

Sonderdruck aus

Verhandlungen der Deutschen Gesellschaft für innere Medizin. 90. Band

© J. F. Bergmann Verlag, München 1984

Printed in Germany · Nicht im Handel

Triglyzeridwerte insgesamt und in den verschiedenen Dichteklassen zeigen keine Änderung. Die Apoproteine A-I und A-II steigen während des Trainings signifikant an.

Diskussion

Unsere Ergebnisse stehen nicht in Widerspruch zu Beobachtungen, denen zufolge eine Änderung (Anstieg) des HDL-Cholesterins unter körperlicher Dauerbelastung nur in Abhängigkeit von Verringerungen des Körpergewichts oder des Nüchterntriglyzeridspiegels bzw. der triglyzeridreichen Lipoproteine gefunden wurde. Derartige Befunde werden erhoben beim Training von bisher mehr oder weniger Untrainierten oder Übergewichtigen oder Probanden mit höheren Triglyzeridausgangswerten als denen in unserem Kollektiv, das auch nach Trainingspause normgewichtig und normotriglyzeridämisch war und nicht als untrainiert oder körperlich inaktiv bezeichnet werden konnte. Dennoch sind – neben der deutlichen LDL-Cholesterinsenkung – Veränderungen im Lipoproteinmuster festzustellen, die als prognostisch günstig angesehen werden müssen:

Es ist inzwischen bekannt, daß die Unterfraktion HDL₂ die prognostisch günstigste Lipoproteinklasse darstellt.

Als Ursache von Erhöhungen des HDL-Cholesterins bzw. des HDL₂-Cholesterins kommt ein erhöhter Lipoproteinkatabolismus durch gesteigerte lipolytische Aktivität im Muskel und/oder im Fettgewebe in Betracht (Lithell et al. 1981; Kuusi et al. 1982; Svedenhag et al. 1983).

Der Vergleich der Parameter HDL-Cholesterin und Apoproteine A-I und A-II läßt den Schluß zu, daß die Apoproteine möglicherweise die sensiblere Größe zur Messung von Trainingseffekten darstellt.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß auch bei Gewichtskonstanz bei eher niedrigen Triglyzeridausgangswerten ein körperliches Trainingsprogramm bei nicht inaktiven Stoffwechselgesunden prognostisch günstige Veränderungen im Lipoproteinprofil zeitigt.

Literatur

Gordon DJ, Witztum JL, Hunninghake D, Gates S, Glueck CJ (1983) Habitual physical activity and high-density lipoprotein cholesterol in men with primary hypercholesterolemia. The lipid research clinics coronary primary prevention trial. *Circulation* 67: 512–520 – Huttunen JK, Lämsimies E, Voutilainen E, Ehnholm C, Hietanen E, Penttilä I, Siitonen O, Rauramaa R (1979) Effect of moderate physical exercise on serum lipoproteins. A controlled clinical trial with special reference to serum high-density lipoproteins. *Circulation* 60: 1220–1229 – Kiens B, Jörgensen I, Lewis S, Jensen G, Lithell H, Vessby B, Hoe S, Schnohr P (1980) Increased plasma HDL-cholesterol and apo A-1 in sedentary middle-aged men after physical conditioning. *Eur J Clin Invest* 10: 203–209 – Kuusi T, Nikkilä EA, Saarinen P, Varjo P, Laitinen LA (1982) Plasma high density lipoproteins HDL₂, HDL₃ and postheparin plasma lipases in relation to parameters of physical fitness. *Atherosclerosis* 41: 209–219 – Lithell H, Cedermark M, Fröberg J, Tesch P, Karlsson J (1981) Increase of lipoprotein-lipase activity in skeletal muscle during heavy exercise. Relation to epinephrine excretion. *Metabolism* 30: 1130–1134 – Stubbe I, Hansson P, Gustafson A, Nilsson-Ehle P (1983) Plasma lipoproteins and lipolytic enzyme activities during endurance training in sedentary men: Changes in high-density lipoprotein subfractions and composition. *Metabolism* 32: 1120–1128 – Svedenhag J, Lithell H, Juhlin-Dannfelt A, Henriksson J (1983) Increase in skeletal muscle lipoprotein lipase following endurance training in man. *Atherosclerosis* 49: 203–207 – Williams PT, Wood PD, Krauss RM, Haskell WL, Vranizan KM, Blair SN, Terry R, Farquhar JW (1983) Does weight loss cause the exercise-induced increase in plasma high density lipoproteins. *Atherosclerosis* 47: 173–185 – Wirth A, Diehm C, Kohlmeier M, Heuck CC, Vogel I (1983) Effect of prolonged exercise on serum lipids and lipoproteins. *Metabolism* 32: 669–672

Wagner, H., Creutzfeldt, C., Cremer, P. (Abt. Klin. Chemie, Zentrum Innere Medizin, Universität Göttingen), Creutzfeldt, W. (Abt. Gastroenterologie und Stoffwechsel, Zentrum Innere Medizin, Universität Göttingen), Seidel, D. (Abt. Klin. Chemie, Zentrum Innere Medizin, Universität Göttingen)

Der Einfluß von Etofibrat auf Prostaglandine und Lipoproteine bei Patienten mit primärer Hyper- β -Lipoproteinämie

Die grundsätzliche Bedeutung eines pathologischen Lipoproteinmusters im Prozeß der Atherogenese ist erwiesen. Darüber hinaus gewinnt heute die Frage eines Zusammenwirkens von Lipoproteinen mit lokalen gefäßschädigenden Faktoren zunehmend an Bedeutung. Die Prostanoid Thromboxan und Prostazyklin stehen hier im Blickpunkt. Thromboxan wird von den Blutplättchen produziert, wirkt stark vasokonstriktorisch und fördert die Thrombozytenaggregation (Hamberg et al. 1975). Prostazyklin wird in der Gefäßwand – in erster Linie von den Endothelzellen – synthetisiert, führt zur Vasodilatation und hemmt die Thrombozytenaggregation (Moncada et al. 1977). Ein Zusammenwirken beider Substanzen im Sinne eines Gleichgewichtes (Moncada et al. 1978) scheint wegen ihrer gegensätzlichen Effekte von Bedeutung zu sein für Hämostase, Thrombose und pathophysiologische Mechanismen, die für die Lipidakkumulation in der Arterienwand verantwortlich sind (Moncada et al. 1979; Weksler et al. 1981; Ross 1981). Ein mögliches Zusammenspiel von Lipoproteinen und dem Thromboxan/Prostazyklingleichgewicht wird bislang vermutet (Förster et al. 1982; Fleisher et al. 1982), zumal bekannt ist, daß die Thromboxankonzentration im Plasma von Hypercholesterinämikern gegenüber der Norm erhöht ist (Paoletti 1983).

Bislang wurde erst begrenzt von Untersuchungen über den Effekt von Lipidsenkern bei behandlungsbedürftigen Hypercholesterinämikern auf die Prostaglandine berichtet (Puglisi 1982). Deshalb untersuchten wir in dieser klinischen Studie die Auswirkungen einer lipidsenkenden Behandlung mit Etofibrat – einem Ester aus Clofibrinsäure und Nikotinsäure – auf Lipoprotein- und Prostaglandinkonzentrationen bei Patienten mit primärer Hypercholesterinämie Typ IIa, n. Fr.

Methodik

Als Einschlußkriterium galt eine primäre Hypercholesterinämie mit Konzentrationen von Cholesterin über 300 mg/dl und Triglyzeriden unter 250 mg/dl. Ausschlußkriterien waren: Cholesterin unter 300 mg/dl, Vorbehandlung mit Lipidsenkern, Unzuverlässigkeit, Unverträglichkeit gegen Etofibrat, sonstige Erkrankungen, Schwangerschaft, sonstige medikamentöse Therapie, v.a. Alkoholabusus, Raucher, Kinder. Alle elf ambulanten Patienten (5 weiblich, 6 männlich) waren klinisch gesund. Nach eingehender internistischer Untersuchung fand sich kein Anhalt für eine sonstige Erkrankung. Sie hielten eine streng cholesterinarme Diät gemäß ärztlicher Empfehlung und waren streng angewiesen, keine Hemmstoffe der Prostaglandinsynthese wie Aspirin oder Indometacin einzunehmen. Alle Patienten waren eingehend aufgeklärt und stimmten schriftlich zu.

Das Studienkonzept und die gemessenen Parameter gehen aus Abb. 1 hervor. Thromboxan B₂ (TXB₂) und 6-keto-PGF_{1 α} sind die stabilen Hydrolyseprodukte des nativen, in vivo wirksamen Thromboxans, bzw. Prostazyklins. PGE₂- und PGF_{2 α} -Plasmakonzentrationen wurden bestimmt, um einen eventuellen Zusammenhang mit einer unerwünschten Wirkung des Etofibrats – der Flush-Symptomatik – zu untersuchen. Die Compliance wurde durch Medikamentenspiegelbestimmung im Blut kontrolliert.

Cholesterin und Triglyzeride wurden enzymatisch gemessen, die Lipoproteine mittels quantitativer Lipoproteinelektrophorese (Wieland et al. 1983), Apoprotein A-I und B mittels kinetischer Nephelometrie (Weinstock et al. 1981; Wieland et al. 1982).

Die Prostaglandine wurden aus EDTA-Plasma bestimmt, das standardisiert unter Einhaltung aller sachlich gebotenen Kautelen mit Zusatz von Indometacin in einer

Typ: EINFACH-BLIND, INTRA-INDIVIDUELLER VERGLEICH

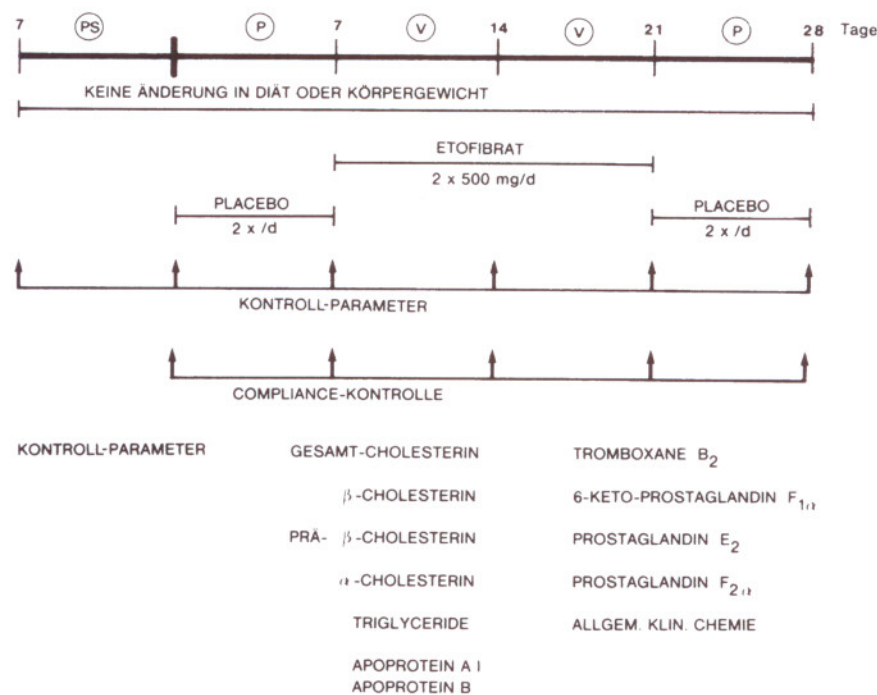


Abb. 1. Studienplan. PS = Pre study-Periode; P = Plazeboperiode; V = Verumperiode

Endkonzentration von 1 mMol/l entnommen und nach sofortiger Probenvorbereitung bei -80°C tiefgefroren wurde. Die Bestimmung der Prostaglandine erfolgte radioimmunologisch mit einem handelsüblichen Testsystem, nachdem die Proben modifiziert gemäß einem publizierten Verfahren (Skrinska et al. 1981) mit Flüssig/Festphasenextraktion über C₁₈-Material und Silikasäulen vorgereinigt worden waren. Die jeweiligen Ausbeuten wurden mittels eines tritiummarkierten internen Standards kontrolliert und korrigiert. Wiederfindung und Präzision von Tag zu Tag waren bei den verwendeten Testsystemen akzeptabel (VK: 7,3–13,8%; Wiederfindung: $99 \pm 5\%$ bei TXB₂ bis $106 \pm 12\%$ bei PGE₂).

Ergebnisse

Das Gesamtcholesterin zeigte bei einem Ausgangswert von 330 mg/dl zum Zeitpunkt T₀ im Mittel einen Abfall von ca. 10% während der Verumphase; in etwa der gleichen mittleren prozentualen Höhe lagen der des β-Lp-Cholesterins bei einem Ausgangswert von 254 mg/dl und der Apoprotein B-Konzentration (initial 204 mg/dl). Die Triglyzeridkonzentration fiel unter Etofibratbehandlung im Mittel um ca. 25% ab; gleichsinnig verhielt sich die Konzentration des p-β-Lp-Cholesterins. Das α-Lp-Cholesterin zeigte ebenso wie die Apoprotein A-I-Konzentration keine verwertbare Veränderung während des Studienverlaufes.

Deutliche Auswirkungen zeigte die Etofibratbehandlung bei den Prostaglandinkonzentrationen im Plasma: Thromboxan fiel in der Verumphase mit ca. 50% signifikant ($p < 0,001$), um unter Plazebo wieder deutlich anzusteigen. Die Konzentration von 6-keto-PGF_{1α} zeigte in keiner Phase eine signifikante Änderung. Das 6-keto-PGF_{1α}/TXB₂-Verhältnis stieg insgesamt

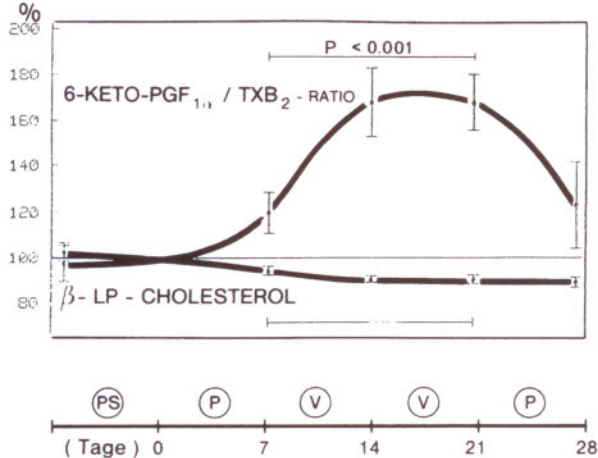


Abb. 2. Wirkung von Etofibrat auf β -Lp-Cholesterin und das 6-keto-PGF_{1 α} /TXB₂-Verhältnis

signifikant ($p < 0,001$) um ca. 50% unter Etofibrat an. Die PGE₂-Konzentration sank während *aller* Phasen der Studie deutlich ($p < 0,001$) ab. Ob dieser Effekt direkt mit einer Medikamentenwirkung verbunden ist, läßt sich hier nicht eindeutig beantworten. Interessant ist indessen eine offensichtliche Korrelation zwischen Cholesterin und PGE₂-Spiegeln. PGF_{2 α} zeigte keine signifikante Änderung unter Etofibrat. Ob dies das Fehlen der Flush-Symptomatik widerspiegelt und damit eine ursächliche Beteiligung dieser Substanz am Flush-Syndrom anzeigt, läßt sich hier nicht klären.

Zusammenfassung und Schlußfolgerung

Bei elf Patienten mit primärer Hyper- β -Lipoproteinämie kam es unter Etofibratbehandlung zu einem mäßigen, aber nicht signifikanten Abfall der Konzentration von β -Lp-Cholesterin und Apoprotein B, während die Konzentrationen von α -Lp-Cholesterin und Apoprotein A-I sich nicht änderten. Die Etofibratbehandlung war begleitet von einem signifikanten Abfall des TXB₂ und einem entsprechenden Anstieg des pathophysiologisch bedeutsamen 6-keto-PGF_{1 α} /TXB₂-Quotienten, der unter Plazebo wieder rückläufig war, während die Prostazyklinkonzentration keine signifikante Änderung zeigte. Ob diese Veränderung biologische Auswirkungen hat, kann z. B. durch Messung der Thrombozytenaggregation untersucht werden. Diese zeigte in einer ähnlich angelegten Studie (Krüger et al. 1983) eine deutliche Abnahme um ca. 50% unter Etofibratbehandlung; die Disaggregation war hierbei ca. 80%.

Ob die Änderung des 6-keto-PGF_{1 α} /TXB₂-Quotienten eine Auswirkung der Cholesterinsenkung und damit eine indirekte Behandlungsfolge darstellt oder ob sie aus einem direkten Angriffspunkt des Etofibrats im Prostaglandinsystem resultiert, läßt sich z. Z. noch nicht entscheiden. Weitere Kenntnisse darüber sind in Folgestudien zu erwarten, in denen Lipidsenker eingesetzt werden, die zu einer Senkung des β -Lp-Cholesterins führen, ohne dabei selbst resorbiert zu werden, und daher keine systemische pharmakologische Wirkung besitzen.

Literatur

Fleisher LN, Tall AR, Witte LD, Miller RW, Cannon PJ (1982) Stimulation of arterial endothelial synthesis by high density lipoproteins. *J Biol Chem* 257: 6653-6655 - Förster W, Beitz J (1982) Regulation of the prostacyclin synthetase activity by lipids. *Pharmacol Res Commun* 14: 227-240 -

Hamburger M, Svensson J, Samuelsson B (1975) Thromboxanes, a new group of biologically active compounds derived from prostaglandin endoperoxides. Proc Natl Acad Sci USA 72: 2994–2998 – Krüger B, Altmeier P, Lang E (1983) Effects of etofibrate on blood lipids and platelets in hyperlipidemic patients with enhanced platelet aggregation. Vortrag auf dem 8. International Symposium on Drug Affecting Lipid Metabolism. Philadelphia, 27.–30. Juli – Moncada S, Herman AG, Higgs EA, Vane JR (1977) Differential formation of prostacyclin (PGX or PGI₂) by layers of the arterial wall. An explanation for the anti-thrombic properties of vascular endothelium. Thromb Res 11: 323–344 – Moncada S, Vane JR (1978) Unstable metabolites of arachidonic acid and their role in hemostasis and thrombosis. Br Med Bull 34: 129–135 – Moncada S, Vane JR (1979) Arachidonic acid metabolites and the interactions between platelets and blood vessel walls. N Engl J Med 300: 1142–1147 – Paoletti R (1983) Wechselwirkungen zwischen Thrombozyten und Gefäßwand bei Hypercholesterinämie. Med. Klin Prax 78: 31–37 – Puglisi L, Caselli GF, Maggi F, Ciapponi MG, Accomazzo MR (1982) The effect of etofibrate and of another new nicotinic acid derivative on PGI₂ formation from epididymal tissue arteries in the rat. In: 6th Intern. Symposium on Atherosclerosis. Berlin 1982 (Abstract Nr. 238) – Ross R (1981) Atherosclerosis: A problem of the biology of arterial wall cells and their interactions with blood components. Atherosclerosis 1: 293–311 – Skrinska V, Lucas FV (1981) Isolation of prostacyclin from whole blood. Prostaglandins 22: 365–375 – Weinstock N, Bartholome M, Seidel D (1981) Determination of apolipoprotein A-I by kinetic nephelometry. Biochim Biophys Acta 663: 279–288 – Weksler BB, Nachmann RL (1981) Platelets and atherosclerosis. Ann Intern Med 71: 331–333 – Wieland H, Cremer P, Seidel D (1982) Determination of apolipoprotein B by kinetic (rate) nephelometry. J Lipid Res 23: 893–902 – Wieland H, Seidel D (1983) Quantitative lipoprotein-electrophoresis. In: CRC Handbook of electrophoresis, volume III. CRC Press, Boca Raton, USA, pp 83–102

Windler, E., Preyer, S., Klose, G. (Med. Kernklinik und Poliklinik, Universitäts-Krankenhaus Eppendorf, Hamburg)

Änderung der Affinität von Chylomikronen zu den Apolipoproteinen C-II und C-III während der Triglyzeridhydrolyse

Einleitung

Der überwiegende Teil der Triglyzeride von Chylomikronen und Very low density-Lipoproteinen wird durch Lipoproteinlipase im Kapillarbett hydrolysiert. Apolipoprotein C-II wirkt dabei als Aktivator. Die Apolipoproteine C-II und C-III verhindern die frühzeitige Aufnahme dieser triglyzeridreichen Lipoproteine durch die Leber [1]. Erst gegen Ende der Triglyzeridhydrolyse werden die C-Apolipoproteine auf die High density-Lipoproteine transferiert. Damit wird die Hydrolyse beendet und die Aufnahme der entstandenen Restpartikel (Remnants) durch die Leber ermöglicht [2]. In der vorliegenden Studie wurde versucht, einen Mechanismus für die Regulation des Transfers der C-Apolipoproteine aufzudecken.

Methoden

Männliche Sprague-Dawley-Ratten (300–350 g) wurden verwandt. Kleine Chylomikronen wurden mittels Ultrazentrifugation aus mesenterialer Lymphe isoliert, die während intraduodener Infusion von 10%iger Glukose in physiologischer Kochsalzlösung gewonnen wurde [1]. Remnants wurden aus dem Plasma funktionell eviszierter Ratten isoliert, denen 30 min vor dem Ausbluten kleine Chylomikronen (10 mg Triglyzeride pro Ratte) injiziert worden waren. Anreicherung von Chylomikronen mit Phospholipiden wurde folgendermaßen erreicht: Reine Phospholipide (Serva, Heidelberg) in Chloroform wurden unter Stickstoff am Boden eines Zentrifugenröhrchens getrocknet und mit Äther gewaschen. Kleine

Chylomikronen in physiologischer Kochsalzlösung, 0,01% EDTA, pH 7,4, wurden hinzugegeben, 60 min bei 37° C inkubiert und nach Überschichten mit physiologischer Kochsalzlösung durch Ultrazentrifugation für 1 Std bei 100 000 g reisoliert. In einigen Experimenten wurden Chylomikronen und Remnants für 1 Std bei Raumtemperatur mit C-Apolipoproteinen (C-II, C-III-0 und C-III-3), die mittels Gelpermeationschromatographie gereinigt worden waren (Sephadex G-150) [2], inkubiert. Chylomikronen und Remnants wurden nach Überschichten mit physiologischer Kochsalzlösung bei einer Dichte von 1,006 bzw. 1,019 g/ml für 5 Std mit 100 000 g zentrifugiert und unter denselben Bedingungen rezentrifugiert. Nach Inkubation mit C-Apolipoproteinen wurden die Lipoproteine unter den genannten Bedingungen zentrifugiert. Lipid- und Proteinkompositionen wurden mit Standardmethoden bestimmt. Phospholipide wurden mittels eindimensionaler Dünnschichtchromatographie auf borsäureimprägnierten Platten durch basisches Laufmittel getrennt [3]. Individuelle Phospholipide wurden durch Cochromatographie reiner Standards identifiziert, und Überlagerung zweier Fraktionen wurde durch zweidimensionale Dünnschichtchromatographie ausgeschlossen [4]. Isoelektrische Fokussierungen von Apolipoproteinen in einem pH-Bereich zwischen 3,5 und 7,0 wurden mit 2-Mercaptoäthanol nach Delipidierung mit Äthanol/Diäthyläther (3 : 1) durchgeführt [1]. Die relativen Mengen der C-Apolipoproteine wurde durch Messen der Flächen unter den durch spektrophotometrische Densitometrie ermittelten Absorptionskurven der gefärbten Banden abgeschätzt.

Resultate

In isoelektrisch fokussierten Gelen zeigten Chylomikronen die Apolipoproteine A-I, A-IV, C-II, C-III-0 und C-III-3, wohingegen Remnants Apolipoprotein E, geringe Mengen der Apolipoproteine C-III-0 und C-III-3 und nahezu kein Apolipoprotein C-II enthielten (Abb. 1). Die Gelbanden wurden, wie publiziert, identifiziert [1, 2]. Inkubation mit unfractionierten C-Apolipoproteinen resultierte in der Aufnahme dieser Apolipoproteine zuungunsten der anderen Apolipoproteine (Abb. 1). Während die Chylomikronen die verschiedenen C-Apolipoproteine ohne merklichen Unterschied banden, nahmen die Remnants weniger C-Apolipoproteine und überwiegend die C-III-Komponenten auf.

Remnants ($n = 5$) enthielten im Vergleich zu Chylomikronen ($n = 2$) weniger Triglyzeride ($49,8 \pm 0,8\%$ vs. $76,5 \pm 12,1\%$), aber relativ mehr freies Cholesterin ($6,8 \pm 0,4\%$ vs. $1,5 \pm 0,7\%$), Cholesterinester ($22,0 \pm 1,4\%$ vs. $4,8 \pm 0,4\%$) und Phospholipide ($21,6 \pm 1,8\%$ vs. $17,5 \pm 1,4\%$). Remnants ($n = 4$) waren im Vergleich zu Chylomikronen ($n = 7$) relativ reich an Sphingomyelin ($16,0 \pm 2,4\%$ vs. $3,0 \pm 1,2\%$) und an Lysophosphatidylcholin ($17,3 \pm 1,3\%$ vs. $5,4 \pm 0,8\%$) und ärmer an Phosphatidylcholin ($62,5 \pm 1,3\%$ vs. $77,1 \pm 3,9\%$), Phosphatidylethanolamin ($4,5 \pm 0,7\%$ vs. $11,6 \pm 0,8\%$) und Kardiolipin ($1,5 \pm 0,7\%$ vs. $3,1 \pm 2,0\%$).

Inkubation von Chylomikronen mit Sphingomyelin (0,25–1,0 mg Sphingomyelin pro mg Triglyzeride) führte zu einem maximalen Anstieg des Gehaltes an diesem Phospholipid bis 6%. Das Muster der isoelektrisch fokussierten Apolipoproteine blieb unverändert. Bei Kontrollinkubationen von Sphingomyelin oder Lysophosphatidylcholin ohne Chylomikronen waren keine Phospholipide im Überstand bei einer Dichte von 1,006 g/ml meßbar. Inkubation von Chylomikronen mit Lysophosphatidylcholin (0,1–0,5 mg Lysophosphatidylcholin pro mg Triglyzeride) führte zu einer Erhöhung des Gehaltes an diesem Phospholipid von 6,5–52% unter Verlust von Phosphatidylcholin bei unverändertem Gesamtphospholipidgehalt. Die Lipidzusammensetzung war unverändert, während der Proteingehalt abnahm. Dies spiegelte sich auch in isoelektrisch fokussierten Gelen wider (Abb. 2). Mit Zunahme des Gehaltes an Lysophosphatidylcholin waren weniger Apolipoproteine sichtbar. Apolipoprotein C-II schien stärker betroffen zu sein als die C-III-Apolipoproteine, denn die Densitometrie zeigte, daß das Verhältnis von Apolipoprotein C-II zu den Gesamt-C-Apolipoproteinen von 25% in Gel 2 auf 17% in Gel 3 absank, bei einem Anstieg des Lysophosphatidylcholingehaltes von 6,5 auf 29% der Gesamtphospholipide.