurückliegenden Alkoholkonsum und das reproduktive Verhalten (Menarchenalter, Menstruationszyklus, Kontrazeption, Anzahl der Kinder, Hormonersatztherapie). Das PC-gestützte Interview erfasst u.a. Aussagen zum Rauchverhalten, zur Entwicklung des Körpergewichts, zur körperlichen Aktivität, zur Medikation und zu Eigen- und Fremdanamnese.

Zur Abschätzung von Übergewicht, Adipositas und Fettverteilungsmuster wurden folgende Messungen durchgeführt:

- Körpergröße in cm
- Körpergewicht in kg, leicht bekleidet ohne Schuhe
- Body-Mass-Index (BMI) in  $\text{kg/m}^2$
- Taillenumfang in cm, Hüftumfang in cm
- Taillen-Hüft-Quotient (WHR: Waist-to-Hip-Ratio)

Die Bewertung des BMI erfolgte in Übereinstimmung mit den Richtlinien der Deutschen Adipositas-Gesellschaft und der WHO (1995). Der Taillenumfang wurde in der Mitte zwischen Rippenbogen und Beckenknochen, der Hüftumfang in der Höhe des Trochanter major gemessen.



Zur Beurteilung des Fettstoffwechsels und des Glukoseprofils wurden folgende Daten in diese Arbeit einbezogen:

Lipide	Diabetesmarker
Gesamtcholesterin	Nüchtern-Glucose
LDL-Cholesterin	HbA <sub>1c</sub>
HDL-Cholesterin	Nüchtern-Insulinspiegel
Triglyceride	Insulinresistenz nach HOMA

Eine Insulinresistenz wurde bei einem HOMA-Score  $\geq 3,8$  angenommen (HOMA = **homeostasis model assessment**) (Matthews et al. 1985, Marques-Vidal et al. 2002). Die Formel für den HOMA-Index lautet:  $\text{Insulin } (\mu\text{U/ml}) \times \text{Glukose } (\text{mmol/l}) \times 22,5$ .

### 2.3 Molekularbiologische Bestimmungen

Die Analysen wurden im Labor für molekularbiologische Diagnostik der Firma Bioglobe in Hamburg zur Bestimmung des -514C/T-Polymorphismus im LIPC-Promoterbereich durchgeführt. Dabei wurden die Protokolle zur PCR (Polymerasekettenreaktion) und hME (homogenous MassEXTEND) Assay mit dem MassArray™ Assay Design 2.0 der Firma Sequenom® angewendet: zuerst erfolgte die Amplifikation der DNA-Proben mittels PCR, dann wurde zur Analyse und Vervielfachung des LIPC-Polymorphismus der hME™ Assay angewandt. Diese Methode basiert darauf, dass ein Oligonukleotid-Primer (hME-Primer) an die benachbarte Stelle zum entsprechenden SNP (Single Nukleotid Polymorphismus) anknüpft. Durch die Zugabe von DNA-Polymerase zusammen mit einer Mischung von Nukleotiden wird die Erweiterung des hME-Primers in Richtung Polymorphismus erreicht, dabei entstehen allelspezifische Verlängerungsprodukte mit einer jeweils einzigartigen molekularen Masse. Zur anschließenden Genotypisierung in Wildtyp (CC), heterozygoter Typ (CT) und homozygoter Typ (TT) wird die Masse der Verlängerungsprodukte in der Massenspektrometrie sichtbar gemacht. Hierfür wird die MALDI-TOF MS (matrix-assistierte Laser Desorption/Ionisation „time-of-flight“ Massen Spectrometrie) angewandt.

### 2.4 Biostatistik

Die statistische Auswertung wurde in Zusammenarbeit mit der Abteilung Epidemiologie des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke und dem Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf durchgeführt. Die Datenerhebung erfolgte mit Hilfe eines Programms, das in FOXPRO, Version 2.6 für DOS geschrieben wurde. Im Deutschen Institut für Ernährungsforschung Potsdam-Rehbrücke wurde für die statistischen Berechnungen die SAS-Software, Version 8.0

verwendet. Den Auswertungen des Ernährungsfragebogens liegt der Bundeslebensmittelschlüssel (BLS) Version 2.3 zugrunde. Im Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf wurde für die statistischen Berechnungen die SPSS-Software, Version 17 angewandt.

Für kontinuierliche Merkmale erfolgte die Angabe der arithmetischen Mittelwerte ( $\bar{x}$ ) in Verbindung mit der einfachen Standardabweichung ( $\pm SD$ ). Da diese Merkmale in der Regel nicht normalverteilt sind, erfolgte die Prüfung auf signifikante Unterschiede der mittleren Lage dieser Merkmale mit Hilfe des Wilcoxon Tests (Altman 1991). Assoziationen zwischen den kontinuierlichen Merkmalen wurden mittels Korrelationsanalyse ermittelt und anhand des Pearson Korrelationskoeffizienten bewertet. Zur Prüfung der Signifikanz von Unterschieden relativer Häufigkeiten in der Fall- und Kontrollgruppe wurde ein  $\chi^2$ -Test durchgeführt. Für die Prüfung signifikanter Interaktionen zwischen unabhängigen Variablen erfolgte eine adjustierte Multivarianzanalyse (ANOVA). Zur Analyse der signifikanten Interaktionen wurde eine multiple Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei wurde der von SPSS standardisierte Beta-Koeffizient ermittelt, um die verschiedenen Dimensionen der unabhängigen Variablen vergleichbar zu machen. Für die Regressionskoeffizienten wurde das 95% Konfidenzintervall berechnet.

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Charakteristika der Fälle und Kontrollen

**Tabelle 1: Unterschiede der kardiovaskulären Charakteristika zwischen den Frauen mit und ohne inzidenter KHK (Fälle vs. Kontrollen):** Alter und Hormonstatus, Anthropometrie, Ernährung und Lebensstil, Laborparameter für Fettstoffwechsel und Diabetesmarker. (n.s.= nicht signifikant)

Charakteristika	Fälle (n = 172)	Kontrollen (n = 227)	Signifikanz
	Mittelwert ± 1 SD bzw. Häufigkeit		p-Wert
Alter	64,0 ± 9,8	64,5 ± 10,1	n.s.
Postmenopause (%)	89,5	86,7	n.s.
Hormonsubstitution aktuell (%)	20,2	32,9	0,02
Körpergröße (cm)	163,4 ± 6,4	163,6 ± 6,6	n.s.
Körpergewicht (kg)	69,9 ± 13,9	68,5 ± 12,5	n.s.
Body-Mass-Index (kg/m <sup>2</sup> )	26,1 ± 4,8	25,6 ± 4,3	n.s.
Taillenumfang (cm)	91,0 ± 13	84,0 ± 11,0	< 0,0001
Taillen-Hüft-Quotient	0,88 ± 0,09	0,82 ± 0,07	< 0,0001
Energie (kcal/d)	1803 ± 341	1678 ± 366	< 0,0001
Gesamtfett (g/d)	75 ± 19	66 ± 18	< 0,0001
tierisches Fett (g/d)	55 ± 20	48 ± 18	< 0,0001
pflanzliches Fett (g/d)	20 ± 10	18 ± 9	n.s.
gesättigte Fettsäuren (g/d)	33 ± 11	29 ± 9	< 0,0001
einfach ungesättigte Fettsäuren (g/d)	25 ± 7	22 ± 6	<0,0001
mehrfach ungesättigte Fettsäuren (g/d)	13 ± 4	11 ± 4	<0,0001
Omega 3 Fettsäuren (g/d)	1,7 ± 0,4	1,5 ± 0,4	<0,0001
Omega 6 Fettsäuren (g/d)	10,8 ± 4	9,4 ± 3,7	< 0,0001
Alkohol (g/d)	4,0 ± 6,1	7,1 ± 8,9	< 0,0001
aktuell Raucher (%)	41	28	0,0066
Gesamtcholesterin (mg/dl)	231 ± 46	221 ± 53	n.s.
LDL-Cholesterin (mg/dl)	140 ± 47	141 ± 38	n.s.
HDL-Cholesterin (mg/dl)	51 ± 15	65 ± 18	<0,0001
Triglyzeride (mg/dl)	154 ± 105	119 ± 76	<0,0001
Nüchternblutzucker (mg/dl)	122 ± 58	98 ± 39	<0,0001
HbA1c (%)	6,1 ± 1	5,8 ± 0,7	0,0005
Nüchterninsulinspiegel (mU/l)	22 ± 23	11 ± 7	<0,0001
Typ 2 Diabetes oder HOMA-IR Score ≥3,8 (%)	58,1	21,1	<0,0001
Typ 2 Diabetes (%)	24	7	<0,0001

Tabelle 1 zeigt die Unterschiede der kardiovaskulären Risikofaktoren zwischen den Frauen mit koronarer Herzkrankheit (Fälle) und den Kontrollen. Hinsichtlich des Alters und des Postmenopausestatus unterscheiden sich Fälle und Kontrollen nicht signifikant, während die Kontrollen signifikant häufiger eine Hormonsubstitution durchführen. Bei den

anthropometrischen Merkmalen haben die Fälle im Mittel einen signifikant höheren Taillenumfang und einen größeren Taillen-Hüft-Quotienten. Auch für Nahrungsfette und Lebensstil zeigt sich bei den Fällen im Vergleich zu den Kontrollen ein deutliches kardiovaskuläres Risikoprofil: Die Fälle diskriminieren mit Ausnahme der Aufnahme pflanzlicher Fette die Kontrollen hoch signifikant (Rauchen  $p = 0,0066$ ). Hinsichtlich des Fettstoffwechsels zeigen sich zwischen den Fällen und Kontrollen für das Gesamtcholesterin und LDL-Cholesterin keine signifikanten Unterschiede, während die Kontrollen signifikant höhere Werte für HDL-Cholesterin und Triglyzeride haben. Auch bei den Diabetesmarkern zeigen die Fälle im Vergleich zu den Kontrollen ein deutliches Risikoprofil: Bei allen Laborparametern diskriminieren die Fälle die Kontrollen hoch signifikant.

### 3.2 Genotypisierung

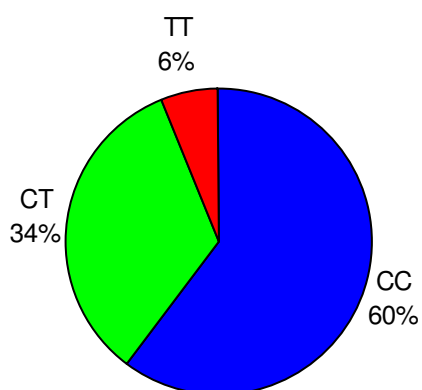
Tabelle 2 zeigt die Genotypverteilung des LIPC-514C/T-Polymorphismus. Die Genotypen verteilen sich in der Fall- und der Kontrollgruppe nicht signifikant unterschiedlich. Am häufigsten kommt der Wildtyp (CC) vor, gefolgt vom heterozygoten Typ (CT), am wenigsten vertreten ist der homozygote T-Typ (TT). Die Verteilung der Genotypen im Gesamtkollektiv und in der Fall- und Kontrollgruppe zeigen die Abbildungen 1a und 1b.

**Tabelle 2: Häufigkeiten der Genotypen des LIPC-514C/T-Polymorphismus:** Verteilung in der Fall- und Kontrollgruppe und im Gesamtkollektiv. (n.s. = nicht signifikant)

Genotyp	Fälle		Kontrollen		Gesamt		Signifikanz (p) Fälle vs. Kontrollen
	n	%	n	%	n	%	
CC	79	63	117	58	196	60	n.s.
CT	39	31	75	37	114	34	n.s.
TT	8	6	11	5	19	6	n.s.

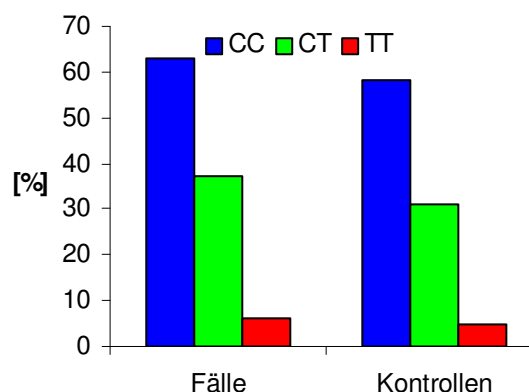
**Abbildung 1a: Gesamtkollektiv.**

Prävalenz der Genotypen (CC, CT, TT)



**Abbildung 1b: Fall- und Kontrollgruppe.**

Prävalenz der Genotypen (CC, CT, TT).



### 3.3 Charakterisierung der Genotypen

Tabelle 3 gibt die kardiovaskulären Charakteristika der Genotypen des LIPC-514C/T-Polymorphismus wieder. Die Häufigkeiten der kardiovaskulären Faktoren hinsichtlich des Postmenopause-Status, der Anthropometrie, der Ernährung, des Lebensstils und des Fett- und Glukosestoffwechsels zeigen zwischen den Genotypen keine signifikanten Unterschiede.

**Tabelle 3: Kardiovaskuläre Charakteristika der Genotypen des LIPC-514C/T-Polymorphismus:** Hormonstatus, Anthropometrie, Ernährung und Lebensstil, Laborparameter für Fettstoffwechsel und Diabetesmarker. (n.s.= nicht signifikant)

Charakteristika	CC-Typ n = 186	CT-Typ n = 106	TT-Typ n = 17	Signifikanz
	Mittelwert bzw. Häufigkeit			p-Wert
Postmenopause (%)	88,5	90,3	83,3	n.s.
Hormonsubstitution (%)	30,8	28,3	13,3	n.s.
Body-Mass-Index (kg/m <sup>2</sup> )	25,2 ± 4	26,3 ± 5,1	25,8 ± 4,5	n.s.
Taillenumfang (cm)	85,3 ± 11,2	87,9 ± 13,3	88,3 ± 10,9	n.s.
Taillen-Hüft-Quotient (WHR)	0,84 ± 0,08	0,84 ± 0,08	0,85 ± 0,06	n.s.
Energie (kcal/d)	1705	1683	1758	n.s.
Gesamtfett (g/d)	68,5	67,2	68,9	n.s.
tierisches Fett (g/d)	39,9	39,6	43,0	n.s.
pflanzliches Fett (g/d)	23,5	23,4	23,2	n.s.
gesättigte Fettsäuren (g/d)	29,6	28,9	29,7	n.s.
einfach ungesättigte Fettsäuren (g/d)	22,8	22,5	23,6	n.s.
mehrfach ungesättigte Fettsäuren (g/d)	11,5	11,2	10,9	n.s.
Omega 3 Fettsäuren (g/d)	1,5	1,6	1,5	n.s.
Omega 6 Fettsäuren (g/d)	9,9	9,6	9,3	n.s.
Alkohol (g/d)	6,0	6,4	6,6	n.s.
Raucher (%)	33,9	30,8	35,3	n.s.
Gesamtcholesterin (mg/dl)	245,9	240,0	250,8	n.s.
LDL-Cholesterin (mg/dl)	141,9	140,5	137,4	n.s.
HDL-Cholesterin (mg/dl)	59,8	59,7	61,2	n.s.
Triglyzeride (mg/dl)	130,7	134,9	132,0	n.s.
Nüchternblutzucker (mg/dl)	116,0	113,2	97,3	n.s.
HbA1c (%)	5,9	6,0	5,8	n.s.
Nüchterninsulinspiegel (mU/l)	14,1	13,0	13,6	n.s.
Insulinresistenz (%): Diabetes + HOMA-IR ≥3,8	31,7	33,6	17,7	n.s.

### 3.4 Einflüsse auf das HDL-Cholesterin

#### 3.4.1 Korrelationsanalyse

Tabelle 4 zeigt die Korrelationsanalyse der Einflüsse der kardiovaskulären Charakteristika auf das HDL-Cholesterin in den Gruppen der Genotypen des LIPC-514C/T-Polymorphismus. Für die Assoziationen zwischen den anthropometrischen Merkmalen und dem HDL-Cholesterin zeigen sich sowohl für CC- als auch CT-Genotypen signifikante und gleichsinnige Interaktionen. Auch für Alkoholkonsum und Raucherstatus finden sich bei CC- und CT-Genotypen signifikante Interaktionen zum HDL-Cholesterin. Bei den Nahrungsfetten sind die Interaktionen zum HDL-Cholesterin für die Aufnahme tierischer Fette und Omega 3-Fettsäuren bei den CT-Genotypen signifikant, nicht jedoch bei den CC-Genotypen. Die Korrelationen sind jedoch gleichsinnig. Beim Hormonstatus lässt sich nur für die CT-Genotypträger ein signifikanter Einfluss der Postmenopause auf das HDL-Cholesterin nachweisen (Tab. 4). Für die TT-Genotypen ergeben sich bei der geringen Fallzahl von 17 keine signifikanten Beziehungen.

**Tabelle 4: Korrelationsanalyse der Einflüsse verschiedener Charakteristika auf das HDL-Cholesterin in den Gruppen der Genotypen:** Pearson-Korrelationen für kontinuierliche Parameter und Test nach Wilcoxon für diskrete Größen. (n.s. = nicht signifikant)

Charakteristika	Gesamt-kollektiv n = 399	CC-Typ n = 186	CT-Typ n = 106	TT-Typ n = 17
Postmenopause	n.s.	n.s.	0,01	n.s.
Hormonersatz-Therapie	n.s.	n.s.	n.s.	n.s.
Gewicht (kg)	-0,26 / <0,0001	-0,23 / 0,002	-0,35/ 0,0003	-0,26 / n.s.
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	-0,26 / <0,0001	-0,20 / 0,006	-0,38 / <0,0001	-0,26 / n.s.
Taille (cm)	-0,38 / <0,0001	-0,35 / <0,0001	-0,49 / <0,0001	-0,18 / n.s.
WHR	-0,29 / <0,0001	-0,33 / <0,0001	-0,38 / <0,0001	-0,15 / n.s.
Gesamtfettzufuhr	-0,10 / 0,04	-0,08 / n.s.	-0,12 / n.s.	-0,06 / n.s.
tierische Fette	-0,15 / 0,003	-0,13 / n.s.	-0,30 / 0,002	-0,06 / n.s.
pflanzliche Fette	-0,04 / n.s.	-0,07 / n.s.	-0,11 / n.s.	0,25 / n.s.
gesättigte Fettsäuren	-0,06 / n.s.	-0,03 / n.s.	-0,01 / n.s.	-0,06 / n.s.
einfach unges. Fettsäuren	-0,08 / n.s.	-0,03 / n.s.	-0,11 / n.s.	-0,12 / n.s.
mehrfach unges. Fettsäuren	-0,18 / 0,0004	-0,19 / 0,008	-0,31 / 0,001	0,07 / n.s.
Omega 6-Fettsäuren	-0,17 / 0,0004	-0,19 / 0,007	-0,32 / 0,001	0,07 / n.s.
Omega 3-Fettsäuren	-0,13 / 0,0097	-0,11 / n.s.	-0,22 / 0,021	0,02 / n.s.
Alkoholaufnahme	0,23 / <0,0001	0,30 / <0,0001	0,21 / 0,03	-0,01 / n.s.
Rauchen	<0,0001	0,005	0,009	n.s.

### 3.4.2 Varianzanalyse (ANOVA)

Mittels einer multifaktoriellen Varianzanalyse (ANOVA) wurde geprüft, ob es überhaupt signifikante Interaktionen zwischen den unabhängigen Einflussfaktoren und dem HDL-Cholesterin gibt. Wegen der geringen T-Allel-Frequenz sind die CT- und TT-Genotypen zusammengefasst worden. Die multipel adjustierte Varianzanalyse zeigt für das HDL-Cholesterin signifikante Interaktionen mit dem T-Allel, Insulinresistenz (HOMA-IR + Diabetes mellitus), KHK-Fallstatus, Alkoholkonsum, WHR und Alter, T-Allel und Postmenopausestatus sowie T-Allel und Insulinresistenz (Tab. 5).

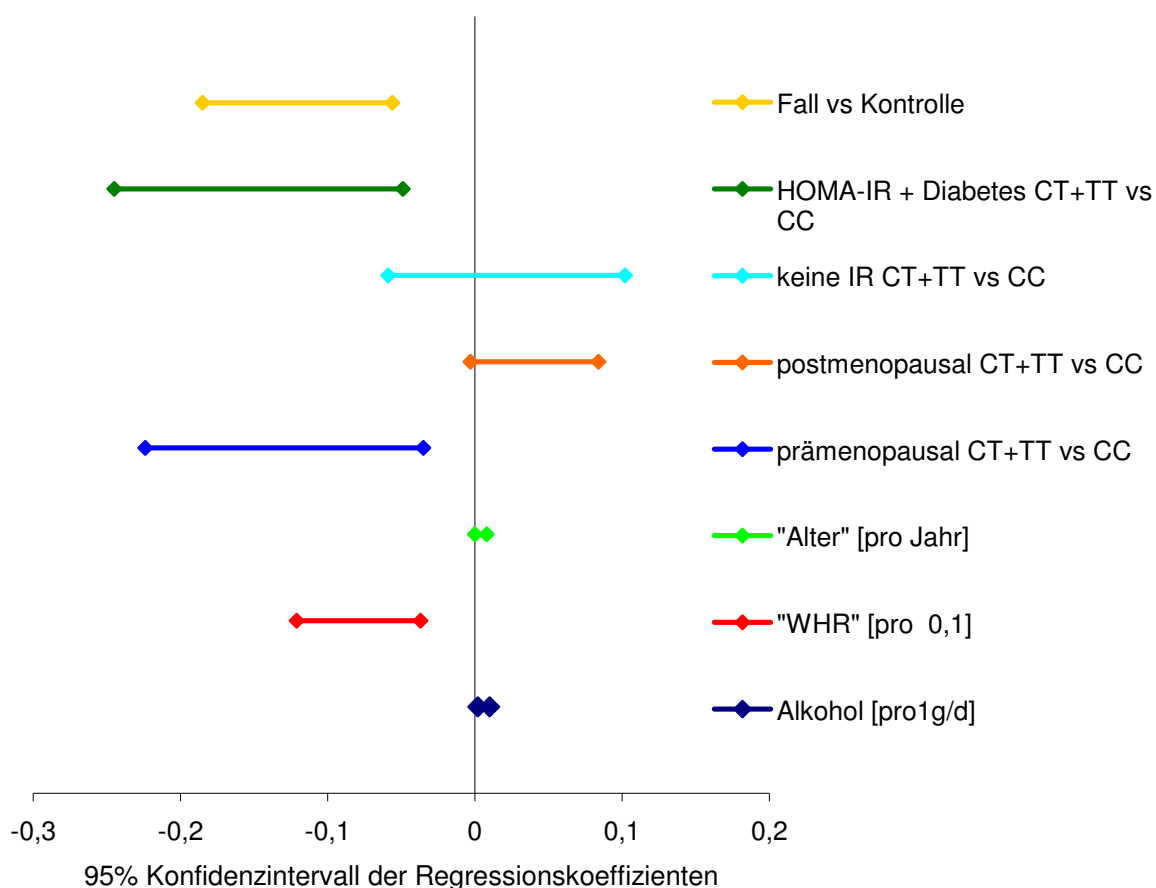
**Tabelle 5: Multifaktorielle Varianzanalyse (ANOVA).** Die abhängige Variable ist das (log)HDL-Cholesterin. Jeder Faktor wurde adjustiert für folgende Störvariablen: T-Allel (CT + TT), Postmenopausestatus, HOMA-Insulinresistenz oder Diabetes mellitus, Hormonsubstitution, Raucherstatus, KHK-Fallstatus, (log)tierische Fette [g/d], (log)pflanzliche Fette [g/d], Alkohol [g/d], (log)Omega 6-Fettsäuren [g/d], (log)Omega 3-Fettsäuren [g/d], Fettenergie [%], WHR und Alter [Jahre].

Unabhängige Variablen	p-Wert
T-Allel (TT + CT)	0,042
HOMA-Insulinresistenz + Diabetes mellitus	<0,001
Fall vs. Kontrolle	0,001
Alkohol [g/d]	0,002
WHR	<0,001
Alter [Jahre]	0,028
T-Allel + Postmenopausestatus	0,036
T-Allel + Insulinresistenz (HOMA-IR + Diab. mell.)	0,009

### 3.4.3 Regressionsanalyse

Die Varianzanalyse (ANOVA) hat gezeigt, dass signifikante Interaktionen zwischen den Einflussfaktoren auf das HDL-Cholesterin vorliegen. Um die Effekte dieser signifikanten Interaktionen zu analysieren, wurde eine multiple Regressionsanalyse durchgeführt (Tab. 5a + 5b). In Abbildung 2 sind die 95%-Konfidenzintervalle der Regressionskoeffizienten dargestellt, die die signifikanten Interaktionen zwischen den Einflussfaktoren und dem HDL-Cholesterin als abhängige Variable zeigen. Um die Variablen mit den verschiedenen Dimensionen vergleichbar zu machen, wurde der standardisierte Beta-Koeffizient dargestellt.

**Abbildung 2: Signifikante Interaktionen zwischen den diskreten und stetigen Einflussfaktoren und dem HDL-Cholesterin als abhängige Variable.** Darstellung der 95%-Konfidenzintervalle für die Regressionskoeffizienten.



Das HDL-Cholesterin der prämenopausalen Frauen mit T-Allel ist um 13,4 % ( $p = 0,009$ ) niedriger als das der prämenopausalen Frauen mit CC-Genotyp (Tab. 5a). Bei den postmenopausalen Frauen zeigt das T-Allel keinen signifikanten Effekt auf das HDL-Cholesterin. Frauen mit T-Allel und Insulinresistenz haben ein um 15,3 % ( $p = 0,005$ ) niedrigeres HDL-Cholesterin im Vergleich zu den Frauen mit CC-Genotyp und



Insulinresistenz. Bei Frauen ohne Insulinresistenz zeigt das T-Allel keine signifikante Wirkung auf das HDL-Cholesterin. Die HDL-Konzentration der Frauen mit KHK ist unabhängig vom Genotyp um 12,3 % ( $p < 0,001$ ) niedriger als die HDL-Konzentration der gesunden Frauen. (Tab. 5a).

**Tabelle 5a: Multiple Regressionsanalyse mit Darstellung der  $\beta$ -Koeffizienten und der 95%-Konfidenzintervalle für die diskreten Größen.** Die abhängige Variable ist das HDL-Cholesterin. Der  $\beta$ -Koeffizient zeigt die prozentuale Veränderung des HDL-Cholesterins an.

Vergleich			Veränderung [%] ( $\beta$ -Koeffizient)	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
				Untergrenze	Obergrenze	
Postmenopause	nein	CT+TT vs. CC	-0,134	-0,224	-0,035	0,009
	ja	CT+TT vs. CC	-0,003	-0,083	0,084	0,943
HOMA-IR + Diabetes mellitus	nein	CT+TT vs. CC	0,018	-0,059	0,102	0,649
	ja	CT+TT vs. CC	-0,153	-0,245	-0,049	0,005
KHK	Fall vs. Kontrolle		-0,123	-0,185	-0,056	<0,001

Die Effekte der stetigen Größen auf das HDL-Cholesterin sind unabhängig vom Genotyp (Tab. 5b). Pro Gramm täglicher Alkoholaufnahme liegt das HDL-Cholesterin um 0,6 % höher ( $p = 0,002$ ). Pro 0,1 WHR ist das HDL-Cholesterin um 8 % niedriger ( $p < 0,001$ ). Das Alter der Frauen bewirkt pro Jahr ein um 0,4 % höheres HDL-Cholesterin ( $p = 0,028$ ).

**Tabelle 5b: Multiple Regressionsanalyse mit Darstellung der  $\beta$ -Koeffizienten und der 95%-Konfidenzintervalle für die stetigen Größen.** Die abhängige Variable ist das HDL-Cholesterin. Der  $\beta$ -Koeffizient zeigt die prozentuale Veränderung des HDL-Cholesterins an.

	Veränderung [%] ( $\beta$ -Koeffizient)	95%-Konfidenzintervall		p-Wert
		Untergrenze	Obergrenze	
Alkohol [g/d]	0,006	0,002	0,010	0,002
WHR	-0,080	-0,121	-0,037	<0,001
Alter [/Jahr]	0,004	<0,001	0,008	0,028

## 4 Diskussion

Die Analyse der CORA-Studie zeigt zwischen dem -514C/T-Polymorphismus des Gens der hepatischen Lipase (LIPC) und dem HDL-Cholesterin eine signifikante Interaktion ( $p = 0,042$ ). Der Effekt des T-Allels auf das HDL-Cholesterin interagiert mit den Einflussfaktoren Prämenopausestatus oder Insulinresistenz. Bei den Frauen mit T-Allel und Insulinresistenz liegt das HDL-Cholesterin signifikant niedriger als bei den Frauen mit CC-Genotyp und Insulinresistenz ( $p = 0,005$ ). Ohne Insulinresistenz oder bei postmenopausalen Frauen hat das T-Allel keinen Effekt auf das HDL-Cholesterin. Das HDL-Cholesterin der prämenopausalen Frauen mit T-Allel liegt signifikant niedriger als bei den prämenopausalen Frauen mit CC-Genotyp ( $p = 0,009$ ).

Der Effekt des LIPC-514C/T-Polymorphismus auf die Gen-Expression variiert interindividuell. Die Population der CORA-Studie stellt ein selektives Probandengut dar, was entscheidenden Einfluss auf die Interaktionen haben kann. Zentrale Adipositas, Geschlecht, Nahrungsfette sowie ethnische Differenzen sind mittlerweile anerkannte Größen, die den Effekt des T-Allels auf das HDL-Cholesterin beeinflussen. Zunehmend werden Gen-Gen-Interaktionen, die im HDL-Stoffwechsel eine Rolle spielen könnten, untersucht (Turner et al. 2011).

Fettleibigkeit, speziell eine zentrale Adipositas, wird als unabhängiger Einflussfaktor auf die Aktivität der hepatischen Lipase beschrieben (St. Pierre et al. 2003, Ko et al. 2004, Carr et al. 2001 und 2004). Konsistent hierzu zeigt sich bei den Frauen dieser Studie, dass unabhängig vom Genotyp eine höhere WHR mit einer signifikanten Reduktion der HDL-Konzentration einhergeht (95%-KI  $-0,121/-0,037$ ;  $p < 0,001$ ). Eine zentrale Adipositas scheint ebenfalls ein wesentlicher Faktor für ethnische Differenzen hinsichtlich des HDL-Cholesterin-Spiegels zu sein (Carr et al. 2004, Vega et al. 1998). Die Prävalenz des T-Allels ist in der schwarzen und der asiatischen Bevölkerung deutlich höher als bei weißen Menschen (Vega et al. 1998, Hong et al. 2000, Talmud et al. 2001, Sohet et al. 2002), was wiederum oft als Ursache für die Prävalenz hoher HDL-Cholesterin-Werte in der schwarzen und der asiatischen Bevölkerung angenommen wurde. Bereits Vega et al. (1998) stellten beim Vergleich von Afroamerikanern und weißen Amerikanern fest, dass das T-Allel nicht ausschließlich für die ethnischen Differenzen der Aktivität der hepatischen Lipase verantwortlich sein konnte. So hatten auch Afroamerikaner mit gleichem LIPC-Genotyp eine niedrigere Aktivität der hepatischen Lipase als weiße Amerikaner. Carr et al. (2004) fanden, dass eine höhere Aktivität der hepatischen Lipase bei weißen Amerikanern im Vergleich zu schwarzen und japanischen amerikanischen Männern auf ethnische Differenzen hinsichtlich einer zentralen Adipositas zurückzuführen war. Weiße amerikanische Männer hatten durchschnittlich eine signifikant höhere WHR als schwarze und japanische amerikanische Männer. Weiterhin scheint der Einfluss einer

zentralen Adipositas auf die Aktivität der hepatischen Lipase auch vom Geschlecht beeinflusst zu werden. Im Vergleich zu Frauen erklärt die höhere Prävalenz einer zentralen Adipositas nur teilweise die höhere Aktivität der hepatischen Lipase bei Männern. Der Effekt einer zentralen Adipositas auf die Aktivität der hepatischen Lipase scheint bei Männern deutlich ausgeprägter zu sein als bei Frauen (Carr et al. 2001 und 2004).

Carr et al. (2004) und Chena et al. (2003) fanden, dass die Assoziation der Aktivität der hepatischen Lipase mit dem HDL-Cholesterin bei Frauen nicht so stark ausgeprägt ist wie bei Männern. Carr et al. stellten keine ethnischen Differenzen in der Aktivität der hepatischen Lipase zwischen Frauen fest. Weiße, schwarze und japanische Frauen unterschieden sich nicht signifikant in der Aktivität der hepatischen Lipase. Dies stimmt mit mehreren großen epidemiologischen Studien überein, die gezeigt haben, dass sich der HDL-Cholesterin-Spiegel zwischen schwarzen und weißen Frauen nicht signifikant unterscheidet (Tyroler et al. 1980, Brown et al. 1993, Proudler et al. 1996, Howard et al. 2003). Die Aktivität der hepatischen Lipase und ihre Assoziation zum HDL-Stoffwechsel scheint bei Frauen anders moduliert zu werden als bei Männern.

Chamberlain et al. (2008) haben im Rahmen der ARIC Studie 4876 kaukasische und afroamerikanische Frauen untersucht. Sie fanden, dass ein endogener Östrogenmangel als Folge der Menopause die Assoziation zwischen T-Allel und HDL-Cholesterin nicht beeinflusst. In der CORA-Studie zeigt sich ebenfalls kein interagierender Effekt des Postmenopause-Status und T-Allels auf das HDL-Cholesterin. Allerdings haben die prämenopausalen Frauen mit T-Allel signifikant niedrigere HDL-Cholesterin-Werte als prämenopausale Frauen mit CC-Genotyp (95%-Konfidenzintervall -0,224/-0,035,  $p = 0,009$ ). Dieser negative Effekt des T-Allels auf das HDL-Cholesterin bei prämenopausalen Frauen könnte erklären, warum in einigen Studien ein abgeschwächter oder kein T-Allel-Effekt bei Frauen nachvollzogen werden konnte (Ji et al. 2002, Chena et al. 2003, Guerra et al. 1997).

Unter Östrogeneinfluss nimmt die Aktivität der hepatischen Lipase ab (Tikkanen et al. 1986, Applebaum-Bowden et al. 1989; Colvin et al. 1991). Jones et al. (2002) zeigten, dass Östrogen die Transkriptionsaktivität im LIPC-Promoter abschwächt. Thumfart (2003) fand zwei mögliche Erkennungssequenzen für östrogenabhängige Transkriptionsfaktoren im Bereich des LIPC-Promoters, über die die Expression der hepatischen Lipase gehemmt wird. Entsprechend könnte eine niedrigere HDL-Konzentration bei prämenopausalen Frauen mit T-Allel darin begründet sein, dass der Polymorphismus die Wirkung des Östrogens auf die Aktivität der hepatischen Lipase beeinflusst bzw. abschwächt. Das Ergebnis dieser Studie, dass eine Assoziation zwischen T-Allel und HDL-Cholesterin nur bei prämenopausalen Frauen nachvollzogen werden kann, während das T-Allel bei postmenopausalen Frauen

keinen Effekt zeigt, wirft grundsätzlich die Frage auf, ob der HDL-Stoffwechsel bei prämenopausalen Frauen anders reguliert wird als bei postmenopausalen Frauen. Zusätzlich muss bedacht werden, dass die Interpretation von Daten prämenopausaler Frauen erschwert wird durch die physiologische Fluktuation des Östrogen-Spiegels während des Menstruationszyklus. Es gibt Hinweise, dass die hepatische Lipase während der Phase der Suppression durch Östrogen für die Regulierung des HDL-Cholesterins eine untergeordnete Rolle spielt (Brinton 1996). Unterschiede im HDL-Stoffwechsel zwischen prä- und postmenopausalen Frauen könnten auch darin begründet sein, dass der relative Beitrag genetischer Faktoren mit zunehmendem Alter geringer wird. Heller et al. (1994) zeigten, dass unabhängige umweltbedingte Faktoren bei Individuen, die älter als 65 Jahre sind, einen wesentlich größeren Einfluss auf Plasmalipide nehmen als bei jüngeren Menschen.

Die Prävalenz von viszeraler Fettleibigkeit und Insulinresistenz nimmt bei postmenopausalen Frauen im Vergleich zu prämenopausalen Frauen zu (Tchernof et al. 1998). Mit dem endogenen Östrogenmangel als Folge der Menopause findet ein Shift von der gluteofemorale Fettspeicherung zum Aufbau viszeralen Fettes statt. Viszerales Fettgewebe ist metabolisch höchst aktiv. Via Portalkreislauf fluten in der Leber freie Fettsäuren an, durch die die hepatische Insulinbindung und -aufnahme herabgesetzt, die Glukoneogenese stimuliert und die Insulinresistenz erhöht wird. In der Folge nehmen der Insulinspiegel und die Insulinresistenz systemisch zu. Man kennt im LIPC-Promoterbereich Elemente, die mit Insulin reagieren, wodurch die Aktivität der hepatischen Lipase hochreguliert wird (Wang & Sul 1997). Dies erklärt die Assoziation zwischen Hyperinsulinämie und hoher Aktivität der hepatischen Lipase (Jansen et al. 1997, Romano et al. 1997). Somit könnten Varianten im LIPC-Promoter die Fähigkeit des Insulins die Aktivität der hepatischen Lipase zu beeinflussen modulieren. Auch bei den Frauen der CORA-Studie kann eine Interaktion zwischen LIPC-514C/T-Polymorphismus und Insulin nachvollzogen werden. Die Frauen mit T-Allel und Insulinresistenz haben ein um 15,3 % signifikant niedrigeres HDL-Cholesterin als die Frauen mit CC-Genotyp und Insulinresistenz (95%-Konfidenzintervall -0,245/-0,049,  $p = 0,005$ ). Bei gesunden Frauen zeigt sich kein Effekt des T-Allels.

Bisher ist der scheinbare Widerspruch ungeklärt, dass der LIPC-514C/T-Polymorphismus einerseits mit hohen HDL-Konzentrationen assoziiert wird, andererseits vielfach eine Assoziation zu Hyperinsulinämie bzw. Insulinresistenz gezeigt wurde (Gomez et al. 2005, Stefan et al. 2005, Machicao et al. 2004, Pihlhamaki et al. 2000). Yabu et al. (2005) haben bei Japanern in der hohen T-Allel-Frequenz sogar die Ursache für die hohe Diabetes-Inzidenz gesehen. Dass Japaner trotzdem auffällig hohe HDL-Konzentrationen haben, könnte daran liegen, dass bei Japanern im Gegensatz zu Kaukasiern das HDL-Cholesterin nicht vorrangig durch die hepatische Lipase beeinflusst wird. Mutationen des Cholesterylester-Transfer-

Proteins-Gens (CETP) bestimmen bei Japanern wesentlich das HDL-Cholesterin (Inazu et al. 2001). Die Aktivität des Cholesterylester-Transfer-Proteins (CETP) ist mit dem HDL-Cholesterin-Spiegel invers assoziiert (Bernard et al. 1998). Das CETP spielt im HDL-Stoffwechsel beim Cholesteryl-ester-Transfer des HDL-Cholesterins zu triglyzeridreichen Lipoproteinen eine Schlüsselrolle (Windler und Havel, 1985). Die Assoziation zwischen HDL-Cholesterin und CETP wird von weiteren Interaktionen beeinflusst. Chamberlain et al. (2008) z.B. fanden bei der Analyse der ARIC-Studie einen interagierenden Einfluss der Menopause auf die Assoziation zwischen der HDL-Konzentration und dem TaqIB-Polymorphismus des CETP-Gens.

Ethnische Differenzen allein erklären nicht die Diskrepanz zwischen den Assoziationen T-Allel/HDL-Konzentration einerseits und T-Allel/Insulinresistenz andererseits. In den vergangenen Jahren sind zunehmend Gen-Gen-Interaktionen analysiert worden. Stefan et al. (2005) fanden, dass der LIPC-514C/T-Polymorphismus mit einem erhöhten Leberfettgehalt und einer erniedrigten Insulinsensitivität assoziiert war. Diese Effekte wurden durch den Pro12Ala-Polymorphismus im Gen des PPAR $\gamma$ 2 (Peroxisom-Proliferator-aktivierter Rezeptor- $\gamma$ 2) abgeschwächt. Der PPAR $\gamma$ 2 ist ein wichtiger Transkriptionsfaktor, der die Adipozytendifferenzierung, die Lipid- und Glukose-Homeostasis und die Insulinsensitivität reguliert. Für den Pro12Ala-Polymorphismus des PPAR $\gamma$ 2 wurden Assoziationen zu einem niedrigen BMI, verbesserter Insulinsensitivität und einem geringeren Risiko Typ 2 Diabetes zu entwickeln gefunden (He 2009). Für beide Polymorphismen (LIPC und PPAR $\gamma$ 2) sind unterschiedliche Gen-Nahrungs-Interaktionen gezeigt worden (Ordovas et al. 2002, Luan et al. 2001). Das unterschiedliche Auftreten der beiden Polymorphismen und die verschiedenen Ernährungsverhalten in Studienpopulationen könnten somit Einfluss auf die phänotypischen Gen-Expressionen im Lipid- und Glukosestoffwechsel nehmen.

Der PPAR $\gamma$ 2 als wichtiger Transkriptionsfaktor im Lipid- und Glukosestoffwechsel wird wiederum durch Cross-Talk Interaktionen beeinflusst. Foryst-Ludwig et al. (2009) fanden im Tierversuch eine Beeinflussung der Effekte des Östrogenrezeptors ER $\beta$  im Lipid- und Glukosestoffwechsel durch einen negativen Cross-Talk mit dem PPAR $\gamma$ 2. Sie zeigten, dass der ER $\beta$  Insulinsensitivität und Glukosetoleranz abschwächt. ER $\beta$  und PPAR $\gamma$  gehören beide der NHR- Familie (nuclear hormone receptor) an und teilen einen Pool von Co-Faktoren, was gegenseitige Beeinflussungen möglich macht (Cross-Talk). Wang et al. (2002) zeigten eine Inhibierung der liganden-induzierten Aktivierung der PPAR $\gamma$  durch Östrogenrezeptoren. Foryst-Ludwig et al. wiesen eine negative Regulation der liganden-induzierten Aktivität der PPAR $\gamma$  durch ER $\beta$  in vitro nach. Weiterhin wurde zuvor gezeigt, dass die durch Östrogenrezeptoren induzierte Gen-Expression durch PPAR $\gamma$  kompetitiv unterdrückt werden kann (Keller et al. 1995). In einer Studie, in der ein inhibitorischer Effekt von Tocopherolen auf

die Brustkrebs-Karzinogenese analysiert wurde, zeigte sich, dass Tocopherole die Expression des Östrogenrezeptors ER $\alpha$  im Brustkrebsgewebe abschwächen, während die Expression der PPAR $\gamma$  induziert wurde (Lee et al. 2009). Man vermutete, dass die Aktivierung der PPAR $\gamma$  über eine Cross-Talk-Beeinflussung die Antiöstrogen-Wirkung der Tocopherole vermitteln könnte. Es wird deutlich, dass die enge Verflechtung von Transkriptionsfaktoren, Östrogen, Insulin, Nahrung, interagierender Polymorphismen und Cross-Talk-Effekte im Lipid- und Glukosestoffwechsel den resultierenden Phänotyp bestimmen.

Eine Datenbank (<http://pdap1.trc.rwcp.or.jp/research/db/TFSEARCH.html>), mit der potentielle Bindungsstellen für Transkriptions-Faktoren gesucht werden können hat gezeigt, dass der LIPC-514C/T Polymorphismus innerhalb einer Bindungsstelle (E-Box) für insulinabhängige spezifische Stimulationsfaktoren (upstream stimulatory factors) liegt (Deeb und Peng 2000). Die Transkriptionsfaktoren USF1 und USF2 spielen eine wichtige Rolle bei der Regulation einer Reihe von am Lipid- und Glukose-Stoffwechsel beteiligten Gene, so auch bei der Expression des Gens der hepatischen Lipase (LIPC). Botma et al. (2001) berichteten, dass die Bindungsaffinität der USF zur -514-Region durch die C/T-Substitution 4-fach reduziert war. Bisher wurde angenommen, dass das die Assoziation zwischen dem T-Allel und einer erniedrigten Aktivität der hepatischen Lipase und höheren HDL-Konzentrationen erklärt. In dieser Studie ist das T-Allel jedoch mit niedrigeren HDL-Konzentrationen in Abhängigkeit einer Insulinresistenz assoziiert. Van Deursen et al. (2009) zeigten, dass durch die -514C/T-Substitution zwar in vitro die E-Box für die USF verschwindet, was allerdings ohne Effekt auf den Anstieg der Aktivität der hepatischen Lipase durch USF1 und USF2 war. Bisher bleibt daher der Wirkmechanismus unklar, wie Insulin die hepatische Lipase und den HDL-Stoffwechsel beeinflusst.

Botma et al. (2005) postulierten, dass die Expression der hepatischen Lipase als ein integraler Bestandteil der intrazellulären Lipid-Homöostase reguliert wird. Sie zeigten, dass die durch die USF stimulierte Expression der hepatischen Lipase durch die Transkriptionsfaktoren SRBEP (Sterol regulatory element-binding protein) inhibiert wird. Dabei wurde eine gegensätzliche und E-Box-unabhängige Regulation durch USF1 und SREBP1 im LIPC-Promoter beobachtet. Die SREBP sind an der Aktivierung der Expression zahlreicher am Cholesterin- und Lipidstoffwechsel beteiligter Gene involviert (Weber et al. 2004). Dabei konnte keine direkte Bindungsstelle für das SREBP im HL-Promoter identifiziert werden, so dass man bisher davon ausgeht, dass das SREBP die Transkription der hepatischen Lipase indirekt über eine Interaktion zum USF1 inhibiert (Le Bourg 2006). Eine weitere interessante Gen-Gen-Interaktion zeigte Wölflé (2009) in ihrer Arbeit zwischen dem LIPC-514C/T-Polymorphismus und dem usf1s2-Polymorphismus im USF1-Gen. Das T-Allel war nur dann mit einem erhöhten

Leberfettgehalt assoziiert, wenn die Probanden gleichzeitig homozygote Träger des häufigeren G-Allels des usf1s2-Polymorphismus waren.

Eine weitere relevante Gen-Gen-Interaktion im Rahmen der EARS-II Studie fanden Jansen et al. (2001). Sie zeigten, dass eine Interaktion zwischen dem APOC3-482C/T-Polymorphismus und LIPC-514C/T-Polymorphismus die Glukose-Toleranz beeinflusst. ApoC-III inhibiert die Hydrolyse der Plasma-Triglyzeride durch die Lipoproteinlipase (Wang & Sul 1985) und schwächt die rezeptorvermittelte Aufnahme der postprandialen Lipoproteine ab. Eine weitere Gen-Variation, die im HDL-Stoffwechsel eine Rolle spielt, ist der IVS-401-Polymorphismus des Gens des Östrogenrezeptors ER $\alpha$ , der die Wirkung einer Hormonersatztherapie auf die HDL-Konzentration signifikant beeinflusst (Herrington et al. 2002). Bisher ist noch unbekannt, wie der Polymorphismus die Östrogenwirkung auf die Aktivität der hepatischen Lipase beeinflusst.

Die Ernährung ist ebenfalls ein anerkannter Einflussfaktor auf das HDL-Cholesterin, der mit dem LIPC-514C/T-Polymorphismus interagiert. Ordovas et al. (2002) haben Daten der Framingham-Studie analysiert und festgestellt, dass der T-Allel-Effekt nur für Individuen zutrifft, die sich fettarm ernähren (<30% der Energiezufuhr). Nahmen die TT-Genotypen mehr als 30 % Fett zu sich, hatten sie im Vergleich zu den CT- und CC-Genotypen die niedrigsten HDL-Cholesterin-Werte. Bei der Differenzierung der Nahrungsfettaufnahme zeigte sich, dass der T-Allel-Effekt auf der reduzierten Aufnahme tierischer Fette, gesättigter und einfach ungesättigter Fettsäuren beruht. Für pflanzliche und mehrfach ungesättigte Fettsäuren konnte kein Einfluss auf die Interaktion zwischen Genotyp und HDL-Cholesterin nachvollzogen werden. Auch Zhang et al. (2005) konnten einen Einfluss der Nahrungsfette auf den T-Allel-Effekt nachvollziehen. Sie fanden in einer Studie an US-amerikanischen Männern mit Diabetes mellitus, dass das T-Allel nur dann mit höherem HDL-Cholesterin assoziiert war, wenn die Männer nicht übergewichtig waren oder sich reich an gesättigten Fettsäuren ernährten. In der CORA-Studie zeigt sich dagegen keine signifikante Interaktion zwischen T-Allel und Nahrungsfetten. Möglicherweise wird der assoziierte Effekt von T-Allel und Nahrungsfetten auf das HDL-Cholesterin vom Geschlecht beeinflusst und ist daher in der CORA-Studie nicht zu erkennen.

In kaukasischen Populationen kommen TT-Genotypen sehr selten vor (0,15-0,26). Das war auch in dieser Studie der Fall (TT: 0,06, TT+CT: 0,4). Um einen T-Allel-Effekt nachvollziehen zu können, wurden in dieser Studie in der Varianz- und Regressionsanalyse die CT- und TT-Genotypen zusammengefasst. Die CORA-Studie zeigt, dass der Effekt des T-Allels auf das HDL-Cholesterin zumindest bei Frauen kaukasischen Ursprungs von einer Insulinresistenz oder dem Prämenopausestatus abhängig ist. Ohne Insulinresistenz oder bei

postmenopausalen Frauen hat das T-Allel keinen Effekt auf das HDL-Cholesterin. Die Wirkmechanismen dieser Interaktionen sind allerdings unklar.



## 5 Zusammenfassung

Vielfach wurde ein Effekt des -514C/T-Polymorphismus im Promoterbereich des Gens der hepatischen Lipase (LIPC) auf die Konzentration des HDL-Cholesterins beschrieben (T-Allel-Effekt). Allerdings konnte dieser Effekt nicht in allen genetischen Assoziationsstudien nachvollzogen werden. Insbesondere bei Frauen waren die Ergebnisse inkonsistent. In der CORA-Studie konnte auch für Frauen ein Effekt des LIPC-514C/T-Polymorphismus auf die Konzentration des HDL-Cholesterins nachgewiesen werden. Kombinierte Effekte mehrerer Faktoren scheinen die Assoziation zwischen T-Allel und HDL-Cholesterin zu modulieren. In der CORA-Studie haben prämenopausale oder insulinresistente Frauen mit einem T-Allel ein signifikant niedrigeres HDL-Cholesterin als prämenopausale oder insulinresistente Frauen mit CC-Genotyp, während bei postmenopausalen oder normoglykämischen Frauen T-Allel und HDL-Cholesterin nicht signifikant assoziiert waren. Die Abhängigkeit vom Menopausestatus könnte erklären, warum der Effekt des T-Allels auf das HDL-Cholesterin bei Frauen bisher nicht überzeugend gezeigt werden konnte. Die genauen Wirkmechanismen des Einflusses des LIPC-514C/T Polymorphismus auf Insulin und Östrogen im HDL-Stoffwechsel sind bisher unklar.

Die unterschiedlichen Interaktionen verschiedener Einflussfaktoren, die in den genetischen Assoziationsstudien beschrieben werden, zeigen, dass Gen-Produkte nicht grundsätzlich isoliert wirken. Ein genetischer Risikoscore für kardiovaskuläre Erkrankungen könnte sinnvoll werden, wenn die Vielzahl von Variationen der am Glukose- und Lipidstoffwechsel involvierten Gene und deren Interaktionen bekannt sind, und man die Wirkmechanismen der einzelnen Einflussfaktoren kennt.

Es ist offenbar, dass der HDL-Stoffwechsel komplex beeinflusst wird. Bisher fehlen zwischen den verschiedenen genetischen Assoziationsstudien durchgehend reproduzierbare und konsistente Ergebnisse. Das Fehlen dieser Konsistenz stellt eine Limitation der Assoziationsstudien dar, die unter anderem durch inadäquate statistische Power, unterschiedliche Studienpopulationen und populations-spezifischen Kopplungsungleichgewichten bei der Rekombination begründet ist. Zusätzlich gibt es noch zu viele unbekannte Einflussfaktoren bzw. Interaktionen. Man kennt zahlreiche Single Nucleotide Polymorphismen (SNP) über eine Vielzahl von Genen, von denen einige wiederum gekoppelt vererbt werden (Lu et al. 2008). In den letzten Jahren wurden zunehmend genomweite Assoziationsstudien (GWA, [www.gwas.org](http://www.gwas.org)) durchgeführt, um Gen-Regionen zu identifizieren, die die HDL-Konzentration beeinflussen (Heid et al. 2008, Willer et al. 2008, Kathiresan et al. 2008 u. 2009, Lu et al. 2008). Doch die meisten Varianten der DNA-Sequenzen, die Variationen des HDL-Cholesterin-Spiegels in der allgemeinen Bevölkerung bedingen, sind vermutlich noch unbekannt.

## 6 Literaturverzeichnis

**Altmann DG:** *Practical Statistics of Medical Research*. Chapman & Hall, London-Glasgow-NewYork-Tokyo-Melbourne-Madras. 1991

**Applebaum-Bowden D,** McLean P, Steinmetz A, Fontana D, Matthys C, Warnick GR, Cheung M, Albers JJ, and Hazzard WR.: *Lipoprotein, apolipoprotein, and lipolytic enzyme changes following estrogen administration in postmenopausal women*.  
J Lipid Res 30: 1895–1906. 1989

**Berglund L,** Oliver EH, Fontanenz N, et al.: *HDL-subpopulation patterns in response to reduction in dietary total and saturated fat intakes in healthy subjects*. Am J Clin Nutr 70: 992-1000. 1999

**Bernard S,** Moulin P, Lagrost L, Picard S, ElcheblyM, Ponsin G, et al.: *Association between HDL-cholesterol concentration an Taq1B CETP gene polymorphism in non-insuli-dependent diabetes mellitus*. J Lipid Res 39 (1): 59-65. 1998

**Boeing H,** Wahrendorf J, Becker N, EPIC-Germany - *A Source of Studies into Diet and Risk of Chronic Diseases*. ANN Nutr Metab 43: 195-204. 1999

**Bohlscheid TS,** Hoting I, Boeing H, Wahrendorf J: *Reproducibility and relative validity of food group intake in a food frequency questionnaire developed for the German Part of the Epic project. European Prospective Investigation into Cancer und Nutrition*. Int J Epidemiol 26 Suppl 1: 59-70. 1997

**Bohlscheid TS,** Hoting I, Boeing H, Wahrendorf J: *Reproducibility and relative validity of energy and macronutrient intake of food frequency questionnaire developed for the German Part of the Epic project. European Prospective Investigation into Cancer und Nutrition*. Int J Epidemiol 26 Suppl 1: 71-81. 1997

**Botma GJ,** Verhoeven AJ, Jansen H: *Hepatic lipase promoter activity is reduced by the C-480T and G-216A substitutions present in the common LIPC gene variant, and its increased by upstream stimulatory factor*. Atherosclerosis 154: 625-632. 2001

**Botma GJ,** van Deursen D, Vieira D, van Hoek M, Jansen H, Verhoeven AJ: *Sterol-regulatory-element binding protein inhibits upstream stimulatory factor-stimulated hepatic lipase gene expression*. Atherosclerosis 179 (1): 61-67. 2005

**Brinton EA:** *Oral Estrogen Replacement Therapy in Postmenopausal Women Selectively Raises Levels and Production Rates of Lipoprotein A-I and Lowers Hepatic Lipase Activity Without Lowering the Fractional Catabolic Rate.* *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 16:431-440. 1996

**Brown SA,** Hutchinson R, Morrisett J, Boerwinkle E, Davis CE, Gotto AM Jr, Patch W: *Plasma lipid, lipoprotein cholesterol and apoprotein distributions in selected US communities. The Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC).* *Arterioscler Thromb* 13: 1139-1158. 1993

**Carr MC,** Hokanson JE, Zambon A, Deeb SS, Barret HR, Ournell JQ, Brunzell JD: *The contribution of intraabdominal fat to gender differences, in hepatic lipase activity and low/high density lipoprotein heterogeneity.* *J Clin Endocrinol Metab* 86: 6:2831-2837. 2001

**Carr MC,** Brunzell JD, Deeb SS: *Ethnic differences in hepatic lipase and HDL in Japanese, black and white Americans: role of central obesity and LIPC polymorphism.* *J Lipid Res* 45: 466-473. Mär 2004

**Chamberlain AM,** Folsom AR, Schreiner PJ, Boerwinkle E, Ballantyne CM: *Low-density lipoprotein and high-density lipoprotein cholesterol levels in relation to genetic polymorphisms and menopausal status: The Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study.* *Atherosclerosis* 200(2): 322-328. Okt 2008

**Chena W,** Sathanur R, Srinivasana, Boerwinkle E, Berensona GS: *Hepatic lipase promoter C-514T polymorphism influences serial changes in HDL cholesterol levels since childhood: the Bogalusa Heart Study.* *Atherosclerosis* 169, 1: 175-182. Jul 2003

**Colvin PL,** Auerbach BJ, Case LD, Hazzard WR, Applebaum-Bowden D: *A dose-response relationship between sex hormone-induced change in hepatic triglyceride lipase and high-density lipoprotein cholesterol in postmenopausal women.* *Metab Clin Exper* 40: 1052–1056. 1991

**Deeb SS,** Peng R: *The C-514T Polymorphism in the human hepatic lipase gene promoter diminishes its activity.* *J Lipid Res* 41: 258-264. 2000

**Dietz Roux AV,** Stein Merkin S, Arnett D, Chambless L, Massing M, Nieto FJ, Sorlie P, Szklo M, Tyroler HA, Watson RL: *Neighborhood of residence an Incidence of coronary heart*

disease N Engl J Med 345: 99-106. 2001

**Dreon DM**, Fernstrom HA, Campos H, et al.: *Change in dietary fat intake is correlated with change in mass of large-low-density-lipoprotein particles in men.* Am J Clin Nutr 67: 828-836. 1998

**Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults:** *Summary of the Second Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP). Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel II).* JAMA 269: 3015-3023. 1993

**Foryst-Ludwig A**, Clemenz M, Hohmann S, Hartge M, Sprang C, Frost N, Krikov M, Bhanot S, Barros R, Morani A, Gustafsson J-A, Unger T, Kintscher U: *Metabolic Actions of Estrogen Receptor Beta (ER $\beta$ ) are Mediated by a Negative Cross-Talk with PPAR $\gamma$ .* PLoS Genet 2008 June; 4(6): e1000108. Published online 2008 June 27. doi: 10.1371/journal.pgen.1000108. 2008

**Gomez P**, Perez-Jimenez F, Marin C, Moreno JA, Gomez MJ, Bellido C, Perez-Martinez P, Fuentes F, Paniagua JA, Lopez-Miranda J: *The -514C/T polymorphism in the hepatic lipase gene promoter is associated with insulin sensitivity in a healthy young population.* J Mol Endocrinol 34: 331-8. Apr. 2005

**Guerra R**, Wang J, Grundy SM, et al.: *A hepatic lipase (LIPC) allele associated with high plasma concentrations of high density lipoprotein cholesterol.* Proc Natl Acad Sci USA. 94: 4523-4537. 1997

**He W:** *PPAR $\gamma$ 2 Polymorphism and Human Health.* PPAR Res 2009: 849538. Epub Apr 2009.

**Heid IM**, Boes E, Müller M, Kollerits B, Lamina C, Coassin S, Gieger C, Döring A, Klopp N, Frikke-Schmidt R, Tybjaerg-Hansen A, Brandstätter A, Luchner A, Meitinger T, Wichmann H-Kronenberg F: *Genome-Wide Association Analysis of High-Density Lipoprotein Cholesterol in the Population-Based KORA Study Sheds New Light on Intergenic Regions.* Circ Cardiovasc Genet 1: 10-20; 2008

**Heller DA**, de Faire U, Pedersen NL, Dahlén G, McClearn GE: *Genetic and environmental influences on serum lipid levels in twins.* N Engl J Med. 328(16):1150-6. Apr 1993

**Heller DA**, Pedersen NL, de Faire U, McClearn GE: *Genetic and environmental correlations among serum lipids and apolipoproteins in elderly twins reared together and apart.* Am J Hum Genet. 55(6): 1255–1267. Dez 1994

**Herrington DM**, Howard TD, Hawkins GA, Reboussin DM, Xu J, Zheng SL, Brosnihan B, Meyers DA, Bleecker ER: *Estrogen-receptor polymorphisms and effects of estrogen replacement on high-density lipoprotein cholesterol in women with coronary disease.* N Engl J Med 346(13): 967-974. März 2002

**Hong SH**, Song J, Kim JQ: *Genetic variations of the hepatic lipase gene in Korean patients with coronary artery disease.* Clin Biochem 33: 291-296. 2000

**Howard BV**, Criqui MH, Curb JD, Rodabough R, Safford MM, Santoro N, Wilson AC, Wylie-Rosett J: *Risk factor clustering in the insulin resistance syndrome and its relationship to cardiovascular disease in postmenopausal white, black and Hispanic and Asian/Pacific Islander women.* Metabolism 52: 362-371. 2003

**Ikenue N**, Wakatsuki A, Okatani Y: *Small low-density lipoprotein particles in women with natural or surgically induced menopause.* Obstet Gynecol 933: 566-570. 1999

**Inazu A**, Nishimura Y, Terada Y, Mabuchi H: *Effects of hepatic lipase gene promoter nucleotide variations on serum HDL cholesterol concentrations in the general Japanese population.* J Hum Genet 46 (4):172-7. 2001

**Isaacs A**, Sayed-Tabatabaei FA, Njajou OT, Wittemann JC, van Duijn CM: *The -514C->T hepatic lipase promoter region polymorphism and plasma lipids: a meta-analysis.* J Clin Endocrinol Metab 89 (8): 3858-63. Aug 2004

**Jansen H, Hülsmann WC**: *On hepatic and extrahepatic postheparin serum lipase activities and the influence of experimental hypercortisolism and diabetes on these activities.* Biochim Biophys Acta 398: 337-346. 1975

**Jansen H**, Verhoeven A, Weeks L, Kastelein JJ, Halley DJ, van den Ouweland A, Jukema JW, Seidell JC, Birkenhager JC: *Common C-toT substitution at position -480 of the hepatic lipase promoter associated with lowered lipase activity in coronary artery disease patients.* Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 17: 2837-2842. 1997

**Jansen H**, Waterworth DM, Nicaud V, Ehnholm C, Talmud PJ: *Interaction of the common*

*apolipoprotein C-III (APOC3 -482C > T) and hepatic lipase (LIPC -514C > T) promoter variants affects glucose tolerance in young adults. European Atherosclerosis Research Study II (EARS-II) .Ann Hum Genet. 65 (Pt 3): 237-43. May 2001*

**Ji J**, Herbison CE, Mamotte CD, Burke V, Taylor RR, van Bockxmeer FM: *Hepatic lipase gene -514 C/T polymorphism an premature coronary heart disease. J Cardiovasc Risk 9 (2): 105-113. Apr 2002*

**Jones DR**, Schmidt RL, Pickard RT, Foxworthy PS, EachoPI: *Estrogen receptor-mediated repression of human hepatic lipase gene transcription. J Lipid Res 43: 383–391. 2002*

**Katan MB**, Grundy SM, Willett WC: *Should a low-fat, high-carbohydrate diet be recommended for everyone? Beyond low-fat diets. N Engl J Med 337: 563-566. 1997*

**Kathiresan S**, Melander O, Guiducci C, Surti A, Burt NP, Rieder MJ, Cooper GM, Roos C, Voight BF, Havulinna AS, Wahlstrand B, Hedner T, Corella D, Tai ES, Ordovas JM, Berglund G, Vartiainen E, Jousilahti P, Hedblad B, Taskinen MR, Newton-Cheh C, Salomaa V, Peltonen L, Groop L, Altshuler DM, Orho-Melander M: *Six new loci associated with blood low-density lipoprotein cholesterol, high-density lipoprotein cholesterol or triglycerides in humans. Nat Genet 40 (2): 189-197. Feb 2008*

**Kathiresan S**, Willer CJ, Peloso GM, Demissie S, Musunuru K, Schadt EE, Kaplan L, Bennett D, Li Y, Tanaka T, Voight BF, Bonnycastle LL, Jackson AU, Crawford G, Surti A, Guiducci C, Burt NP, Parish S, Clarke R, Zelenika D, Kubalanza KA, Morken MA, Scott LJ, Stringham HM, Galan P, Swift AJ, Kuusisto J, Bergman RN, Sundvall J, Laakso M, Ferrucci L, Scheet P, Sanna S, Uda M, Yang Q, Lunetta KL, Dupuis J, de Bakker PI, O'Donnell CJ, Chambers JC, Kooner JS, Hercberg S, Meneton P, Lakatta EG, Scuteri A, Schlessinger D, Tuomilehto J, Collins FS, Groop L, Altshuler D, Collins R, Lathrop GM, Melander O, Salomaa V, Peltonen L, Orho-Melander M, Ordovas JM, Boehnke M, Abecasis GR, Mohlke KL, Cupples LA: *Common variants at 30 loci contribute to polygenic dyslipidemia. Nat Genet 41 (1): 56-65. Jan 2009*

**Keller H**, Givel F, Perroud M, Wahli W: *Signaling cross-talk between peroxisome proliferator-activated receptor/retinoid X receptor and estrogen receptor through estrogen response elements. Mol Endocrinol 9: 794–804. 1995*

**Ko YL**, Hsu LI, Hsu KH, Ko YH, Lee YS: *The interactive effect of the hepatic lipase gene promoter polymorphism with sex and obesity on high-density-lipoprotein cholesterol in*

*Taiwanese-Chinese. Atherosclerosis* 172 (1): 135-42. Jan. 2004

**Lambert G**, Amar MJA, Martin P, et al.: *Hepatic lipase deficiency decreases the selective uptake of HDL-cholesterol esters in vivo.* *J Lipid Res* 41: 667-672. 2001

**Le Bourg A**: *Sterol regulation of hepatic lipase. A novel role for sterol regulatory element binding protein in cholesterol homeostasis.* Cornell University Library: <http://hdl.handle.net/1813/2699> - 14-Mar-2006

**Lee HJ**, Ju J, Paul S, So J-Y, DeCastro A, Smolarek A, Lee M-J, Yang CS, Newmark HL, Suh N: *Mixed Tocopherols Prevent Mammary Tumorigenesis by Inhibiting Estrogen Action and Activating PPAR- $\gamma$ .* Published OnlineFirst June 9, 2009; doi: 10.1158/1078-0432.CCR-08-3028. *Clin Cancer Res* 15: 4242. Jun 2005

**Lu Y**, Dollé ME, Imholz S, van 't Slot R, Verschuren WM, Wijmenga C, Feskens EJ, Boer JM: *Multiple genetic variants along candidate pathways influence plasma high-density lipoprotein cholesterol concentrations.* *J Lipid Res* 49 (12): 2582-9. Dec 2008

**Luan J**, Browne PO, Harding AH, Halsall DJ, O'Rahilly S, Chatterjee VK, Wareham NJ: *Evidence for gene-nutrient interaction at the PPAR locus.* *Diabetes* 50: 686-689. 2001

**Machicao F**, Staiger H, Fritsche A, Guirguis A, Weisser M, Stumvoll M, Haring HU: *Association of the -514C-->T polymorphism in the hepatic gene (LIPC) promoter with elevated fasting insulin concentrations, but not insulin resistance, in non-diabetic Germans.* *Horm Metab Res* 36 (5): 303-6. Mai 2004

**Marques-Vidal P**, Mazoyer E, Bongard V, Gourdy P, Ruidavets JB, Drouet L, et al.: *Prevalence of insulin resistance syndrome in southwestern France and its relationship with inflammatory and hemostatic markers.* *Diabetes Care* 25: 1371-1377. 2002

**Matthews DR**, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC: *Homeostasis model assessment: insulin resistance and beta-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man.* *Diabetologia* 28: 412-419. 1985

**Mensink RP**, Katan MB: *Effect of dietary fatty acids on serum lipids and lipoproteins: meta-analysis of 27 trials.* *Arterioscler Thromb* 12: 911-919. 1992

**Nozaki S**, Kubo M, Sudo H, Matsuzawa Y, Tarui S: *The role of hepatic triglyceride lipase in the metabolism of intermediate-density lipoprotein – postheparin lipolytic activities determined by a sensitive, nonradioisotopic method in hyperlipidemic patients and normals.* Metabolism 35: 53-58. 1986

**Nozaki S**, Shimomura I, Funahashi T, Menju M, Kubo M, Matsuzawa Y (1992): *Stimulation of the activity and mRNA level of hepatic triacylglycerol lipase by triiodothyronine in Hep G2.* Biochim Biophys Acta 1127: 298-302. 1992

**Ordovas JM**, Corella D, Demissie S, Cupples LA, Couture P, Coltell O, Wilson PW, Schaefer EJ, Tucker KL: *Dietary fat intake determines the effect of a common polymorphism in the hepatic lipase gene promoter on high-density lipoprotein metabolism: evidence of a strong dose effect in this gene-nutrient interaction in the Framingham Study.* Circulation Oct 29; 106 (18): 2315-21. 2002

**Pihlhamaki J**, Karjalainen L, Karhapaa P, Vauhkonen I, Taskinen MR, Deeb SS, Laasko M: *G-250A substitution in promoter of hepatic lipase gene is associated with dyslipidemia and insulin resistance in healthy control subjects and in members of families with familial combined hyperlipidemia.* Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology 20: 1789 - 1795. 2000

**Proudler AJ**, Godsland IF, Bruce R, Seed M, Wynn V: *Lipid and carbohydrate metabolic risk markers for coronary heart disease and blood pressure in healthy non-obese premenopausal women of different racial origins in the United Kingdom.* Metabolism 45: 328-333. 1996

**Romano G**, Patti L, Innelli F, Di Marino L, Annuzzi G, Iavicoli M, Coronel GA, Riccardi G, Rivellese AA: *Insulin and sulfonylurea therapy in NDDIM patients: are the effects on lipoprotein metabolism different even with similar blood glucose control?* Diabetes 46 1601-1606. 1997

**Santamarina-Fojo S**, Haudenschild CC, Amar M: *The role of hepatic lipase in lipoprotein metabolism and arteriosclerosis.* Cur Opin Lipid 9: 211-219. 1998

**Shohet RV**, Vega GL, Bersot TP, Mahley RW, Grundy SM, Guerra R, Cohen JC: *Sources of variability in genetic association studies: insights from the analysis from the hepatic lipase (LIPC).* Hum Mutat 19: 536-42. 2002



**Sorva R**, Kuusi T, Dunkel L, Taskinen MR: *Effects of endogenous sex steroids on serum lipoproteins and postheparin plasma lipolytic enzymes*. J Clin Endocrinol Metab 66: 408-413. 1988

**Sparkes RS**, Zollman S, Klisak I, Kirchgessner TG, Komaromy MC, Mohandas T, Schotz MC, Lusis AJ: *Human genes involved in lipolysis of plasma lipoproteins: mapping of loci for lipoprotein lipase to 8p22 and hepatic lipase to 15q21*. Genomics. 1(2): 138-44. Oct 1987

**Stefan N**, Schäfer S, Machicao F, Machmann J, Schick F, Claussen CD, Stumvoll M, Häring H-U, Fritsche A: *Liver fat and insulin resistance are independently associated with the -514C>T polymorphism of the hepatic lipase gene*. J Clin End & Metab 90 (7): 4238-4243. 2005

**St. Pierre J**, Miller-Felix I, Paradis ME, Bergeron J, Lamarche B, Despres JP, Gaudet D, Vohl MC: *Visceral obesity attenuates the effect of the hepatic lipase -514C>T polymorphism on plasma HDL-cholesterol levels in French-Canadian men*. Mol Genet Metab 78 (1): 31-36. Jan 2003

**Talmud PJ**, Berglund L, Hawe EM, Waterworth DM, Isasi CR, Deckelbaum RE, Starc T, Ginsberg HN, Humohries SE, Shea S: *Age-related effects of genetic variation on lipid levels: the Columbia University BioMarkers Study*. Pediatrics 108: E50-58. 2001

**Tan K-C**, Shiu SW, Chu BY: *Effects of gender, hepatic lipase gene polymorphism and type 2 diabetes mellitus on hepatic lipase activity in Chinese*. Atherosclerosis 157: 233-239. 2001

**Tchernof A**, Calles-Escandon J, Sites CK, Poehlman ET: *Menopause, central body fatness, and insulin resistance: effects of hormone-replacement therapy*. Coron Artery Dis 9 (8): 503-511, 1998)

**Thumfart JA**: *Einfluß von HMG-CoA-Reduktase Inhibitoren auf den Promotor der hepatischen Triglyceridlipase*. Dissertation an der Albert-Ludwigs-Universität, Freiburg im Breisgau: <http://www.freidok.uni-freiburg.de/volltexte/626/> . Publikationsdatum: 27.1.2003

**Thuren T**: *Hepatic lipase and HDL metabolism*. Curr Opin Lipidol 11: 277-283. 2000

**Tikkanen MJ**, Kuusi T, Nikkila EA, Stenman UH: *Variation of postheparin plasma hepatic lipase by menstrual cycle*. Metabolism 35: 99-104. 1986

**Turner SD**, Berg RL, Linneman JG, Peissig PL, Crawford DC, Denny JC, Roden DM, McCarty CA, Ritchie MD, Wilke RA: *Knowledge-Driven Multi-Locus Analysis Reveals Gene-Gene Interactions Influencing HDL Cholesterol Level in Two Independent EMR-Linked Biobanks*. PLoS One. 2011; 6(5): e19586. 2011, Published online 2011 May 11. doi: 10.1371/journal.pone.0019586. 2011

**Tyroler HA**, Glueck CJ, Christensen B, Kwiterovic Jr.: *Plasma high density lipoprotein cholesterol comparison in black and white populations. The Lipid Research Clinics Program Prevalence Study*. Circulation 62: IV99-IV107. 1980

**van Deursena D**, van Leeuwena M, Vaulontb S, Jansen H, Verhoevena AJM: *Upstream Stimulatory Factors 1 and 2 activate the human hepatic lipase promoter via E-box dependent and independent mechanisms*. Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids 1791 (4): 229-237. Apr 2009

**Vega GL**, Clark LT, Tang A, Marcovina S, Grundy SM, Cohen JC.: *Hepatic lipase activity is lower in African American than in white American men: effects of 5'flanking polymorphism in the hepatic lipase gene*. J Lipid Res 39: 228-232. 1998

**Wang CS**, McConathy WJ, Kloer HU, Alaupovic P: *Modulation of lipoprotein lipase activity by apolipoproteins. Effect of apolipoprotein C-III*. J Clin Invest. 75(2): 384-90. Feb 1985

**Wang D, Sul HS**: *Upstream stimulatory factor binding to the E-box at -65 is required for insulin regulation of the fatty acid synthase promoter*. J Biol Chem 272: 26367-26374. 1997

**Wang X**, Kilgore MW: *Signal cross-talk between estrogen receptor alpha and beta and the peroxisome proliferator-activated receptor gamma1 in MDA-MB-231 and MCF-7 breast cancer cells*. Mol Cell Endocrinol. 194(1-2):123-33. Aug 2002

**Weber LW**, Boll M, Stampfl A: *Maintaining cholesterol homeostasis: sterol regulatory element-binding proteins*. World J Gastroenterol. Nov 1; 10 (21): 3081-7. 2004

**Willer CJ**, Sanna S, Jackson AU, Scuteri A, Bonnycastle LL, Clarke R, Heath SC, Timpson NJ, Najjar SS, Stringham HM, Strait J, Duren WL, Maschio A, Busonero F, Mulas A, Albai G, Swift AJ, Morken MA, Narisu N, Bennett D, Parish S, Shen H, Galan P, Meneton P, Hercberg S, Zelenika D, Chen WM, Li Y, Scott LJ, Scheet PA, Sundvall J, Watanabe RM, Nagaraja R, Ebrahim S, Lawlor DA, Ben-Shlomo Y, Davey-Smith G, Shuldiner AR, Collins R, Bergman RN, Uda M, Tuomilehto J, Cao A, Collins FS, Lakatta E, Lathrop GM, Boehnke M,

Schlessinger D, Mohlke KL, Abecasis GR: *Newly identified loci that influence lipid concentrations and risk of coronary artery disease*. Nat Genet 40 (2): 161-169. Feb 2008

**Windler E:** *Messung der Serumlipoproteine*. Internist 38: 876. 1998

**Windler E, Havel RJ:** *Inhibitory effects of C apolipoproteins from rats and humans on the uptake of triglyceride-rich lipoproteins and their remnants by the perfused rat liver*. J Lipid Res.; 26(5):556-65. Mai 1985

**Woelfle LM:** *Polymorphismen im Upstream Transcription Factor-1 (USF-1) Gen: Assoziation mit antilipolytischer Insulinsensitivität und Leberfett*.

<http://nbn-resolving.de/urn:nbn:de:bsz:21-opus-39334>. 2009 oder

<http://tobias-lib.uni-tuebingen.de/volltexte/2009/3933/>

**Yabu Y,** Noma K, Nakatani K, Nishioka J, Suematsu M, Katsuki A, Hori Y, Yano Y, Sumida Y, Wada H, Nobori T: *C-514T polymorphism in hepatic lipase gene promoter is associated with elevated triglyceride levels and decreasing insulin sensitivity in nondiabetic Japanese subjects*. Int J Mol Med 16 (3): 421-425. Sep. 2005

**Zambon A,** Deeb S, Hokanson JE, et al.: *Common variants in the promoter of the hepatic lipase gene are associated with lower levels of hepatic lipase activity, buoyant LDL, and higher HDL2 cholesterol*. Arterioscler Thromb Vasc Biol 18: 1723-1729. 1998

**Zhang C,** Lopez-Ridaura R, Rimm EB, Rifai N, Hunter DJ, Hu FB: *Interactions between the -514C3T polymorphism of the hepatic lipase gene and lifestyle factors in relation to HDL concentrations among US diabetic men*. Am J Clin Nutr 81:1429–35. 2005

**Zyriax B-C,** Boeing H, Windler E: *Nutrition is a powerful independent risk factor for coronary heart disease in women - The CORA Study: a population-based case-control study*, Eur J of Clin Nutr 1-7. 2005

## **7 Danksagung**

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum erfolgreichen Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Besonders herzlich bedanken möchte ich mich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Eberhard Windler für die Überlassung des Themas, die konstruktive wissenschaftliche Betreuung sowie die kritische Durchsicht dieser Arbeit.

Mein besonderer Dank gilt auch Frau Dr. Dipl. oec. troph. Birgit-Christiane Zyriax für die Bereitstellung der Daten aus der CORA-Studie.

Besonders bedanken möchte ich mich bei Herrn Eik Vettorazzi vom Institut für Medizinische Biometrie und Epidemiologie vom Universitätsklinikum Hamburg-Eppendorf für seine engagierte Unterstützung bei der statistischen Auswertung.

Für die statistischen Berechnungen möchte ich ebenfalls Herrn Wolfgang Bernigau vom Deutschen Institut für Ernährungsforschung in Potsdam-Rehbrücke, Abteilung Epidemiologie, danken.

Herrn Prof. Dr. Wolfgang Höppner vom Bioglobe Labor Hamburg möchte ich für die molekularbiologischen Bestimmungen herzlich danken.

## 8 Lebenslauf

## **9 Eidesstattliche Versicherung**

Ich versichere ausdrücklich, dass ich die Arbeit selbständig und ohne fremde Hilfe verfasst, andere als die von mir angegebenen Quellen und Hilfsmittel nicht benutzt und die aus den benutzten Werken wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen einzeln nach Ausgabe (Auflage und Jahr des Erscheinens), Band und Seite des benutzten Werkes kenntlich gemacht habe.

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.