Laboratoriumsdiagnostik bei Fettstoffwechselstörungen

Laboratory Diagnostics of Lipid Disorders

W. März¹, A. von Eckardstein²

Zusammenfassung: Die häufigste Indikation der Lipidstoffwechseldiagnostik ist die Abschätzung des kardiovaskulären Risikos. Hierfür sind die Parameter Gesamtcholesterin, Triglyzeride, HDL-C und LDL-C essentiell. Für die Beurteilung des Herzinfarkt- und Schlaganfallrisikos sind diese Parameter zwar notwendig, aber nicht hinreichend. Ihre Information muß mit anamnestischen und klinischen Informationen zum Vorhandensein arteriosklerotischer Erkrankungen beim Patienten und/oder seinen Familienangehörigen, Alter, Rauchen, Blutdruck und Diabetes mellitus kombiniert werden. Internationale Konsensus-Gruppen haben Tabellen, Scores oder Algorithmen publiziert, die aus diesen Informationen das individuelle, globale Herzinfarktrisiko abschätzen und therapeutische Zielwerte, insbesondere für LDL-C, definieren. Die Bestimmung der Lipoprotein(a)-Konzentration im Serum oder Plasma kann die Vorhersage kardiovaskulärer Ereignisse verbessern. Neben dieser allgemeinen Lipidstoffwechsel-Diagnostik gibt es zahlreiche spezielle genetische, biochemische und zellbiologische Tests, welche die Differentialdiagnostik primärer (monogener) Fettstoffwechselstörungen ermöglichen.

Schlüsselwörter: Cholesterin; Triglyzeride; HDL; LDL; Lipoprotein(a); Apolipoproteine; Arteriosklerose; Lipoproteinlipase; LDL-Rezeptor.

Summary: The estimation of cardiovascular risk is the most frequent indication for the performance of lipid diagnostics. The most essential parameters include total cholesterol, triglycerides, HDL cholesterol, and LDL cholesterol. These parameters are necessary, but not sufficient to estimate the risk of myocardial infarction and stroke. They must be interpreted in the context of historical and clinical information on the presence of arteriosclerotic disease in the patient and/or his or her family as well as age, smoking, blood pressure, and diabetes mellitus. Tables, scores, or al-

gorithms published by international consensus groups help to estimate the individual global risk and to define therapeutic target values especially for LDL cholesterol. The measurement of lipoprotein(a) plasma levels improves the prediction of cardiovascular risk. In addition to this general diagnostics of lipid metabolism, many specific genetic, biochemical, and cell biological tests have been designed for the differential diagnosis of primary (monogenic) lipid disorders.

Keywords: cholesterol; triglycerides; HDL; LDL; lipoprotein(a); apolipoproteins; arteriosclerosis; lipoprotein lipase; LDL receptor.

Die Störungen des Fettstoffwechsels sind wesentliche Ursachen der Atherosklerose und ihrer Komplikationen. Inzwischen ist klar, daß die Behandlung von Fettstoffwechselstörungen eines der wenigen empirisch abgesicherten Prinzipien in der Vorbeugung und Behandlung von Gefäßerkrankungen darstellt.

Klinisch bleiben Störungen des Fettstoffwechsels oft ohne Symptome. Deshalb ist ihre Diagnose eine Domäne der Laboratoriumsmedizin. Aufgrund des systematischen Einsatzes zell- und molekulargenetischer Methoden sind in den letzten Jahre viele Erkenntnisse zur Pathogenese der Hyper- und Dyslipoproteinämien gewonnen worden. Die meisten angeborenen Störungen des Fettstoffwechsels können inzwischen auf definierte genetische Varianten von Lipoproteinrezeptoren, Apolipoproteinen, Enzymen und Lipid-Transfer-Proteinen zurückgeführt werden. Deren Differenzierung ist aber im Alltag oft nicht erforderlich und damit vor allem von akademischem Interesse. Grund hierfür ist, daß eine begrenzte Zahl therapeutischer Optionen besteht und daß sich differentialtherapeutische Überlegungen in der Praxis schnell in der Frage erschöpfen, ob LDL-Cholesterin (LDL-C), Triglyzeride oder beide abgesenkt werden sollen.

Neben einem knappen Überblick über die Pathobiochemie soll dieser Beitrag praxisorientierte Hinweise zum rationalen Einsatz von Laboruntersuchungen bei der Differentialdiagnose und Behandlung von Patienten mit Fettstoffwechselstörungen geben. Methodische Aspekte werden nur kurz abgehandelt und finden insbesondere dann Berücksichtigung, wenn sie sich direkt auf die klinische Einordnung der Ergebnisse auswirken.

¹Abteilung Klinische Chemie, Medizinische Klinik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg, Deutschland

²UniversitätsSpital Zürich, Institut für klinische Chemie, Rämistrasse 100, CH-8091 Zürich, Schweiz

Korrespondenzadresse: Priv.-Doz. Dr. med. Winfried März, Abteilung Klinische Chemie, Medizinische Klinik, Albert-Ludwigs-Universität Freiburg, Hugstetter Str. 55, 79106 Freiburg, Deutschland. Tel.: +49/761/270-3759, Fax: +49/761/270-3444.

E-Mail: maerz@medizin.ukl.uni-freiburg.de

Stoffwechsel der Lipoproteine

Lipide, Lipoproteine und Apolipoproteine

Mit Ausnahme der freien Fettsäuren (Bindung an Albumin) werden Lipide (Cholesterin, Triglyzeride, Phospholipide) im Blut von Lipoproteinen transportiert. Sowohl Lipid- als auch Proteinbestandteile werden zwischen den Lipoproteinklassen ausgetauscht; im Plasma unterliegt die Struktur der Lipoproteine daher andauernden Modifikationen. Die Lipoproteine bestehen aus einer Hülle von Proteinen (Apolipoproteinen), Phospholipiden und freiem Cholesterin. Im Kern der Lipoproteine befinden sich Triglyzeride und Cholesterinester. Die Cholesterinester können die Lipoproteine nur mit Hilfe sogenannter Transferproteine verlassen.

Die Lipoproteine unterscheiden sich in ihren physikochemischen Eigenschaften wie Dichte, Partikelgröße und Ladung. Eine brauchbare Einteilung der Lipoproteine erfolgt anhand der hydratisierten Dichte. Hauptklassen sind die Chylomikronen (CM), *Very Low Density Lipoproteins* (VLDL), *Intermediate Density Lipoproteins* (IDL), *Low Density Lipoproteins* (LDL) und *High Density Lipoproteins* (HDL); letztere zerfallen noch in die Subklassen HDL₂ und HDL₃ (Tabelle 1). Jede dieser Hauptklassen enthält alle Lipide, jedoch in unterschiedlichen Anteilen. Die Apolipoproteine (Apo) steuern zusammen mit Enzymen und Zelloberflächenrezeptoren den Stoffwechsel der Lipoproteine. Die meisten Lipoproteinpartikel enthalten mehr als ein Apolipoprotein. Apolipoproteine stabilisieren die Struktur der Partikel. Daneben vermitteln sie über spezifische Rezeptoren die Aufnahme von Lipoproteinen in die Zelle (Apo B und E) und modulieren die Aktivitäten von Enzymen (z. B. die Apo A-I, C-II und C-III), die am Umbau der Lipoproteine beteiligt sind [1, 2].

Cholesterintransport im Plasma

Im Stoffwechsel der Lipoproteine unterscheidet man drei Wege: exogener, endogener und reverser Cholesterintransport. Im exogenen System werden die mit

der Nahrung aufgenommenen Lipide transportiert. Nach ihrer Resorption werden die Nahrungslipide in der Dünndarmmukosa mit Apolipoproteinen komplexiert. Es entstehen Chylomikronen (CM), die an die Lymphe abgegeben werden und über den *Ductus thoracicus*, also unter Umgehung der Leber, in den venösen Kreislauf gelangen. CM treten nur postprandial im Plasma auf. Sie werden am einfachsten durch den Kühschranktest nachgewiesen: Sie rahmen auf, wenn man das Serum über Nacht stehenläßt. Der Triglyzeridanteil der CM wird im Fettgewebe und in der Muskulatur durch die endothelständige Lipoprotein-Lipase (LPL) hydrolysiert. Die Überreste (*remnants*) der CM – sie sind reich an Cholesterinestern, die zum Teil auch aus den HDL stammen (siehe unten) – werden rasch in die Leberzelle aufgenommen. Die Aufnahme der CM-*remnants* in die Leber hängt davon ab, ob Apo E auf der Oberfläche der Partikel zur Verfügung steht. Apo E reagiert nicht nur mit dem LDL-Rezeptor LDL-R, sondern auch mit *remnant*-Rezeptoren der Leberzelle, deren Ausprägung nicht der Regulation durch den Cholesteringehalt der Leberzelle unterliegt. Wenn eine bindungsdefekte Variante des Apo E in homozygoter Form vorliegt, kann die Konzentration der *remnants* so stark ansteigen, daß eine Hyperlipoproteinämie (HLP) resultiert [1, 3, 5].

Im Hungerzustand versorgt der endogene Weg die peripheren Gewebe mit Triglyzeriden und mit Cholesterin. Er beginnt mit der Produktion von VLDL in der Leber. Der Triglyzeridanteil der VLDL wird ebenfalls von der Lipoproteinlipase abgebaut. Es bleiben kleine, cholesterinreichere Lipoproteine übrig, sog. *VLDL-remnants*. Aufgrund ihres Gehalts an Apo E binden sie zum Teil an LDL-R der Leber und werden auf diese Weise aus der Zirkulation entfernt. Die übrigen *VLDL-remnants* werden in IDL umgewandelt. Die IDL können über LDL-R in die Leber gelangen oder sie werden zu LDL. Die LDL transportieren etwa zwei Drittel des Cholesterins im Blut. Beim Stoffwechselgesunden werden etwa drei Viertel der LDL über LDL-R verstoffwechselt. Der Rest wird rezeptorunabhängig ab-

Tabelle 1 Plasmalipoproteine

	Dichte (kg/L)	Elektrophoretische Mobilität	Partikeldurchmesser (nm)	Apolipoproteine	TG (%)	FC (%)	CE (%)	PL (%)	Protein (%)
Chylomikronen	< 0.95	-	> 1000	AI, AIV, B-48, C, E	<u>90</u>	10	2	5	2
VLDL	< 1.006	pre-β	55	B-100, C, E	<u>54</u>	7	13	16	10
IDL	1.006–1.019	pre-β bis β	25	B-100, C, E	20	9	<u>34</u>	20	17
LDL	1.019–1.063	β	20	B-100	4	11	<u>41</u>	21	23
Lp(a)	1.080–1.100	pre-β	24	B-100, (a)	3	9	<u>36</u>	18	34
HDL ₂	1.063–1.125	α	11	AI, AII, E, C	5	5	13	<u>35</u>	42
HDL ₃	1.125–1.210	α	9	AI, AII, E, C	3	3	15	<u>23</u>	56

TG = Triglyzeride, FC = freies Cholesterin, CE = Cholesterinester, PL = Phospholipide

Die dominierende Lipidklasse ist jeweils unterstrichen.

Tabelle 2 Einteilung der HLP nach *Fredrickson*

Phänotyp	I	IIa	IIb	III	IV	V
Erhöhte Lipoproteinfraktion	CM	LDL	LDL VLDL	IDL	VLDL	VLDL CM
Cholesterin	N, ↑	↑↑	↑↑	↑↑	n, ↑	↑, ↑↑
Triglyzeride	↑↑↑↑	n	↑↑	↑↑↑	↑↑	↑↑↑↑
Häufigkeit bei Patienten mit HLP	< 1 %	10 %	40 %	< 1 %	45 %	5 %

Um eine HLP nach *Fredrickson* zu klassifizieren, werden Cholesterin und Triglyzeride bestimmt. Daneben führt man einen Kühlschranktest durch, d.h. man bewahrt das Serum über Nacht auf, um es am nächsten Tag zu inspizieren. Bei einer alleinigen Erhöhung der LDL (Typ IIa) ist das Serum klar. Sind die VLDL oder remnante erhöht, sieht man eine gleichmäßige homogene Trübung des Röhrcheninhalts (Typen IIb, III oder IV). Chylomikronen kann man daran erkennen, daß sie als milchig-weiße Schicht aufrahmen. Eine Lipoproteinelektrophorese benötigt man vor allem, um eine Typ III HLP zu erkennen.

gebaut (sog. *scavenger-pathway*). Den größten Beitrag zum rezeptorvermittelten Abbau der LDL leistet die Leber, ein geringerer Teil der LDL gelangt in nicht-hepatische (periphere) Gewebe. Diese verwerten Cholesterin als Membranbaustein, als Vorstufe für die Synthese von Steroidhormonen und Vitamin D.

Exogener und endogener Weg sind über die Aktivität der LDL-R der Leber eng miteinander verknüpft. Wenn, wie üblich, pro Tag 150 Gramm Neutralfette aufgenommen und verdaut werden, gelangen über den exogenen Weg mindestens zwei Gramm Cholesterin (aus der Nahrung und aus der Synthese in den Mukozellen) in die Leber. Dieses Cholesterin führt zu einer Verminderung der LDL-R und es kommt es zu einem Konzentrationsanstieg der LDL [1, 3, 5, 6].

Neben der Haut ist die Leber das einzige Organ, über das Cholesterin entweder direkt oder nach Umbau zu Gallensäuren ausgeschieden werden kann. Überschüssiges Cholesterin wird deshalb aus der Peripherie zur Leber transportiert. In diesem als reverser Cholesterintransport bezeichneten Weg nehmen die HDL eine Schlüsselstellung ein. Zunächst wird freies Cholesterin aus den Membranen nicht-hepatischer Zellen mit Hilfe des ATP Bindenden Cassette Transporters A1 (ABCA1) oder Scavenger-Rezeptors B1 (SR-B1) auf ApoA-I bzw. HDL übertragen. Dort wird es durch die Lecithin:Cholesterin Acyltransferase (LCAT) verestert. Ein Teil der HDL-Lipide wird über Rezeptoren (SR-B1, ApoE-Rezeptoren, sowie z. Z. unbekannte ApoA-I-Rezeptoren) in Leberzellen und steroidhormon-produzierende Zellen aufgenommen. Ein anderer Teil des veresterten Cholesterins wird unter Vermittlung von Cholesterinester-Transfer-Protein (CETP)

von HDL auf triglyzeridreiche Lipoproteine übertragen, um *via remnants* und LDL erneut in periphere Gewebe (Cholesterinester-*recycling*) oder in die Leber zu gelangen. Demzufolge tragen auch die LDL wesentlich zum „reversen Cholesterintransport“ bei [7–10].

Schließlich können Steroide sogar noch aus dem Darm zurückgewonnen werden. Dies geschieht zum einen über die Reabsorption der Gallensäuren im terminalen Ileum, zum anderen kann das freie Cholesterin aus der Galle zusammen mit anderen Lipiden im Darmlumen reabsorbiert und in CM eingebaut werden.

Ein Sonderstellung im Stoffwechsel nimmt das Lipoprotein (a) (Lp(a)) ein. Es ist im Prinzip ein LDL-Partikel, das neben dem Apo B-100 (Strukturprotein der LDL) ein weiteres Protein, das Apo (a), enthält. Die Funktion des Lp (a) ist noch nicht bekannt. Apo (a) ist homolog zu Plasminogen. Man nimmt an, daß es antifibrinolytisch und damit thrombogen wirkt. Die Konzentration des Lp (a) ist genetisch determiniert und durch exogene Faktoren kaum beeinflussbar [11].

Hyperlipoproteinämien und Dyslipoproteinämien

Eine Einteilung der Hyperlipoproteinämien (HLP) in sechs Typen wurde 1967 von *Fredrickson* vorgenommen (Tabelle 2). Die Phänotypen nach *Fredrickson* haben aber nur deskriptiven Charakter. Man darf sie nicht mit definierten Krankheitsbezeichnungen verwechseln: Jeder Phänotyp kann als Ausdruck einer primären (also genetisch bedingten) oder einer sekundären Störung auftreten. Ein und derselbe genetische Defekt kann mehrere HLP-Phänotypen hervorrufen und schließlich kann ein Phänotyp seine Ursache in verschiedenen genetischen Defekten haben. In den letzten Jahren wird die Einteilung nach *Fredrickson* vermehrt durch eine Einteilung in Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie und gemischte (kombinierte) Hyperlipoproteinämie ersetzt. Diese Einteilung ist für die meisten differentialtherapeutischen Entscheidungen völlig ausreichend.

Sekundäre Hyperlipoproteinämien

Sekundäre HLP findet man häufig. Sie treten auf als Folge von endokrinen, metabolischen, Nieren- und Lebererkrankungen sowie unter Einnahme einer Vielzahl von Medikamenten (orale Kontrazeptiva, Betablocker, Diuretika, Glukokortikoide, Retinoide). Typische Befunde faßt Tabelle 3 zusammen. Bei sekundären HLP ist zunächst die auslösende Ursache zu behandeln. Persistiert die sekundäre HLP, so ist sie wie eine primäre Form zu behandeln.

Primäre Hyperlipoproteinämien und Dyslipoproteinämien

Als primäre HLP bezeichnet man HLP mit bekannter oder noch nicht bekannter genetischer Ursache. Eine primäre HLP kann man nur dann diagnostizieren,

Tabelle 3 Sekundäre Hyperlipoproteinämien

Grunderkrankung	LDL	Trigly- zeride	HDL
Endokrinologie und Stoffwechsel			
Hypothyreose	↑↑	↔, ↑	↔
Diabetes mellitus	↔	↑↑	↓
Akromegalie	↔	↑	↑
Wachstumshormonmangel	↑	↔	↓
Hyperkortisolismus	↑	↑	↔
Adipositas	↔	↑	↓
Nierenerkrankungen			
Nephrotisches Syndrom	↑↑	↑	↔
Niereninsuffizienz	↔, ↑	↑↑	↔, ↓
Nierentransplantation	↑↑	↑	↔
Lebererkrankungen			
Cholestase	↑	↑	↓
Hepatitis	↔, ↑	↑	↓
Leberzirrhose	↓	↓	↓
Sonstige Erkrankungen			
Alkoholismus	↔	↑	↑
Anorexie	↑	↔	↔, ↓

wenn eine sekundäre HLP ausgeschlossen ist. Differentialdiagnostische Hinweise hierzu enthält Tabelle 4.

Familiärer Lipoprotein-Lipase (LPL)-Mangel

Der familiäre Mangel an LPL ist eine seltene, autosomal-rezessiv vererbte Störung im Abbau der triglyzeridreichen Lipoproteine. Im Nüchternplasma der Patienten findet man CM, die Triglyzeride sind erhöht (Typ

I HLP). Die Konzentration der VLDL ist normal oder leicht erhöht. Die HDL sind deutlich erniedrigt. Meist wird die Diagnose im Kindesalter aufgrund rezidivierender Pankreatitiden, eruptiver Xanthome, Hepatosplenomegalie und einer *Lipaemia retinalis* gestellt. Heterozygote haben verminderte Aktivitäten der LPL, meist aber normale Plasmalipide. Die Konzentration des Apo.C-II ist normal. Die Therapie ist diätetisch; man setzt Triglyzeride mit mittelkettigen (MCT) Fettsäuren ein, die nicht in die CM inkorporiert werden [4, 12].

Familiärer Apolipoprotein CII-Mangel

Apo CII ist Kofaktor der LPL und damit an der clearance von CM und VLDL beteiligt. Mangel an Apo CII kann Ursache eines Chylomikronämiesyndroms sein. Man findet CM im Nüchternplasma (Typ I oder Typ V HLP), Hypertriglyzeridämie und Pankreatitis. Xanthome und Hepatosplenomegalie sind seltener als beim familiären LPL-Mangel. Auch die VLDL sind erhöht. Der Erbgang ist autosomal-rezessiv. Bei Heterozygoten ist Apo CII zwar vermindert, die Triglyzeride sind aber meist normal [4, 13].

Apolipoprotein E und familiäre Typ III Hyperlipoproteinämie

Apo E ist Bestandteil von CM, CM-remnants und HDL. Apo E wird vor allem in der Leber, aber auch in Makrophagen und in der Astroglia des zentralen Nervensystems gebildet. Apo E hat damit sehr wahrscheinlich unabhängig vom Lipoproteinstoffwechsel im Plasma weitere Funktionen, die zum Beispiel in der Regeneration und Differenzierung von Neuronen liegen.

Als Ligand von Lipoproteinrezeptoren ist Apo E für die Aufnahme von CM-remnants und VLDL-remnants in die Leber verantwortlich. Daneben ist es an der Mobilisierung von freiem Cholesterin aus nicht-hepatis-

Tabelle 4 Weiterführende Diagnostik zum Ausschluß von Grunderkrankungen, die zu einer sekundären Dyslipoproteinämie führen können

Auszuschließende Grunderkrankung	Geeignete (Labor-)Untersuchungen
Hypothyreose	TSH (ggf. zusätzlich freies T3, freies T4)
Diabetes mellitus	Glukose (nüchtern, Tagesprofil, oraler Glukosetoleranztest, evtl. HbA1c)
Nephrotisches Syndrom	Eiweiß im Urin, Eiweiß im Serum, Elektrophorese
Niereninsuffizienz	Kreatinin, Harnstoff
Cholestase	γ-GT, Bilirubin, alkalische Phosphatase
Hepatitis	ALAT, ASAT (evtl. Hepatitis-Serologie)
Leberzirrhose	ALAT, ASAT, Pseudocholinesterase, Eiweiß im Serum, Elektrophorese, Thromboplastinzeit nach Quick
Chron. Alkoholabusus	Anamnese, γ-GT, kohlenhydratdefizientes Transferrin
Anorexie	Anamnese, Gewicht

Bei entsprechenden Hinweisen auch an Akromegalie, Wachstumshormon-Defizienz, Hyperkortisolismus, akute Porphyrrie usw. denken.

schen Zellen, vor allem Makrophagen, beteiligt und könnte die Aufnahme Apo E enthaltender HDL in die Leber vermitteln. Damit hätte Apo E auch eine wichtige Rolle beim Transport von Cholesterin aus peripheren Zellen zur Leber (sog. reverser Cholesterintransport).

Im Plasma findet man Apo E in mehreren Isoformen. Das Isoproteinmuster beruht auf genetischem Polymorphismus und posttranslationaler Modifikation mit Neuraminsäure. Es gibt drei häufige Allele ($\epsilon 4$, $\epsilon 3$, $\epsilon 2$) und damit je drei homozygote ($E2/2$, $E3/3$, $E4/4$) und drei heterozygote ($E2/3$, $E2/4$ und $E3/4$) Phänotypen im Plasma. Die allelen Formen Apo E4 und Apo E2 unterscheiden sich vom Wildtyp Apo E3 in den Aminosäuren 112 und 158. Apo E3 enthält Cystein an Position 112 und Arginin an Position 158. Apo E2 enthält Cystein, Apo E4 Arginin an beiden Positionen.

Apo E4 prädisponiert zu hohem LDL-C und erhöht das Risiko für die Entwicklung der Alzheimerschen Erkrankung. Apo E2 ist mit der Typ III Hyperlipoproteinämie assoziiert. Bei der familiären Typ III HLP akkumulieren die *remnants* der triglyzeridreichen Lipoproteine im Plasma. Sie stammen aus dem partiellen Katabolismus der CM und VLDL. Cholesterin und Triglyzeride sind auf Konzentrationen zwischen 300 und 600 mg/dl erhöht. Das LDL-C ist typischerweise niedrig, da die Konversion von VLDL zu LDL vermindert und der LDL-Rezeptor heraufreguliert ist. Die Störung manifestiert sich meist erst nach dem 20. Lebensjahr. Man findet charakteristische Hautveränderungen wie palmare Xanthome, Handlinienxanthome, tuberöse oder tuberoeruptive Xanthome. Patienten mit familiärer Dysbetalipoproteinämie haben ein stark erhöhtes Atheroskleroserisiko. Im eigenen Krankengut haben etwa zwei Drittel der Patienten mit Typ III HLP zum Zeitpunkt der Diagnosestellung ausgedehnte atherosklerotische Veränderungen, nicht nur in Form einer koronaren Herzkrankheit, sondern auch als periphere arterielle Verschlusskrankheit oder cerebrovaskuläre Insuffizienz.

Die Typ III HLP ist selten. Die Häufigkeit des Apo E-Phänotyps 2/2 ist etwa 1:100. Höchstens jeder zwanzigste Apo E2/2-Homozygote entwickelt aber eine Typ III HLP, so daß die Typ III HLP in der Bevölkerung mit einer Frequenz von etwa 1:2000 angetroffen wird. Nachdem nur ein Teil der homozygoten Träger des Apo E2 tatsächlich erkrankt, hat man postuliert, daß zusätzliche krankheitsauslösende Faktoren endogener oder exogener Art vorhanden sein müssen, bevor es zur Entwicklung einer Typ III HLP kommt. Diese Faktoren sind bis heute nicht eindeutig identifiziert. Es ist jedoch davon auszugehen, daß Alter, Adipositas, Insulinresistenz, Überproduktion triglyzeridreicher Lipoproteine oder Hypothyreose die Manifestation einer Typ III HLP begünstigen.

Die Diagnose der Typ III HLP ist eigentlich nicht schwierig. Sie wird dennoch häufig nicht oder zu spät gestellt. Klinisches Charakteristikum sind Xanthome der Handlinien, wie sie bei praktisch keiner anderen Form der HLP vorkommen. Wir diagnostizieren eine

Typ III HLP, wenn sowohl Cholesterin und Triglyzeride erhöht sind, die VLDL eine pathologisch veränderte Zusammensetzung aufweisen (Verhältnis von Cholesterin zu Triglyzeriden über 0.45), das Verhältnis von VLDL-Cholesterin (VLDL-C) zu Plasmatriglyzeriden über 0,3 beträgt und in der Lipoproteinelektrophorese eine breite β -Bande nachweisbar ist. Bei mehr als 90 Prozent aller Patienten ist der Apo E-Phäno- bzw. Genotyp 2/2. Andere Phäno- oder Genotypen schließen eine Typ III HLP aber nicht aus. In diesen Fällen findet man oft dominant vererbte Formen der Typ III HLP. Sie werden durch sehr seltene Varianten des Apo E mit hoher Penetranz hervorgerufen [5, 14].

Familiäre Hypercholesterinämie (FH)

Die familiäre Hypercholesterinämie ist eine relativ häufige monogene Ursache für erhöhtes LDL-C. Diese autosomal-kodominant vererbte Erkrankung, die typischerweise durch Defekte im Gen für den LDL-R verursacht wird, findet sich in der heterozygoten Form bei etwa jedem zwanzigsten Infarktpatienten unter 60 Jahren; dies entspricht einem etwa 25fach erhöhten Risiko. Die Häufigkeit heterozygoter Träger in der Bevölkerung liegt bei 1:500, die Häufigkeit der homozygoten Form bei 1:1 Million.

Wie bei anderen Erkrankungen mit dominantem Vererbungsmodus ist die Hälfte der Verwandten ersten Grades ebenfalls betroffen. Verminderung oder völliges Fehlen funktionstüchtiger LDL-R auf der Zelloberfläche führen zu massiven Störungen im Katabolismus der LDL. Aber nicht nur der Abbau der cholesterinreichen LDL ist verzögert, auch die Produktion der LDL ist bei der familiären Hypercholesterinämie gesteigert. Das liegt daran, daß auch die rezeptorvermittelte Aufnahme der *remnants* triglyzeridreicher Lipoproteine, aus denen die LDL hervorgehen, vermindert ist und mehr *remnants* zu LDL verstoffwechselt werden. Beides zusammen, gesteigerte Produktion und verminderter Abbau der LDL, führen zu deutlich gesteigertem LDL-C im Plasma.

Das LDL-C heterozygot Betroffener ist mit etwa 200 bis 350 mg/dl etwa doppelt so hoch wie bei Gesunden. Fünf Prozent der männlichen Heterozygoten hatten bereits mit 30 Jahren einen Myokardinfarkt. Neun von zehn heterozygoten Männern erleiden einen Infarkt vor dem 60. Lebensjahr. 94 % der heterozygoten Männer versterben an koronarer Herzkrankheit. Bei Frauen ist der Beginn der koronaren Herzkrankheit um etwa 10 Lebensjahre verzögert.

Homozygote Patienten weisen ein LDL-C zwischen 650 bis 1000 mg/dl auf. Die koronare Herzkrankheit manifestiert sich hier häufig schon im ersten Lebensjahrzehnt, vereinzelt können Herzinfarkte bereits im zweiten Lebensjahr auftreten, etwa die Hälfte der Homozygoten erleidet vor Erreichen des 40. Lebensjahres einen tödlichen Herzinfarkt. Oft entwickeln sich bereits kurz nach der Geburt kutane Xanthome, so daß die jungen Patienten vom Hautarzt diagnostiziert werden. Dies sollte dann zum Anlaß genommen werden, nach weite-

ren Betroffenen in der Familie des Patienten zu suchen. Aufgrund der großen Zahl von Mutationen im LDL-R sind klinisch homozygote Patienten meist zusammengesetzt heterozygot für zwei verschiedene Defekte.

Fast alle Patienten sind normalgewichtig. Xanthome, insbesondere der Strecksehnen, sind bei 75 Prozent aller Heterozygoten nachweisbar. Die Xanthome enthalten cholesterinbeladene Makrophagen. An den Augenlidern haben die Patienten oft Xanthelasma. Letztere sind aber nicht pathognomonisch; sie kommen auch bei normalen Cholesterinkonzentrationen vor. Eine FH ist wahrscheinlich, wenn das Gesamtcholesterin zwischen 350 und 450 mg/dl liegt, Sehnenxanthome vorliegen und die Hälfte der Verwandten ersten Grades ebenfalls eine Typ IIa HLP haben. Definitiv kann die Diagnose durch Messung der Funktion der LDL-R an kultivierten Hautfibroblasten oder den Nachweis einer Mutationen im Gen für den LDL-R gestellt werden.

Weltweit sind bisher mehr als 500 unterschiedliche Mutationen im Gen des LDL-R identifiziert worden. Überwiegend handelt es sich hierbei um Punktmutationen, die zu funktionell relevanten Aminosäureaustauschen im Rezeptorprotein führen. Neben der Genosis beeinflusst auch die Art des Rezeptordefekts die Ausprägung der Hypercholesterinämie. Schwere Defekte sind gekennzeichnet durch das völlige Fehlen des Rezeptorproteins, während bei leichteren Defekten noch eine vergleichsweise hohe Restaktivität des mutierten LDL-R nachgewiesen werden kann. Insbesondere beim heterozygot Erkrankten hängt der klinische Ausprägungsgrad stark von weiteren genetischen und Umwelteinflüssen ab [6, 15].

Familiärer Apolipoprotein B-100 Defekt

Als familiär defektes Apo B-100 (FDB) bezeichnet man eine autosomal-dominante Erkrankung, bei der die Affinität des Apo B-100 zum LDL-R herabgesetzt ist. Die Erkrankung beruht zumeist auf einer Substitution von Arginin durch Glutamin an Position 3500 des ApoB-100 (Hauptprotein der LDL). Unter Patienten mit Hypercholesterinämie wurden heterozygote Träger des Apo B-100 (Arg³⁵⁰⁰→Gln) mit einer Häufigkeit von 1 zu 100, in der Gesamtbevölkerung mit einer Frequenz von 1 zu 500 gefunden. Apo B-100 (Arg³⁵⁰⁰→Gln) ist damit alleine mindestens genauso häufig wie alle Mutationen des LDL-R zusammen und wahrscheinlich eine der häufigsten Punktmutationen mit metabolischen Konsequenzen überhaupt. Die Hypercholesterinämie bei FDB ist weniger schwer als bei der klassischen familiären Hypercholesterinämie. Heterozygote Merkmalsträger entwickeln gewöhnlich eine HLP vom Typ IIa mit Cholesterinkonzentrationen zwischen 250 und 300 mg/dl. Die Unterscheidung zwischen FH und FDB gelingt nur mit molekulargenetischen Techniken [3, 15–17].

„Polygene“ (gewöhnliche) Hypercholesterinämie

Die „polygene“ Hypercholesterinämie ist eine unscharf definierte Entität. *Per definitionem* entsteht sie

durch (additive oder multiplikative) Interaktion genetischer Faktoren, die für sich allein nur einen geringen Einfluß auf den Cholesterinstoffwechsel haben. Die Ausprägung der Hypercholesterinämie ist innerhalb der betroffenen Familien sehr inkonstant.

Familiäre kombinierte Hyperlipoproteinämie (FKHL)

Die familiär kombinierte Hypercholesterinämie ist ein komplexes Krankheitsbild ungeklärter Ursache. Sie stellt die häufigste Form der primären HLP dar und ist eine der häufigsten Ursachen der koronaren Herzkrankheit. Rund 10 % der Patienten mit Myokardinfarkt haben eine FKHL. Bei der FKHL kommen in ein und derselben Familie unterschiedliche Lipoproteinphänotypen (IIa, IIb und IV) vor; LDL-C und/oder Triglyzeride überschreiten die 95. Perzentile der jeweiligen Alters- und Geschlechtsgruppe. Die Pathogenese ist unklar, vielleicht spielt eine erhöhte Produktion von VLDL eine Rolle. Diese kann dann bei einigen Familienmitgliedern zu einer Hypertriglyzeridämie mit erhöhten VLDL-Konzentrationen führen, bei anderen Mitgliedern der Familie mit effizienterer Lipolyse stehen hingegen erhöhte LDL-Konzentrationen im Vordergrund. Häufig bestehen Adipositas, Hyperurikämie, gestörte Glukosetoleranz und Hypertonie. Innerhalb der LDL beobachtet man oft eine Verschiebung in der Verteilung der Unterfraktionen zu Gunsten kleiner, dichter LDL (*atherogenic lipoprotein phenotype, ALP*).

Interessant ist, daß Familienmitglieder mit Hypertriglyzeridämie ein ähnlich stark gesteigertes Risiko aufweisen, an einer KHK zu erkranken, wie die hypercholesterinämischen Familienmitglieder. Die geschilderte Lipidkonstellation wird am häufigsten autosomal-dominant vererbt. Spezifische biochemische Marker fehlen. Die Diagnose wird durch eine Familienuntersuchung gestellt; treten Xanthome auf, so ist die Diagnose ausgeschlossen.

Familiäre Hypertriglyzeridämie

Die familiäre Hypertriglyzeridämie wird autosomal-dominant vererbt. Meist liegt ein Typ IV nach *Friedrickson*, selten ein Typ V vor. Die Häufigkeit in der Bevölkerung ist etwa 1:500. In den VLDL der Patienten ist der Triglyzeridanteil gegenüber dem Apo B erhöht, die Partikel sind größer als normal. Umsatzuntersuchungen haben ergeben, daß die Synthese von VLDL-Triglyzeriden stärker erhöht ist als die von VLDL-Apo B. Die familiäre Hypertriglyzeridämie ist oft mit gestörter Glukosetoleranz, Hyperurikämie und Hypertonie vergesellschaftet. Ihr Pathomechanismus ist unklar; man nimmt an, daß Hyperinsulinismus und Insulinresistenz beteiligt sind. Genetische Ursachen der Störung sind unbekannt und spezifische biochemische Marker fehlen. Die Diagnose einer familiären Hypertriglyzeridämie kann daher nur nach Ausschluß einer sekundären Hypertriglyzeridämie (cave: Koinzidenz mit Diabetes mellitus) und bei entsprechender Familienanamnese gestellt werden. Von der familiär kombinierten HLP wird sie dadurch abgegrenzt, daß in

den betroffenen Familien die HLP-Typen IIa und IIb nach *Fredrickson* nicht vorkommen. Das Atheroskleroserisiko ist erhöht.

Dyslipoproteinämien mit niedriger Konzentration der HDL

Erniedrigtes HDL-Cholesterin (HDL-C) (konventionell < 35 mg/dl; < 40 mg/dl nach Empfehlungen der NCEP Guidelines) ist ein bedeutsamer Risikofaktor für die Entwicklung einer KHK. Eine isolierte Verminderung der HDL kommt selten vor. Niedriges HDL-C findet man oft gemeinsam mit hohen Triglyzeriden. Es ist daher denkbar, daß der epidemiologisch gefundene Zusammenhang zwischen niedrigen HDL und erhöhtem KHK-Risiko auf eine komplexe atherogene Stoffwechsellage hinweist, die unter anderem durch Hyperinsulinismus, hohe Triglyzeride und die Akkumulation kleiner, dichter LDL gekennzeichnet ist [10].

Bei einer kleinen Anzahl von Patienten mit niedrigem HDL-C sind Mutationen des Gens für Apo A-I für eine verminderte Produktion oder einen verstärkten Katabolismus der HDL verantwortlich. In Abhängigkeit von der Art des Defektes im Apo A-I-Gen kann das Atheroskleroserisiko erhöht sein. Weitere klinische Symptome sind Korneatrübungen und/oder Xanthelasmen [7].

Homozygote Defekte im Gen der Lecithin-Cholesterin-Acytransferase (LCAT) gehen ebenfalls mit niedrigem HDL einher. Der komplette Defekt der katalytischen Aktivität der LCAT führt zur klassischen LCAT-Defizienz, die klinisch durch Korneatrübungen, Proteinurie und Niereninsuffizienz sowie durch hämolytische Anämie auffällt. Die partielle Defizienz, Cholesterin in HDL zu verestern (d. h. erhaltene Veresterung von Cholesterin in VLDL und LDL) führt zur Fischeaugenkrankheit, bei der die Patienten nur Korneatrübungen präsentieren. Es ist nicht ganz klar, ob LCAT-Mangel das Atheroskleroserisiko erhöht [8].

Bei der Tangier-Erkrankung führen Defekte im Gen des ATP binding cassette transporter A1 (ABCA1) zu einem defekten Efflux von Cholesterin aus Zellen. Klinisch resultieren Symptome, die auf vermehrte Schaumzellbildung von Makrophagen bzw. Schwann Zellen zurückzuführen sind, nämlich Hepato-/Splenomegalie, Tonsillenvergrößerungen, Arteriosklerose bzw. periphere Neuropathie [9].

Laboratoriumsdiagnostik bei Verdacht auf Hyper- und Dyslipoproteinämie

Klinisch bieten die Hyperlipoproteinämien als solches kaum Symptome. Hinweisend sind Xanthelasmen (wenig spezifisch, nur bei jüngeren Patienten verwertbar), Arcus lipoides, Lipaemia retinalis, Xanthome (plan, tendinös, tuberös, eruptiv, palmar), Gelenksbeschwerden (Präzipitation von Cholesterinkristallen in der Synovialflüssigkeit) und abdominelle Beschwerden (Pankreasaffektionen bei Chylomikronämie). Diagnostik und Differentialdiagnostik der Fettstoffwech-

selstörungen erfolgen daher vor allem mit Hilfe von Laboruntersuchungen, deren Anwendung stufenweise erfolgt (Tabelle 5).

Basisdiagnostik

Die Basisdiagnostik besteht aus der Messung von Cholesterin, Triglyzeriden, HDL-C und LDL-C.

Indikationen

Die Basisdiagnostik ist indiziert bei gesunden Erwachsenen ohne klinisch oder anamnestisch eruierbare kardiovaskuläre Risikofaktoren im Abstand von fünf Jahren, jederzeit bei Patienten mit kardiovaskulären Risikofaktoren, Diabetes mellitus oder atherosklerotischen Gefäßveränderungen und bei Kindern, wenn in der Familie vorzeitige Atherosklerose oder Fettstoffwechselstörungen vorkommen.

Methoden

Cholesterin und Triglyzeride werden enzymatisch im Serum oder im Plasma bestimmt. Für Bestimmungen im Plasma werden Heparin oder EDTA an Antikoagulantien verwendet. Neben der naßchemischen Bestimmung können Cholesterin und Triglyzeride unter Verwendung spezieller trägergebundener Reagenzien auch trockenchemisch gemessen werden. Die Qualität der trockenchemischen Analysen ist für Zwecke des *screenings* ausreichend; pathologische Ergebnisse sollten allerdings mit einem naßchemischen Verfahren bestätigt werden.

HDL-Cholesterin

Das HDL-C wird klassischerweise bestimmt, in dem man zunächst die Apo B enthaltenden Lipoproteine VLDL, IDL, LDL und Lp (a) ausfällt und im verbleibendem Überstand das Cholesterin mißt. Als Fällungsreagenzien werden Kombinationen aus Polyanionen und divalenten Kationen (Phosphorwolframsäure²⁺, Heparin/Mn²⁺, Dextransulfat/Ca²⁺) oder Polyethylenglycol verwendet. Die meisten Fällungsreagenzien präzipitieren neben den Apo B enthaltenden Partikeln eine in geringer Konzentration vorliegende Subfraktion der HDL, die Apo E enthält.

In den letzten Jahren wurde eine Reihe sogenannter homogener Methoden, mit denen eine direkte Bestimmung des HDL-C im Serum oder Plasma ohne Zentrifugation möglich ist, entwickelt. Bei diesen Methoden wird versucht, die Apo B enthaltenden Lipoproteine durch Komplexbildung unzugänglich für ein enzymatisches Cholesterinreagenz zu machen, welches dann nur mit den nicht komplexierten HDL reagiert. Als Komplexbildner dienen zum Beispiel Polyethylenglykol, Antikörper oder α -Cyclodextrin. Gegenüber den konventionellen Präzipitationsmethoden zeichnen sich die homogenen Methoden durch eine deutlich geringere Impräzision aus. Die Richtigkeit ist aber leider noch immer fraglich. Auch nach der Einführung am Markt wurden einige Reagenzien von den Herstellern mehrfach modifiziert, die Kalibration der Methoden ist nicht zufriedenstellend gelöst. Wir haben es nicht sel-

Tabelle 5 Stufendiagnostik bei Störungen des Lipoproteinstoffwechsels

Stufe	Indikation
Basisdiagnostik	
Cholesterin	{ jeder gesunde Erwachsene über 20 Jahren, im Abstand von 5 Jahren, jeder Patient mit anamnestisch feststellbaren kardiovaskulären Risikofaktoren, jeder Patient mit koronarer Herzkrankheit
Triglyzeride	
HDL-Cholesterin	
LDL-Cholesterin	
Erweitere Basisdiagnostik	
Lipoprotein (a)	LDL-Cholesterin > 130 mg/dl, Patienten mit koronarer Herzkrankheit
Lipoproteinelektrophorese	Bestimmung des LDL-Cholesterins, wenn Friedewald-Formel nicht anwendbar Diagnose der Typ III HLP
Spezielle Diagnostik	
Ultrazentrifugation	Bestimmung des LDL-Cholesterins, wenn Friedewald-Formel nicht anwendbar Diagnose der Typ III HLP Bestimmung der Zusammensetzung von Lipoproteinen
Apo AI, Apo AII	selten indiziert bei der Abklärung von HDL-Mangelzuständen
Apo B (Arg ³⁵⁰⁰ ->Gln)	LDL-Cholesterin > 200 mg/dl beim Patienten und der Hälfte der Verwandten ersten Grades
Apo CII	Chylomikronämie-Syndrom
Apo E-Polymorphismus	Verdacht auf Typ III HLP
Enzyme und Rezeptoren	
Triglyzeridlipasen	Chylomikronämie-Syndrom
LCAT	Verdacht auf LCAT-Mangel oder Fischeaugenkrankheit
LDL-Rezeptor	LDL-Cholesterin > 200 mg/dl beim Patienten und der Hälfte der Verwandten ersten Grades

ten erlebt, daß Chargenwechsel zu deutlichen Verschiebungen der Meßergebnisse im Langzeitverlauf führten. Es ist deshalb nicht klar, ob Befunde, die mit homogenen Methoden erstellt werden, anhand der Richtwerte interpretiert werden dürfen, die aus Ergebnissen epidemiologischer Studien mit konventionellen Präzipitationsmethoden abgeleitet wurden [18].

LDL-Cholesterin

Aus dem Gesamtcholesterin, den Triglyzeriden und dem HDL-C kann man das LDL-C nach *Friedewald* errechnen:

$$\text{LDL-Cholesterin [mg/dl]} = \text{Cholesterin [mg/dl]} - \text{HDL-Cholesterin [mg/dl]} - \text{Triglyzeride [mg/dl]} / 5$$

oder

$$\text{LDL-Cholesterin [mmol/l]} = \text{Cholesterin [mmol/l]} - \text{HDL-Cholesterin [mmol/l]} - \text{Triglyzeride [mmol/l]} / 2.2$$

In der Friedewald-Formel stehen die Ausdrücke Triglyzeride [mg/dl]/5 bzw. Triglyzeride [mmol/l]/2.2 als Näherungswerte für das VLDL-C.

Die Bestimmung des LDL-C nach *Friedewald* ist im üblichen Konzentrationsbereich richtig und präzise und damit in den meisten Fällen als Grundlage für die Therapieentscheidung und -überwachung ausreichend. Sie soll nicht angewendet werden, wenn sich in der

Probe Chylomikronen befinden, also in postprandialen Proben und bei Typ I oder Typ V Hyperlipoproteinämie (HLP) nach *Fredrickson*, wenn die Triglyzeride höher als 400 mg/dl sind oder wenn eine Typ III HLP vorliegt. In solchen Fällen werden Lipoproteine sinnvollerweise mittels Elektrophorese oder Ultrazentrifugation bestimmt. Vorsicht ist auch geboten, wenn sehr niedrige Konzentrationen des LDL-C vorliegen. Dann kann die Friedewald-Formel zu falsch niedrigen Werten führen [19].

Neben der indirekten Bestimmung des LDL-C nach *Friedewald* wurden Fällungsmethoden entwickelt, mit denen das LDL-C direkt bestimmt werden soll. Bei diesen Methoden werden die LDL nicht aber die VLDL und HDL mit Polyanionen (Heparin, Dextran-sulfat, Polyvinylsulfat) ausgefällt und das LDL-C als Differenz zwischen dem Gesamtcholesterin und dem Cholesterin im Überstand nach Fällung der LDL berechnet. Bei diesen Methoden werden in unterschiedlichem Ausmaß VLDL mitpräzipitiert und die LDL nur unvollständig erfaßt. Auf Grund dieser Einschränkungen ist die Bestimmung des LDL-C nach selektiver Fällung der LDL der Berechnung nach *Friedewald* nicht überlegen.

Die direkte, homogene Bestimmung des LDL-C ist inzwischen möglich. Auch solche Methoden zeichnen

sich durch eine niedrige Impräzision aus. In der Praxis relevant ist die direkte Bestimmung des LDL-C, wenn die Anwendung der Friedewald-Formel nicht möglich ist, zum Beispiel beim nicht-nüchternen Patienten oder bei Vorliegen einer ausgeprägten Hypertriglyzeridämie. Für diesen Fall ist aber sicherzustellen, daß der homogene Assay robust gegenüber hohen Konzentrationen triglyzeridreicher Lipoproteine ist. Bereits heute ist das LDL-C, und nicht das Gesamtcholesterin wesentliche Grundlage der Therapieentscheidungen ist. Man kann sich deshalb vorstellen, daß künftig völlig auf das Gesamtcholesterin verzichtet und nur das LDL-C gemessen werden wird. Dies setzt aber voraus, daß die analytische Qualität der direkten, homogenen Methoden sorgfältig abgesichert wird [20, 21].

Bewertung

Die Basisdiagnostik dient in erster Linie der Abschätzung des Risikos für künftige kardiovaskuläre Ereignisse. Das individuelle Risiko läßt sich aber aus den Ergebnissen von Lipoproteinmessungen alleine nicht ableiten. Es hängt vielmehr von der Anzahl und der Ausprägung aller Risikofaktoren ab. Für den Laborarzt heißt das, daß sich die konventionelle Definition des „Referenzbereichs“ auf Lipid- und Lipoproteinmessungen nicht anwenden läßt. Sinnvoller ist es, Zielwerte anzugeben, die sich an klinisch und anamnestisch eruierbaren Risikofaktoren und damit am globalen kardiovaskulären Risiko orientieren. In internationalen

[22] (www.chd-taskforce.de), amerikanischen [23] (www.nhlbi.nih.gov/guidelines/cholesterol/index.htm) und europäischen Konsensusempfehlungen [24] wurden Strategien entwickelt, in denen durch Algorithmen, Scores oder Tabellen das individuelle Gesamt-KHK-Risiko eines Patienten abgeschätzt wird. In Anlehnung an die aktuellen Richtlinien des amerikanischen National Cholesterol Education Program (NCEP) gelten (vereinfacht) die in Tabelle 6 angegebenen Therapieziele. Leider werden diese Richtlinien in der ärztlichen Praxis nur inkonsequent umgesetzt. Zum Beispiel wird in Deutschland derzeit nur etwa die Hälfte aller Patienten mit koronarer Herzkrankheit und nur ein geringer Teil der Hochrisikopatienten mit lipidsenkenden Maßnahmen behandelt. Dies liegt unter anderem daran, daß Laborbefunde mancherorts noch immer überholte „Referenzbereiche“ enthalten. Einen Vorschlag für die Bewertung der Ergebnisse der Basisdiagnostik enthält Tabelle 7.

Aufgrund der Ergebnisse der Basisdiagnostik können Hyperlipoproteinämien nach *Fredrickson* in sechs Phänotypen eingeteilt. Die Typen I und III sind selten, die Typen IIa, IIb, IV und V sind häufig. Eine Zuordnung der HLP-Typen nach *Fredrickson* gelingt meist schon, wenn die Konzentrationen von Cholesterin und Triglyzeriden bekannt sind und das Serum im Kühltrockentest beurteilt wird (Tabelle 2). Nur in Einzelfällen (z. B. Ausschuß einer Typ III HLP) sind Lipoproteinelektrophorese oder Ultrazentrifugation nötig. Wie bereits ausgeführt, ist die Phänotypisierung nach *Fredrickson* nicht mehr unbedingt erforderlich.

Tabelle 6 Zielwerte für LDL-Cholesterin und Triglyzeride nach den Richtlinien des National Cholesterol Education Program (NCEP), 2001

		LDL-Cholesterin (mg/dl)	Triglyzeride (mg/dl)
Primärprävention (keine Hinweise auf Atherosklerose)	ohne zusätzliche Risikofaktoren	160	150
	mit zwei oder mehr zusätzlichen Risikofaktoren ^{1,2}	130	150
Sekundärprävention (Atherosklerose nachgewiesen ³) und Diabetes mellitus ⁴		100	150

¹Risikofaktoren:

- Alter (Männer älter 45 Jahre; Frau älter 55 Jahre oder vorzeitige Menopause)
- HDL-Cholesterin < 40 mg/dl
- Rauchen
- Hypertonie (> 140/90 mm Hg oder antihypertensive Behandlung)
- positive Familienanamnese für koronare Herzkrankheit
- Adipositas
- Lp(a) > 30 mg/dl
- Ein HDL-C > 60 mg/dl neutralisiert einen anderen Risikofaktor, bei HDL-C > 60 mg/dl kann für die Therapieentscheidung ein zusätzlicher Risikofaktor abgezogen werden

²In der Primärprävention ist die alleinige Erniedrigung des HDL-C bisher keine Indikation für eine Pharmakotherapie

³Schließt ein: KHK, symptomatische cerebrovaskuläre Insuffizienz, periphere AVK, Aneurysma der A. abdominalis

⁴Sowohl die American Diabetes Association als auch die aktuellen Richtlinien des NCEP fordern ein LDL-Cholesterin < 100 mg/dl auch bei Typ-2-Diabetikern ohne Infarktanamnese

Tabelle 7 Beurteilung von Ergebnissen der Basisdiagnostik anhand der Richtlinien des National Cholesterol Education Program (NCEP) 2001

Parameter	Grenzwert	Beurteilung
Gesamtcholesterin	< 200 mg/dl 200–239 mg/dl > 240 mg/dl	Wünschenswert Verdächtig Erhöht
LDL-Cholesterin	< 100 mg/dl < 130 mg/dl < 160 mg/dl	Bei KHK und Diabetes mellitus Bei zwei oder mehr Risikofaktoren Bei weniger als zwei Risikofaktoren
HDL-Cholesterin	< 40 mg/dl > 60 mg/dl	Niedrig Hoch
Triglyzeride	< 150 mg/dl 150–199 mg/dl > 200 mg/dl	Wünschenswert Verdächtig Erhöht

Erweiterte Basisdiagnostik*Lipoprotein (a)**Pathobiochemie*

Lp (a) ist ein unabhängiger Risikofaktor für Atherosklerose und koronare Herzkrankheit. Das Apo (a) enthält eine interindividuell variable, genetisch determinierte Anzahl von *kringle* IV-Domänen, eine *kringle* V-Domäne und eine Proteasedomäne. Die unterschiedliche Anzahl von *kringle* IV-Einheiten resultiert in einem Längenpolymorphismus des Apo(a), dessen molare Massen zwischen 400 und 700 kD schwanken können. Der Polymorphismus des Apo(a) ist mit der Konzentration des Lp(a) invers korreliert, d.h. Isoformen mit einer geringen Zahl von *kringle* IV-Domänen liegen in hoher Konzentration, große Isoformen dagegen in niedriger Konzentration im Plasma vor [11].

Indikation

Die Bestimmung des Lipoprotein (a) ist indiziert bei Patienten ohne Atherosklerose oder koronare Herzkrankheit, wenn das LDL-C größer als 130 mg/dl ist und bei Patienten mit atherosklerotischen Gefäßveränderungen, insbesondere dann, wenn wenig andere kardiovaskuläre Risikofaktoren vorliegen. Zudem ergaben klinische und kleinere epidemiologische Studien Hinweise darauf, daß ein erhöhter Lp(a)-Plasmaspiegel auch als Risikofaktor für Schlaganfall, venöse Thromboembolien und Schwangerschaftskomplikationen mit vaskulärer Ätiologie (Habituelle Aborte, Präeklampsie und fetale Wachstumsretardierung) zu bewerten ist [25–32].

Methoden

Zur Bestimmung von Lp(a) steht eine Reihe immunologischer Verfahren wie Elektroimmunoassay, Nephelometrie, Radioimmunoassay und Enzymimmunoassay zur Verfügung, die sich vor allem im Hinblick auf ihre Richtigkeit (d. h. Kalibration) unterscheiden. Aus diesem Grund herrscht in der Praxis einige Unsicherheit bei der Interpretation von Lp(a)-Konzentrationen, ganz besonders dann, wenn Messungen aus verschiedenen

Laboratorien miteinander verglichen werden. Kürzlich wurde von der IFCC ein Lp(a)-Standard vorgestellt, mit dessen Hilfe Tests unterschiedlicher Hersteller theoretisch übereinstimmende Lp(a)-Werte erzielen sollten. Trotz identischer Kalibration wichen die meisten Tests systematisch voneinander ab, sodaß die Industrie noch immer gefordert ist, anhand des IFCC Standards kalibrierte und wirklich übereinstimmende Tests zu entwickeln [33].

Bewertung

Die Konzentration des Lp(a) ist genetisch determiniert und durch exogene Faktoren (Ausnahme Sexualhormone) kaum beeinflussbar. Cut-off Werte für Lp(a) variieren unter anderem durch die fehlende Standardisierung von Lp(a) Assays zwischen 20 und 30 mg/dl. Wird eine Lp(a)-Konzentration deutlich unter 20 mg/dl gemessen, braucht die Bestimmung in der Regel nicht wiederholt werden. Höhere Konzentrationen sind ein zusätzlicher kardiovaskulärer Risikofaktor und können je nach der klinischen Gesamtsituation den Zielwert für das LDL-C beeinflussen (siehe allgemeine Therapierichtlinien). Gesicherte diätetische oder pharmakotherapeutische Maßnahmen zur Senkung hoher Lp(a)-Konzentrationen gibt es nicht. Da Lp (a) therapeutisch kaum beeinflussbar ist, sollte eine hohe Konzentration des Lp (a) dazu veranlassen, andere Risikofaktoren konsequent zu behandeln. Postmenopausale Frauen mit erhöhtem Lp(a)-Spiegel profitieren möglicherweise im Hinblick auf die KHK-Prävention auch von einer Hormonsubstitutionstherapie, die das Lp(a) senkt [34].

*Lipoproteinelektrophorese**Indikationen*

Differentialdiagnose von Dyslipoproteinämien, insbesondere Typ III HLP, exakte Bestimmung des LDL-C, wenn die Formel nach *Friedewald* nicht angewendet werden kann (nur durch enzymatische Gelfärbung).

Methoden

Serum wird elektrophoretisch aufgetrennt und die Lipoproteine werden selektiv dargestellt. Man erhält folgende Fraktionen: Chylomikronen (bleiben aufgrund ihrer Größe an der Auftragstelle liegen), β -Lipoproteine (entsprechen den LDL), prä- β -Lipoproteine (entsprechen den VLDL und enthalten in der Regel auch das Lipoprotein (a)) und die α -Lipoproteine (entsprechen den HDL).

Die Darstellung der Lipoproteine kann erfolgt durch: Lipidfarbstoffe, Präzipitation mit Polyanionen, enzymatischen Nachweis von Cholesterin oder Triglyzeriden. Die Anfärbung mit Lipidfarbstoffen ist einer quantitativen Auswertung nicht zugänglich [35]. Sie bringt die α -Lipoproteine (HDL) nur schlecht zur Darstellung. Polyanionenpräzipitation und enzymatische Cholesterin- bzw. Triglyzeridfärbung sind quantitativ auswertbar. Die enzymatischen Nachweisreaktionen sind der Polyanionenpräzipitation insofern überlegen, als der Cholesterin- bzw. Triglyzeridanteil der Lipoproteine direkt bestimmt wird. Neuerdings wird auch versucht, das Lipoprotein (a) von den VLDL abzutrennen und separat zu quantifizieren [36].

Bewertung

Die Konzentrationen für LDL-C und HDL-C werden anhand der allgemeinen Therapierichtlinien bewertet. Da Chylomikronen an der Auftragstelle liegen bleiben, sind LDL- und VLDL-C auch in postprandialen Proben verwertbar. Die Lipoproteinelektrophorese war die methodische Grundlage für die Einteilung der HLP nach *Fredrickson* (Tabelle 2). Insbesondere bei der Diagnose einer Typ III HLP ist die Lipoproteinelektrophorese hilfreich: Man findet eine breite, etwas weiter wandernde β -Bande; die β - und prä- β -Lipoproteine sind nicht mehr voneinander getrennt.

Einflußgrößen und Störfaktoren in der Lipoprotein-diagnostik

Patientenvorbereitung

Intraindividuell schwanken die Ergebnisse der Cholesterinmessung um etwa 12 % (biologische und analytische Variabilität). Die intraindividuelle Variabilität der Triglyzeride ist mit bis zu 50 % deutlich höher. Die Variabilität für das HDL-C beträgt zwischen 4 und 12 %. Die Diagnose einer Hyper- bzw. Dyslipoproteinämie sollte daher durch eine Wiederholungsbestimmung im Abstand von etwa vier Wochen bestätigt werden. Die Nahrungsaufnahme beeinflusst die Konzentrationen des Gesamtcholesterins und des LDL-C kaum. Cholesterin und LDL-C dürfen daher auch in postprandialen Proben interpretiert werden. Triglyzeride sollten nach 12- bis 14-stündigem Fasten gemessen werden. Die diagnostische Wertigkeit postprandial bestimmter Triglyzeride oder standardisierter Fettbelastungstests werden uneinheitlich beurteilt. Optimal ist, wenn das Körpergewicht der Patienten zwei bis drei Wochen vor der Blutentnahme konstant war und keine wesentlichen Veränderungen der Diät vorgenommen wurden.

In der Schwangerschaft kommt es physiologischerweise zu einer ausgeprägten HLP. Konsumierende Erkrankungen senken das Gesamt- und LDL-C. Auch akute Erkrankungen (zum Beispiel Myokardinfarkt, Operationen, Verletzungen, Infektionen) beeinflussen die Lipoproteinkonzentrationen. Von praktischer Bedeutung ist insbesondere der Verlauf des LDL-C beim akuten Koronarsyndrom (Myokardinfarkt oder instabile Angina pectoris). Gesamtcholesterin und LDL-C können noch innerhalb von acht Stunden nach einem Myokardinfarkt interpretiert werden. Danach kommt es als Folge der Akutphase-Reaktion zum Abfall des LDL-C (um bis zu 30 Prozent !) und des HDL-C. Eine aussagefähige Lipoproteindiagnostik ist daher frühestens acht bis zwölf Wochen nach einem Myokardinfarkt durchführbar. Es stellt sich allerdings die Frage, ob mit einer lipidsenkenden Behandlung so lange zugewartet werden sollte. Bei etwa der Hälfte aller Patienten mit koronarer Herzkrankheit ist das akute Koronarsyndrom Erstmanifestation der Erkrankung. Oft sind Lipid- und Lipoproteinwerte aus der Zeit vor dem Ereignis nicht bekannt. Wird deren Bestimmung innerhalb der ersten Stunden nach dem Ereignis versäumt, kann eine lipidsenkende Behandlung vielmehr auch ohne Kenntnis der Ausgangswerte begonnen werden, zumal sich inzwischen die Hinweise darauf mehren, daß eine frühzeitig einsetzende, aggressive Senkung des LDL-C nicht nur langfristig, sondern auch kurz- und mittelfristig neuerliche Ereignisse bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit vermindert [37].

Präanalytische Phase

Wird venöses Blut beim stehenden oder sitzenden Patienten entnommen, so sind die Lipoproteinkonzentrationen um 12 bzw. 6 % höher als beim liegenden Patienten. In der Praxis hat es sich bewährt, die Blutentnahme vorzunehmen, nachdem der Patient 10 bis 15 Minuten gesessen hat. Wird bei der Blutentnahme zu lange gestaut, führt dies zu einer Erhöhung der Lipoproteinkonzentrationen um bis zu zehn Prozent. Lipid- und Lipoproteinwerte im Plasma sind 5 % niedriger als im Serum. Soll Plasma für die Lipidanalytik verwendet werden, so sind Heparin oder EDTA als Antikoagulant zu empfehlen. Man sollte immer einheitlich verfahren, also entweder immer Serum oder immer Plasma verwenden. Plasma oder Serum kann bis zur Durchführung der Lipoproteinanalysen vier Tage bei 4 °C aufbewahrt werden. Da die Konzentration des freien Glycerins im Serum in den Triglyzeridwert eingeht, können die Triglyzeride bei Zuständen mit hohen Konzentrationen an freiem Glycerin (Diabetes mellitus, Hepatopathien) falsch hoch werden. Dies gilt auch für die seltene Pseudohypertriglyzeridämie (hereditäre Defekte der Glycerinkinase) und die orale Zufuhr von Glycerin (z. B. Glycerintest nach Hörsturz). Durch Bestimmung des freien Glycerins kann man die Triglyzeridwerte ggf. korrigieren. Freies Glycerin kann auch durch Spontanhydrolyse der Triglyzeride entstehen, wenn man die Probe zu lange bei Zimmertemperatur stehen läßt. Dann sollte allerdings der Gehalt an frei-

em Glycerin nicht vom Triglyzeridwert abgezogen werden, weil das freie Glycerin dann aus den Triglyzeriden stammt.

Interferenzen

Hämoglobin über 2 g/l ergibt zu hohe Cholesterin- und Triglyzeridkonzentrationen. Bilirubin, Ascorbinsäure, Alpha-Methyldopa oder Novalgin können die Cholesterin- bzw. Triglyzeridkonzentrationen scheinbar erniedrigen.

Bei hohen Triglyzeridkonzentrationen können fälschlich erhöhte Werte für HDL-C gefunden werden, da die durch Polyanionen präzipitierten VLDL nicht ausreichend sedimentieren und damit in die Cholesterinbestimmung im Überstand eingehen.

Bei Triglyzeridkonzentrationen über 1000 mg/dl sind auch die Ergebnisse der Lipoproteinelektrophorese mit Vorsicht zu interpretieren. In hypertriglyzeridämischen Proben ist die Mobilität der Lipoproteine oft beschleunigt, so daß man sie nicht an der gewohnten Position findet. Ursache hierfür ist eine Anlagerung von freien Fettsäuren an die Lipoproteine, so daß deren elektrophoretische Mobilität zunimmt. Man kann die Mobilität der Lipoproteine wieder normalisieren, in dem man der Probe Albumin zusetzt [38].

Spezielle Diagnostik

Die spezielle Diagnostik dient vor allem der Differentialdiagnose der primären HLP. Sie ist daher angezeigt, wenn eine sekundäre HLP unwahrscheinlich ist. *Cave:* Faktoren, die für sich alleine eine sekundäre HLP verursachen, können das Erscheinungsbild primärer HLP akzentuieren oder modifizieren (siehe vor allem Typ III HLP).

Ultrazentrifugation von Lipoproteinen

Die Einteilung der Lipoproteine in Dichteklassen erfolgte anfangs aufgrund ihres Verhaltens in der Ultrazentrifuge. Die Ultrazentrifugation gilt damit als „Referenzmethode“ der Lipoproteinanalytik. Sie ist technisch anspruchsvoll, teuer und für den Einsatz im klinischen Laboratorium kaum geeignet.

Indikation

Nur in Einzelfällen indiziert. Die Ultrazentrifugation liefert Informationen zur Lipid- und Proteinkomposition der Lipoproteinklassen. Man benötigt sie z. B. zum definitiven Nachweis einer Typ III HLP. Außerdem kann man das LDL-C in Proben bestimmen, in denen die Friedewald-Formel nicht zur Anwendung kommen soll.

Methoden

Normalerweise wird Serum oder Plasma zuerst bei seiner Eigendichte (1.0063 kg/l) zentrifugiert. Unter diesen Bedingungen flottieren die VLDL. Man trennt die VLDL durch Schneiden der Röhren oder durch behutsame Aspiration mit einer Kanüle ab. Der Unterstand wird dann durch Zugabe eines Salzes auf eine Dichte von 1.019 kg/l eingestellt und zentrifugiert.

Unter diesen Bedingungen flottieren die sog. *intermediate density* Lipoproteine (IDL). Um die LDL und die HDL zu isolieren, muß man schließlich noch bei Dichten von 1.063 kg/l und 1.21 kg/l zentrifugieren.

Häufig wird die Ultrazentrifugation mit Präzipitationstechniken kombiniert (sogenannte Methode der *Lipid Research Clinics*). Die VLDL werden bei einer Dichte von 1,0063 kg/l durch Ultrazentrifugation von den anderen Lipoproteinen abgetrennt. Im Zentrifugationsunterstand werden die LDL mit Polyanionen ausgefällt und das HDL-C wird enzymatisch gemessen. Das LDL-C wird als Differenz zwischen dem Cholesteringehalt im Unterstand nach Ultrazentrifugation und dem HDL-C errechnet.

Bewertung

LDL-C und HDL-C siehe Basisdiagnostik. Beweisend für eine Typ III HLP ist ein Verhältnis von VLDL-C zu Gesamttriglyzeriden größer 0,3 und ein Verhältnis von Cholesterin zu Triglyzeriden in den VLDL größer 0,45. Nach eigenen Untersuchungen könnte der relative Gehalt der LDL an Triglyzeriden eine Bedeutung als koronarer Risikofaktor zu erlangen.

Apolipoproteine

Mit Ausnahme der LDL enthalten alle Lipoproteinklassen mehrere Apolipoproteine. Die Bedeutung der Apolipoproteinbestimmungen liegt in der Differentialdiagnose von Hyper- und Dyslipoproteinämien.

Zur Quantifizierung von Apolipoproteinen steht eine große Zahl immunologischer Techniken zur Verfügung: Radiale Immundiffusion, Immunonephelometrie und Turbidimetrie, Enzymimmunoassays und Radioimmunoassays. Mit molekulargenetischen Techniken wie Restriktionstypisierung und automatischer Sequenzierung können Veränderungen der Primärstrukturen identifiziert werden.

Apolipoprotein A-I

Apo A-I ist das hauptsächliche Strukturprotein der HDL. Es wird in der Leber und der Schleimhaut des Dünndarms synthetisiert; es fördert den Ausstrom von Cholesterin aus nicht-hepatischen Zellen und aktiviert die Lecithin:Cholesterin-Acytransferase. Einige der Mangelzustände an HDL sind Folge von Mutationen im Gen für Apo A-I.

Indikationen

Die Konzentration des Apo A-I korreliert sehr gut mit der Konzentration der HDL; die klinische Wertigkeit der Bestimmung des Apo A-I entspricht derjenigen des HDL-C. In hypertriglyzeridämischen Proben, in denen die Fällungsmethoden versagen, läßt sich durch Messung des Apo A-I die Konzentration der HDL gut abschätzen. Quantifizierung, proteinchemische Charakterisierung und gegebenenfalls molekulargenetische Analyse des Apo A-I sind indiziert zur Charakterisierung seltener HDL-Mangelsyndrome, an die man bei HDL-Cholesterinkonzentrationen unter 25 mg/dl (Männer) bzw. 30 mg/dl (Frauen) insbesondere dann

denken sollte, wenn Xanthome, periphere Neuropathie, Splenomegalie und Korneatrübungen vorliegen und/oder niedriges HDL-C familiär gehäuft auftritt.

Bewertung

Die Apo A-I-Konzentration in der deutschen Bevölkerung liegt bei Männern zwischen 100 und 180 mg/dl, bei Frauen zwischen 110 und 200 mg/dl (5. und 95. Perzentilen). Eine Konzentration von 120 mg/dl Apo A-I entspricht etwa dem Risikoschwellenwert von 35 mg/dl HDL-C.

Apolipoprotein A-II

Apo A-II ist nach Apo A-I das HDL-Protein mit der höchsten Konzentration. Die Funktion von Apo A-II ist unklar. *In vitro* moduliert es die Aktivität der hepatischen Triglyzeridlipase und der Lecithin:Cholesterin Acyltransferase und der Lipoproteinlipase.

Indikation

Charakterisierung und Differentialdiagnose von HDL-Mangelsyndromen.

Bewertung

Die Apo A-II-Konzentration in der deutschen Bevölkerung schwankt bei Männern und Frauen zwischen 30 und 60 mg/dl (5.–95. Perzentile).

Apolipoprotein B

Apo B kommt in zwei Isoformen im Plasma vor, Apo B-100 und Apo B-48. Beim Menschen wird Apo B-48 nur in der Dünndarmmukosa, Apo B-100 nur in der Leber synthetisiert. Apo B-48 entspricht dem aminoterminalen Teil des Apo B-100. Apo B-48 ist Strukturprotein der Chylomikronen, Apo B-100 ist Strukturprotein der VLDL und LDL. Im Nüchternplasma kommt praktisch nur Apo B-100 vor: selbst postprandial steigt der Anteil des Apo B-48 kaum auf über 5 % der gesamten Apo B-Konzentration. In einer normalen, nüchternen Plasmaprobe enthalten die VLDL etwa 5 bis 10 %, die LDL 90 bis 95 % des Apo B. Aus diesen Gründen ist die Konzentration des Apo B ein guter Indikator für die Konzentration der LDL. Die wichtigste Funktion des Apo B-100 ist die Bindung an LDL-Rezeptoren.

Einige Autoren behaupten, ein niedriges Verhältnis von LDL-C zu Apo B-100 bzw. von LDL-C zu LDL-Apo B-100 sei ein zusätzlicher Risikoindikator für die koronare Herzkrankheit, weil es das Vorliegen kleiner, dichter, cholesterinärmer LDL-Subfraktionen anzeige (sog. Hyperapobetalipoproteinämie). Nach unseren Erfahrungen sind die Unterschiede, wenn überhaupt existent, marginal und damit von geringer Bedeutung für die Praxis.

Indikation

Die Konzentration des Apo B korreliert bei normalen oder moderat erhöhten Triglyzeriden gut mit dem LDL-C. Dann ist die klinische Wertigkeit beider Parameter äquivalent. Die immunologische Messung des Apo B liefert in hypertriglyzeridämischen Proben, in

denen die Fällungsmethoden versagen, ein Maß für die Konzentration der LDL. Weitere Indikation für die Quantifizierung des Apo B ist die Charakterisierung seltener LDL-Mangelsyndrome (Hypobetalipoproteinämie, Abetalipoproteinämie).

Verdacht auf defektes Apo B-100 besteht vor allem bei einer familiären Häufung der Befundkonstellation mäßiggradige Erhöhung des LDL-C und normale Triglyzeriden. Die Suche nach Mutationen der rezeptorbindenden Domäne des Apo B-100 erfolgt nach Amplifikation entsprechender Genabschnitte mit der Polymerasekettenreaktion (EDTA-Vollblut einsenden).

Bewertung

Die Apo B-Konzentration in der deutschen Bevölkerung schwankt bei Männern zwischen 75 und 215 mg/dl und bei Frauen zwischen 75 und 180 mg/dl (5. und 95. Perzentile). Eine Konzentration von 140 mg/dl Apo B entspricht etwa einem LDL-C von 160 mg/dl.

Apolipoproteine C

Die Apolipoproteine C (CI, CII, CIII) findet man in den triglyzeridreichen Lipoproteinen (Chylomikronen, VLDL, IDL) und in den HDL. Apo CII aktiviert, Apo CIII hemmt die Lipoproteinlipase. Apo CIII und Apo CI hemmen die Bindung triglyzeridreicher Lipoproteine an zelluläre Rezeptoren. Apo CI moduliert zusätzlich noch die Aktivität der LCAT. Bei Personen mit homozygotem Mangel an Apo CII treten HLP der Typen I und V nach *Fredrickson* (Chylomikronämie) auf.

Indikation

Die Bestimmung von Apo CII ist indiziert in der Differentialdiagnostik der Typ I und der Typ V HLP. Verdächtig sind vor allem Kinder und Jugendliche mit rezidivierenden Oberbauchbeschwerden und/oder eruptiven Xanthomen. Weil die Erkrankung autosomal rezessiv weitergegeben wird, findet man in der Familie oft nur geringfügige Hypertriglyzeridämien. Für die Bestimmung von Apo CI und Apo CIII gibt es derzeit keine gesicherte Indikation.

Bewertung

Erst Verminderungen von Apo CII unter 10 % der normalen Konzentration sind verwertbar, höhere Konzentrationen reichen zur Aktivierung der Lipoproteinlipase aus [4].

Apolipoprotein E

Apo E vermittelt die Aufnahme von *remnants*, die aus dem Katabolismus von Chylomikronen oder VLDL stammen, in die Leber und ist an der Umwandlung von VLDL *remnants* in LDL beteiligt. Das Apo E4-Allel prädisponiert zu hohem LDL-C und zur Alzheimer'schen Erkrankung, Apo E2 ist mit der familiären Typ III Hyperlipoproteinämie assoziiert [5].

Indikation

Die Phänotypsierung oder Genotypisierung des Apo E unterstützt die Diagnose einer Typ III HLP. Verdacht

auf eine Typ III HLP besteht immer dann, wenn Cholesterin und Triglyzeride etwa gleich hoch sind (zwischen 250 und 800 mg/dl) und/oder Handlinienxanthome vorliegen. Auch die Quantifizierung des Apo E kann zusammen mit der Messung des Apo B bei der Diagnose der Typ III HLP nützlich sein.

Bewertung

Für die Diagnose einer Typ III HLP sollten folgende Kriterien erfüllt sein: Gesamtcholesterin und Triglyzeride jeweils etwa zwischen 250 und 800 mg/dl; Verhältnis von VLDL-C zu Gesamttriglyzeriden größer 0,3 (Ultrazentrifuge); Verhältnis von VLDL-C zu VLDL-Triglyzeriden größer 0,4 (Ultrazentrifuge); Nachweis einer breiten Beta-Bande in der Lipoprotein-elektrophorese; Nachweis von VLDL mit Beta-Mobilität in der Elektrophorese (Ultrazentrifugation und Elektrophorese); meist E2/2-Homozygotie. In seltenen Fällen kann eine Typ III HLP auch bei anderen Apo E-Phänotypen auftreten. Dann ist ein Spezialist zu konsultieren. Differentialdiagnostisch verwertbar ist auch, daß bei Typ III HLP ist das Verhältnis von Apo E zu Apo B deutlich höher als bei allen anderen Formen der Dyslipoproteinämien [39].

Enzyme des Lipoprotein-Stoffwechsels

Triglyzerid-Lipasen

Intravenöse Injektion von Heparin führt zur Freisetzung zweier lipolytischer Enzyme ins Plasma, nämlich der Lipoprotein-Lipase (LPL) und der hepatischen Lipase (HL). Die LPL (nicht dagegen die HL) benötigt Apo CII als Kofaktor. Die LPL ist für die Hydrolyse von Triglyzeriden der Chylomikronen und der VLDL verantwortlich, die HL setzt vor allem Triglyzeride in *remnants* und HDL₂ um [3].

Der autosomal rezessive Mangel an LPL (selten) führt zu einer Störung im Abbau der TG-reichen Lipoproteine und zu exzessiver Hypertriglyzeridämie (Typen I und V nach *Fredrickson*). Die Mehrzahl der Fälle (80 %) wird im Kindesalter auffällig [3].

Indikation

Bei Kindern oder Jugendlichen mit rezidivierenden Oberbauchbeschwerden (Pankreatitiden), eruptive Xanthome, Hepatosplenomegalie und *Lipemia retinalis* sollten Lipide und ggf. die Lipaseaktivitäten gemessen werden.

Methode

Lipaseaktivitäten werden nach intravenöser Gabe von Heparin bestimmt. Man gibt 100 U pro kg Körpergewicht i.v.; Blutproben werden vor dem Heparinbolus, sowie 10 und 20 min nach Heparin entnommen und sofort auf gestoßenes Eis gestellt. Die Proben werden kühl zentrifugiert und für den Transport ins Labor eingefroren. Die Messung der Lipaseaktivitäten erfolgt mit Triglyzeriden, deren Fettsäuren radioaktiv markiert sind, oder fluoreszierenden Triglyzerid-Analoga als Substrate. HL und LPL werden unterschieden, indem man die Messung in Gegenwart von Antikör-

pern gegen die LPL oder 1 mol/L NaCl durchführt. Unter diesen Bedingungen ist nur die HL aktiv. Für die Bestimmung der LPL sind auch immunologische Assays erhältlich, mit denen die Massenkonzentration bestimmt werden kann.

Bewertung

Ist die Aktivität der LPL auf weniger als 25 % des Normalwerts vermindert, so ist ein Mangel an LPL möglich. Eine hereditäre LPL-Defizienz kann aber nur durch Nachweis einer kausalen Mutation im LPL Gen diagnostiziert werden, da z. B. bei Insulinresistenz oder Akuter Phase die LPL-Aktivität sekundär erniedrigt ist. Heterozygote Mutationsträger haben zeigen oft etwa die Hälfte der normalen Aktivität und haben normale oder nur leicht erhöhte Triglyzeride im Plasma. Ein Mangel an HL ist selten; er führt zu einem Lipoproteinmuster, welches der Typ III HLP ähnelt.

Lecithin:Cholesterin Acyltransferase (LCAT)

Etwa zwei Drittel des Cholesterins im Plasma ist mit Fettsäuren verestert. Die Bildung der Cholesterinester wird im wesentlichen durch die LCAT katalysiert, die freie Fettsäuren des Lecithins auf nicht-verestertes Cholesterin überträgt. Kofaktor der Reaktion ist Apo A-I. Die LCAT spielt eine wichtige Rolle bei der Umwandlung von HDL₃ zu HDL₂ [8].

Indikation

Die Bestimmung dient der Diagnose des LCAT-Mangels (Anteil des nicht veresterten Cholesterins im Plasma über zwei Drittel erhöht, niedriges HDL-C, Korneatrübung, Nierenfunktionsstörung, hämolytische Anämie und Xanthome) oder der Fischeaugenkrankheit (nur leicht erniedrigter Anteil des nicht veresterten Cholesterins, niedriges HDL-C, Korneatrübung, keine Niereninsuffizienz).

Methode

Gemessen wird der Transfer einer freien Fettsäure vom Lecithin auf radioaktives Cholesterin. Die Aktivität des Plasmas, Cholesterin zu verestern, wird gemessen entweder nach Äquilibration des radioaktiven Cholesterins mit endogenen Lipoproteinen (Cholesterinveresterungsrate) oder nach Zugabe exogener Lipoproteine, die das radioaktive Cholesterin enthalten. Im letzteren Fall unterscheidet man die Cholesterinveresterung in HDL bzw. künstlichen Apo A-I-enthaltenen Lipoproteinen (alpha-LCAT) von der Cholesterinveresterung in LDL oder VLDL (beta-LCAT). Ergänzend zur LCAT-Aktivität sollten im Serum Cholesterin und Cholesterinester separat quantifiziert werden.

Bewertung

Beim klassischen LCAT Mangel kann die LCAT freies Cholesterin in den HDL, LDL und endogenen Lipoproteinen nicht verestern; bei der Fischeaugenkrankheit fehlt nur die Aktivität gegenüber HDL. Entsprechend ist bei klassischer LCAT-Defizienz das Verhältnis von Cholesterinestern/Gesamtcholesterin (normalerweise

70 bis 80 Prozent) stark erniedrigt und bei der Fischeaugenkrankheit normal.

LDL-Rezeptor

Der LDL-Rezeptor (LDL-R) ist für den Abbau der LDL verantwortlich. Defekte des LDL-R sind Ursache familiären Hypercholesterinämie [6].

Indikation

Eine FH ist wahrscheinlich, wenn neben einer ausgeprägten Typ IIa HLP Sehnenxanthome vorliegen und die Hälfte der Verwandten ersten Grades ebenfalls betroffen sind. Fast alle Patienten mit FH sind normalgewichtig. Xanthome der Strecksehnen sind typisch. Wenn sie fehlen, ist eine FH aber nicht ausgeschlossen.

Methoden

Die Aktivität des LDL-Rezeptors wird klassischerweise an kultivierten Fibroblasten mit radioaktiv markierten LDL als Ligand gemessen. Fibroblasten werden aus Hautstanzen gewonnen. Kommerziell erhältlich sind auch Verfahren zur durchflußzytometrischen Bestimmung der LDL-Rezeptoren an Monozyten des zirkulierenden Blutes. Sie haben nach unserer Erfahrung (Abgleich mit konventionellen Assays in Fibroblastenkulturen und der Gensequenzierung) eine eingeschränkte Sensitivität und Spezifität. Bei der molekulargenetischen Diagnostik der familiären Hypercholesterinämie sieht man sich mit dem Problem konfrontiert, daß die Mutationen über das gesamte Gen (18 Exone) verteilt sind und oft nur in einer einzigen Familie auftreten. Erleichtert wird die Diagnostik dann, wenn in einer Familie mit bekannter Mutation nach weiteren Betroffenen gesucht werden soll oder wenn Mutationen in bestimmten ethnischen Gruppen überrepräsentiert sind (*founder effect*). Nur aufgrund der Lipoproteinanalyse wird die Diagnose FH in der allgemeinen Bevölkerung zu häufig gestellt. Nur etwa ein Zehntel aller Patienten mit Typ IIa HLP haben tatsächlich eine FH, so daß bei Vorliegen einer Typ IIa HLP auch an die familiär kombinierten HLP, den familiären Apo B-100 Defekt und „polygene“ Hypercholesterinämie zu denken ist. Andererseits wird innerhalb der betroffenen Familien die Diagnose FH zu selten gestellt, da andere genetische und Umwelteinflüsse bei Merkmalsträgern den Rezeptordefekt partiell kompensieren können und dann „normale“ Cholesterinkonzentrationen gefunden werden.

Bewertung

Die Diagnose FH wird durch Messung der Aktivität des LDL-Rezeptor-Funktion an kultivierten Hautfibroblasten gestellt. Homozygote Patienten zeigen keine oder sehr geringe Aktivität des LDL-Rezeptors, heterozygote Patienten besitzen Aktivitäten zwischen 50 und 60 % des Normalwertes. Der Nachweis einer bisher nicht bekannten Mutation im Gen für den LDL-Rezeptor ist ohne funktionelle Untersuchungen oder Segregationsanalyse nicht beweisend. Die Kenntnis

einer funktionell relevanten Mutation erlaubt die rasche Diagnose bei weiteren Familienmitgliedern.

Literatur

1. Kostner GM, März W. Zusammensetzung und Stoffwechsel der Lipoproteine. In: Schwandt P, Richter WO, Parhofer K, Hrs. Handbuch der Fettstoffwechselstörungen. 2. Aufl. Stuttgart, New York: Schattauer, 2001:3–57.
2. Havel RJ, Kane JP. Structure and Metabolism of Plasma Lipoproteins. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2705–16.
3. Kane JP, Havel RJ. Disorders of the biogenesis and secretion of lipoproteins containing the B apolipoproteins. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2717–52.
4. Brunzell JD, Deeb SS. Familial Lipoprotein Lipase Deficiency, ApoC-II deficiency, and hepatic lipase deficiency. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2789–816.
5. Mahley RW, Rall SC. Type III Hyperlipoproteinemia (Dysbetalipoproteinemia): The role of apolipoprotein E in normal and abnormal lipoprotein metabolism. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2835–62.
6. Goldstein JL, Hobbs HH, Brown MS. Familial Hypercholesterolemia. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2863–913.
7. Tall AR, Breslow JL, Rubin EM. Genetic disorders affecting plasma high density lipoprotein metabolism. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2915–36.
8. Santamarina-Fojo S, Hoeg JM, Assmann G, Brewer HB. Lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency and fish-eye disease. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2817–33.
9. Assmann G, von Eckardstein A, Brewer HB. Familial Analphalipoproteinemia. Tangier disease. In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2937–60.
10. von Eckardstein A, Nofar JR, Assmann G. HDL and coronary heart disease: Role of cholesterol efflux and reverse cholesterol transport. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2001;20:13–27.
11. Utermann G. Lipoprotein(a). In: Scriver C, Beaudet A, Sly W, Valle D, Childs B, Kinzler K, Vogelstein B, editors. The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease. 8th edition. New York: McGraw-Hill, 2001:2753–87.
12. Hoffmann MM, Jacob S, Luft D, Schmülling R-M, Rett K, März W, Häring H-U, Matthaei SA. Type I hyperlipoproteinemia due to a novel loss of function mutation of lipoprotein lipase Cys²³⁹→Trp, associated with recurrent severe pancreatitis. J Clin Endocrinol Metab 2000;85:4795–798.
13. Nauck MS, Nissen H, Hoffmann MM, Herwig J, Pullinger CR, Aversa M, Geisel J, Wieland H, März W. Detection of mutations in the apolipoprotein CII gene by denaturing gradient gel electrophoresis. Identification of the splice site variant apolipoprotein CII-Hamburg in a patient with severe hypertriglyceridemia. Clin Chem 1998;44:1388–96.
14. Feussner G, Feussner V, Hoffmann MM, Lohrmann J, Wieland H, März W. Molecular basis of type III hyperlipoproteinemia. Hum Mutat 1998;11:417–23.
15. Nauck MS, Köster W, Dörfer K, Eckes J, Scharnagl H, Gierens H, Nissen HA, Nauck MA, Wieland H, März W. Identification of recurrent and novel mutations in the LDL receptor gene in German patients with familial hypercholesterolemia. Hum Mutat 2001;18:165–6.

16. März W, Baumstark MW, Scharnagl H, Ruzicka V, Buxbaum S, Herwig J, Pohl T, Russ A, Schaaf L, Berg A, Böhles H-J, Usadel KH, Groß W. Accumulation of 'small dense' low density lipoproteins in a homozygous patient with familial defective apolipoprotein B-100 results from heterogeneous interaction of LDL subfractions with the LDL receptor. *J Clin Invest* 1993;92:2922-33.
17. Schäfer JR, Scharnagl H, Baumstark MW, Steinmetz A, Schweer H, Zech LA, Seyberth H, März W. Homozygous familial defective apolipoprotein B-100: enhanced removal of apolipoprotein E containing very low density lipoproteins and decreased production of low density lipoproteins. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997;17:348-53.
18. Warnick GR, Nauck M, Rifai N. Evolution of methods for measurement of HDL-cholesterol: from ultracentrifugation to homogeneous assays. *Clin Chem* 2001;47:1579-96.
19. Scharnagl H, Nauck M, Wieland H, März W. The Friedewald formula underestimates LDL cholesterol at low concentrations. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:426-31.
20. Nauck M, Graziani MS, Bruton D, Cobbaert C, Cole TG, Lefevre F, Riesen W, Bachorik PS, Rifai N. Analytical and clinical performance of a detergent-based homogeneous LDL-cholesterol assay: a multicenter evaluation. *Clin Chem* 2000;46:506-14.
21. Nauck M, Rifai N. Analytical performance and clinical efficacy of three routine procedures for LDL cholesterol measurement compared with the ultracentrifugation-dextran sulfate-Mg(2+) method. *Clin Chim Acta* 2000;294:77-92.
22. The International Task Force for the Prevention of Coronary Heart Disease. Coronary Heart Disease: Reducing the Risk. The scientific background for primary and secondary prevention of coronary heart disease. A worldwide view. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 1998;8:205-71.
23. Executive Summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001;285:2486-97.
24. Task Force Report: Prevention of coronary heart disease in clinical practice: Recommendations of the second joint task force of European and other societies on coronary prevention. *Atherosclerosis* 1998;140:199-270.
25. Danesh J, Collins R, Peto R. Lipoprotein(a) and coronary heart disease. Meta-analysis of prospective studies. *Circulation* 2000;102:1082-5.
26. von Eckardstein A, Schulte H, Cullen P, Assmann G. Lipoprotein(a) further increases the risk of coronary events in men with high global cardiovascular risk. *J Am Coll Cardiol* 2001;37:2434-9.
27. Milionis HJ, Winder AF, Mikhailidis DP. Lipoprotein (a) and stroke. *J Clin Pathol* 2000;53:487-96.
28. Nowak-Göttl U, Junker R, von Eckardstein A, Kosch A, Nohe N, Schobess R, Ehrenforth S, Kruz WD. Risk of recurrent venous thrombosis in children with combined prothrombotic risk factors. *Blood* 2001;97:858-62.
29. von Depka M, Nowak-Göttl U, Eisert R, Dieterich C, Barthels M, Scharrer I, Ganser A, Ehrenforth S. Increased lipoprotein (a) levels as an independent risk factor for venous thromboembolism. *Blood* 2000;96:3364-8.
30. Van Pampus MG, Koopmann MMW, Wolf H, Büller HR, Prins MH, van den Ende A. Lipoprotein(a) concentrations in women with a history of severe preeclampsia. *Thromb Haemost* 1999;82:10-3.
31. Berg K, Roald B, Sande H. High Lp(a) lipoprotein level in maternal serum may interfere with placental circulation and cause fetal growth retardation. *Clin Genet* 1996;50:47-9.
32. Nowak-Göttl U, Sonntag B, Cirkel U, Junker R, von Eckardstein A. Evaluation of lipoprotein(a) and genetic prothrombotic risk factors in patients with recurrent foetal loss. *Thromb Haemost* 2000;83:350-1.
33. Marcovina SM, Albers JJ, Scanu AM, Kennedy H, Giaculli F, Berg K, Couderc R, Dati F, Rifai N, Sakurabayashi I, Tate JR, Steinmetz A. Use of a reference material proposed by the International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine to evaluate analytical methods for the determination of plasma lipoprotein(a). *Clin Chem* 2000;46:1956-67.
34. Shlipak MG, Simon JA, Vittinghoff E, Lin F, Barrett-Connor E, Knopp RH, Levy RI, Hulley SB. Estrogen and progestin, lipoprotein(a), and the risk of recurrent coronary heart disease events after menopause. *JAMA* 2000;283:1845-52.
35. Winkler K, Nauck M, Siekmeier R, März W, Wieland H. Determination of triglycerides in lipoproteins separated by agarose gel electrophoresis. *J Lipid Res* 1995;36:1839-47.
36. Nauck M, Winkler K, Wittmann C, Mayer H, Luley C, März W, Wieland H. Direct determination of lipoprotein (a) cholesterol. A combination of ultracentrifugation and agarose gel electrophoresis with enzymatic cholesterol staining. *Clin Chem* 1995;41:731-8.
37. Schwartz GG, Olsson AG, Ezekowitz MD, Ganz P, Oliver MF, Waters D, Zeiher A, Chaitman BR, Leslie S, Stern T. Effects of atorvastatin on early recurrent ischemic events in acute coronary syndromes: the MIRACL study. A randomized controlled trial. *JAMA* 2001;285:1711-8.
38. Nauck M, März W, Wieland H. Adding albumin normalizes electrophoretic mobility of lipoproteins in sera with high concentrations of free fatty acids. *Clin Chem* 1996;42:1283-5.
39. März W, Feussner G, Siekmeier R, Donnerhak B, Schaaf L, Ruzicka V, Groß W. The apolipoprotein E to B ratio: a marker for type III hyperlipoproteinemia. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1993;31:743-7.