

Kleine, dichte LDL als Risikofaktor für die Atherosklerose

Quantitative Analyse der Lipoproteinsubklassen zur erweiterten kardiovaskulären Risikostratifizierung

Klinischer Hintergrund

Die Messung von Lipiden im Blut ist fester Bestandteil der Routinediagnostik. Als Basisdiagnostik zum Screening auf die weit verbreiteten Fettstoffwechselstörungen und zur KHK-Risikostratifizierung werden in der Regel Triglyceride, Gesamtcholesterin, LDL-Cholesterin und HDL-Cholesterin im Serum bestimmt. Mit diesen vier Parametern sowie der Bestimmung des Lipoprotein (a) ist eine praxistaugliche Klassifizierung von Lipidstoffwechselstörungen (Hypertriglyceridämie, Hypercholesterinämie, kombinierte Hyperlipoproteinämie, HDL-Mangel, Hyperlipoproteinämie (a)), eine kardiovaskuläre Risikoabschätzung und ein Therapie-monitoring zum großen Teil möglich.

Limitationen ergeben sich aus der Tatsache, dass Lipoproteine äußerst komplexe Partikel sind, die neben Triglyceriden und Cholesterin zahlreiche andere Bestandteile wie Phospholipide, freies und verestertes Cholesterin, Apolipoproteine, Enzyme und fettlösliche Vitamine enthalten. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Zusammensetzung bilden die Lipoproteine im Blut ein Kontinuum von sehr großen, leichten, lipidreichen bis sehr kleinen, dichten, proteinreichen Partikeln.

Innerhalb der Hauptlipoproteinklassen VLDL, LDL und HDL gibt es weitere Subklassen, die sich in Größe und

Dichte unterscheiden (Abb. 1). Die gleiche LDL-Cholesterinmenge kann beispielsweise in wenigen großen oder in vielen kleinen LDL-Partikeln verpackt sein, was von hoher klinischer Relevanz ist (Abb. 2). In zahlreichen Studien hat sich gezeigt, dass kleine, dichte LDL (small, dense LDL = sdLDL) wesentlich atherogener als größere, leichtere LDL sind. Eine Dominanz der kleinen, dichten LDL erhöht das Herzinfarkt-Risiko um das 3-7-Fache, und zwar unabhängig vom LDL-Cholesterin. Bei 40-50 % aller Patienten mit einer KHK wurden vermehrt kleine, dichte LDL gefunden, ohne dass das LDL-Cholesterin auffällig erhöht war. Dabei korrelierte die Höhe des sdLDL-Cholesterins positiv mit dem Schweregrad der KHK. Die Vorhersagekraft der kleinen, dichten LDL für ein zukünftiges koronares Ereignis übertraf darüber hinaus die der Gesamt-LDL deutlich. Kleine, dichte LDL wurden deshalb vom NCEP ATP III (National Cholesterol Education Program Adult Treatment Panel III) als ein eigenständiger, neuer Risikofaktor für Atherosklerose anerkannt. Auch für die HDL wurden subklassenspezifische Unterschiede mit größtenteils noch ungeklärten Auswirkungen beschrieben. Als sicher gilt jedoch, dass funktionelle Eigenschaften der HDL-Subklassen (reverser Cholesterintransport, antioxidative und antiinflammatorische Eigenschaften) eine größere Bedeutung für deren antiatherogene Wirkung haben als das totale HDL-Cholesterin.

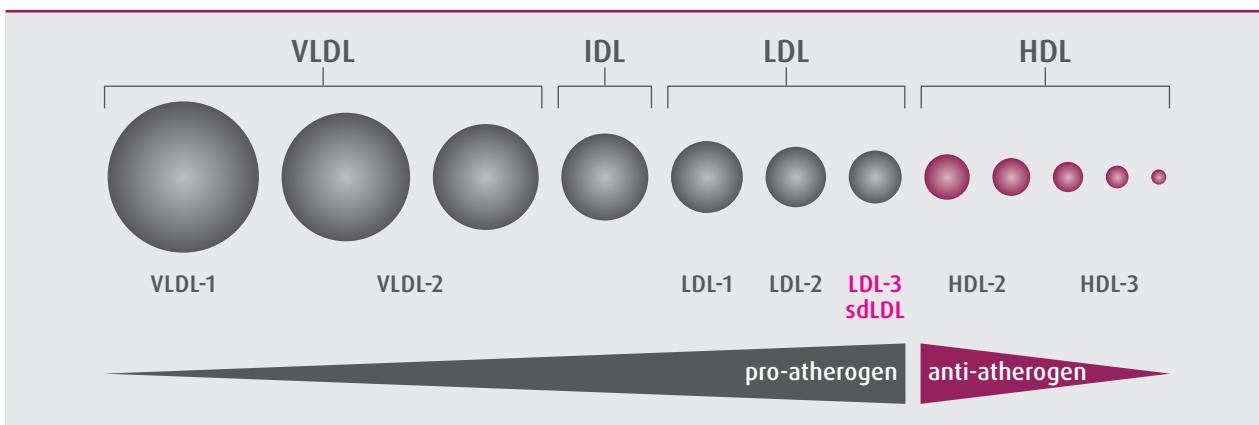


Abb. 1. Schematische Darstellung der Lipoproteinpertikel mit den wichtigsten Haupt- und Subklassen. Mit der Verringerung des Partikeldurchmessers steigt die Atherogenität der LDL, während die antiatherogene Wirkung der HDL abnimmt.

Die Ursachen für die starke Atherogenität der kleinen, dichten LDL sind vielfältig. Sie werden langsamer über den LDL-Rezeptor abgebaut und verweilen deshalb doppelt so lange im Blutplasma wie große, leichte LDL. Aufgrund ihrer geringen Größe gelangen kleine, dichte LDL leichter in den subendothelialen Raum der Arterienwände, wo sie mit hoher Affinität an die Proteoglykane der Extrazellulärmatrix binden und akkumulieren. Dort werden sie wegen ihres geringeren Gehalts an Antioxidantien (z.B. Vitamin E) besonders leicht durch die freien Radikale der Entzündungskaskade unter Bildung der extrem atherogenen oxidierten LDL (oxLDL) oxidiert. Die oxLDL werden von Makrophagen internalisiert, was zur Bildung der Schaumzellen führt.

Insgesamt zeigt eine wachsende Zahl wissenschaftlicher Publikationen, dass die Berücksichtigung von Lipoprotein-Subklassen und Lipoprotein-Partikelkonzentrationen zu einer verbesserten Risikostratifizierung und Vorhersagekraft kardiovaskulärer Ereignisse beitragen kann. Die Existenz unterschiedlich pro- bzw. antatherogener LDL- bzw. HDL-Subklassen kann zumindest zum Teil einige scheinbar paradoxe Beobachtungen erklären. So haben z.B. die meisten Patienten mit KHK einen nur leicht erhöhten oder sogar „normalen“ LDL-Cholesterinspiegel. Andererseits ist ein höheres LDL-Cholesterin nicht zwangsläufig mit einem höheren KHK-Risiko assoziiert. Auch aus einem hohen HDL-Cholesterinspiegel folgt nicht immer ein geringeres KHK-Risiko. Funktionelle, subklassenspezifische Eigenschaften der HDL-Partikel, die größtenteils noch ungeklärt sind, scheinen hierbei eine größere Bedeutung zu haben als das totale HDL-Cholesterin.

Diagnostische Konsequenzen

Aus oben genannten Gründen kann es deshalb sinnvoll sein, die Lipid-Basisdiagnostik zu erweitern und die Lipoprotein-Partikel bezüglich ihrer Subklassen, d.h. ihrer Dichte, ihres Durchmessers und der Partikelkonzentration zu charakterisieren. Zurzeit gibt es keine generell akzeptierte Referenzmethode für die Bestimmung von Lipoprotein-Subklassen. Die im Einsatz befindlichen Verfahren (Ultrazentrifugation, NMR-Spektroskopie, Gelelektrophorese, HPLC, homogene Assays, Präzipitationsmethoden) basieren auf unterschiedlichen Eigenschaften der Lipoproteine (Dichte, Größe, Ladung), sodass die Ergebnisse der verschiedenen Methoden untereinander nicht vergleichbar sind. Folglich gibt es auch keine einheitliche, standardisierte Nomenklatur für Lipoprotein-Subklassen, deren Bezeichnung in der Regel willkürlich in Abhängigkeit von der verwendeten Methodik festgelegt wurde.

Die Labore der Limbach Gruppe SE bieten drei Technologien für die Bestimmung von Lipoprotein-Subklassen an: die Gelelektrophorese (Lipoprint®), die Dichtegradient-Ultrazentrifugation (LipoDens®) und die NMR-Spektroskopie (LipoComplete®).

Lipoprint®

Bei der Gelelektrophorese (Lipoprint®) werden die Lipoproteinpartikel in einem linearen, nicht denaturierenden Polyacrylamidgel aufgrund ihrer unterschiedlichen Größe in einzelne Banden aufgetrennt (VLDL, IDL, 7 LDL-Subklassen, HDL). Die Intensität jeder Bande wird densitometrisch erfasst und anschließend das Lipoproteinprofil über ein spezielles Computerprogramm quantitativ ausgewertet. Der Endbefund beinhaltet neben den einzelnen Werten für Triglyceride, Gesamt-Cholesterin, LDL-Cholesterin einschließlich der 7 LDL-Subklassen, HDL-Cholesterin, VLDL-Cholesterin, IDL-Cholesterin und den LDL/HDL-Quotienten eine entsprechende grafische Darstellung der Ergebnisse mit Befundinterpretation und Therapieempfehlung.

LipoDens®

Die Ultrazentrifugation gilt nach wie vor als „Goldstandard“ in der Lipoproteinanalytik. Die LipoDens®-Methode basiert auf dem Prinzip der Trennung von Lipoprotein-Subklassen in einem sich selbst aufbauenden, kontinuierlichen Dichtegradienten. Sie kann neben der Bestimmung von Lipoprotein-Subklassen auch für die phänotypische Abklärung sämtlicher Lipoproteinstoffwechselstörungen eingesetzt werden. Der Vorteil der LipoDens®-Methode liegt in der exakten quantitativen Messung sämtlicher Lipide in insgesamt 20 Dichtefraktionen. Auch Lp(a) wird als separater Peak im Dichteprofil sicher erkannt, was mit anderen Methoden nicht möglich ist. Es gibt keinerlei Einschränkungen für die korrekte quantitative Analytik, sodass z.B. auch extrem lipämische Seren und atypisch zusammengesetzte Lipoproteine (Dyslipoproteinämie) präzise analysiert werden können. Nachteile sind der relativ hohe zeitliche und personelle Aufwand und der beschränkte Probendurchsatz. Auch Partikeleigenschaften wie Anzahl und mittlerer Durchmesser der Lipoprotein-Partikel können mit der LipoDens®-Methode nicht bestimmt werden. Der Befundbericht beinhaltet neben den Werten (Triglyceride, Gesamt-Cholesterin, LDL-Chol, HDL-Chol, LDL/HDL-Quotient, VLDL-Chol, IDL-Chol, LDL-1-Chol, LDL-2-Chol, LDL-3-Chol, HDL-2-Chol, HDL-3-Chol, Lp(a)-Chol, sdLDL-Anteil, Non-HDL-Cholesterin, Triglycerid/HDL-Quotient) eine ausführliche Interpretation mit grafischer Darstellung.

LipoComplete®

Die NMR-Spektroskopie (LipoComplete®) ist ein rein physikalisches Verfahren, bei dem aus den NMR-Signalen der terminalen Methylgruppen von Lipiden die Partikelkonzentration, der Partikeldurchmesser und die Lipidkonzentrationen (Triglyceride, Cholesterin) der Lipoprotein-Partikel mittels patentierter mathematischer Verfahren berechnet werden. NMR-spektroskopische Messungen sind hoch präzise und damit auch langfristig hoch reproduzierbar. Sie erfordern einen geringen personellen Aufwand und können vollautomatisiert in großen Serienlängen (mehrere hundert Proben am Tag) abgearbeitet werden. Der Befundbericht enthält folgende Messwerte: Triglyceride, Gesamt-Cholesterin, LDL-Cholesterin und HDL-Cholesterin, die auf die LipoDens®-Methode rückführbaren Cholesterin-Konzentrationen in den Lipoprotein-Subklassen (VLDL, IDL, LDL-1, LDL-2, LDL-3, sdLDL, HDL-2, HDL-3), die Partikelkonzentrationen der Lipoprotein-Subklassen (VLDL, LDL, große LDL, kleine LDL, HDL, große HDL, kleine HDL) und die mittleren Partikeldurchmesser der Lipoproteine (VLDL, LDL, HDL). Außerdem gibt es eine grafische Darstellung der Ergebnisse mit Befundinterpretation.

Indikationen

- Erweiterte Risikostratifizierung bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, Metabolischem Syndrom, Insulinresistenz (z. B. PCOS), chronischer Niereninsuffizienz
- Erweiterte Risikostratifizierung bei erhöhten Triglyceridwerten mit gleichzeitig vermindertem HDL- und normalem oder nur moderat erhöhtem LDL-Cholesterin
- Weiterführende Abklärung bei Patienten mit erhöhtem familiären Herzinfarktrisiko und eher unauffälligem quantitativen Lipidstatus (v. a. LDL-Cholesterin)
- Missverhältnis zwischen dem quantitativen Lipidstatus und ergänzender Bildgebung (z. B. Sonografie der Arteria carotis mit Messung der Intima-Media-Dicke oder koronare Kalkscore-Messung)
- Therapie-Kontrolle, Kontrolle von Lebensstilmaßnahmen

Befundbewertung

Der Befund beinhaltet neben den einzelnen, oben erwähnten Messwerten je nach Methode auch eine grafische Darstellung der Ergebnisse. Je nach anamnestischen Angaben und Vorbefunden wird eine Einschätzung des individuellen kardiovaskulären Risikos einschließlich Empfehlung für ggf. zusätzliche Diagnostik und Therapie gegeben.

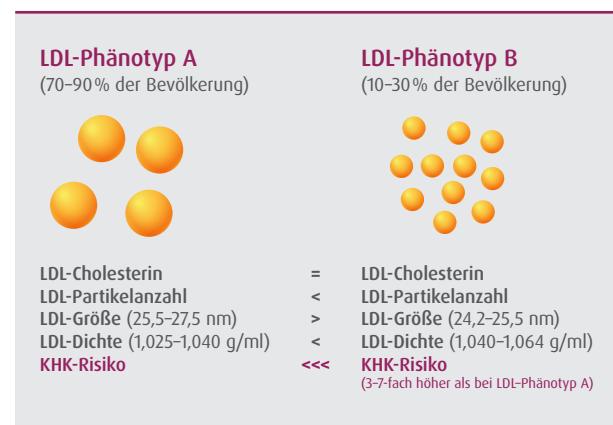


Abb. 2. Die gleiche LDL-Cholesterinmenge kann in wenigen großen, leichten LDL-Partikeln (links) oder in vielen kleinen, dichten LDL-Partikeln (rechts) verpackt sein, was signifikante Auswirkungen auf die Atherogenität hat.

Präanalytik

Für die Analytik werden 2 ml Serum nach 12-stündiger Nahrungs- und Alkoholkarenz benötigt. Bei der LipoPrint®-Methode ist es darüber hinaus möglich, 2 ml EDTA-Plasma ebenfalls nach 12-stündiger

Nahrungs- und Alkoholkarenz zu verwenden. Die Probe sollte bis zur Analytik bei 4–10 °C gekühlt werden. Die maximale Transportdauer beträgt gekühlt drei Tage. Bei längerer Lagerung ist eine kryogene Lagerung (–80 °C) notwendig.

Hinweise zu Präanalytik und Abrechnung

Probenmaterial	2 ml Serum gekühlt, nüchtern (LipoDens®, LipoPrint®, LipoComplete®) 2 ml EDTA-Plasma gekühlt, nüchtern (LipoPrint®)					
Probentransport	Kurierdienst					
LipoDens®	EBM		GOÄ	1-fach	1,15-fach	IGeL
	32060		8 x 3562			
	32061		3563			
	32062		3564			
	32063	€ 72,40	8 x 3565	€ 81,58	€ 93,82	€ 81,58
LipoPrint®	7 x 32246		3727			
LipoComplete®	–	–	3727/3729	€ 57,13	€ 65,69	€ 57,13
	–	–	–	–	–	€ 65,00

Abkürzungen

Chol	Cholesterin
HDL	High Density Lipoprotein (Lipoproteine mit hoher Dichte)
IDL	Intermediate Density Lipoprotein (Lipoproteine mit mittlerer Dichte)
KHK	Koronoare Herzkrankheit
LDL	Low Density Lipoprotein (Lipoproteine mit niedriger Dichte)
NMR	Nuclear-magnetic Resonance (Kernspinresonanz)
sdLDL	small, dense LDL (kleine, dichte LDL)
VLDL	Very Low Density Lipoprotein (Lipoproteine mit sehr niedriger Dichte)

Autor:

PD Dr. med. Dietmar Plonné, Limbach Gruppe

Literatur:

1. Ai M, Otokozawa S, Asztalos BF et al.: Small dense LDL cholesterol and coronary heart disease: results from the Framingham Offspring Study. *Clin Chem* 2010; 56: 967–96.
 2. Brown DJ: New guidelines for low-density lipoprotein levels from the National Cholesterol Education Program (NCEP): a 2004 update. *Prog Cardiovasc Nurs* 2004; 19: 165.
 3. Davies IG, Graham JM, Griffin BA: Rapid separation of LDL subclasses by iodixanol gradient ultracentrifugation. *Clin Chem* 2003; 49: 1865–72.
 4. Diffenderfer MR, Schaefer EJ: The composition and metabolism of large and small LDL. *Curr Opin Lipidol* 2014; 25: 221–6.
 5. Gentile M, Panico S, Mattiello A et al.: Association between small dense LDL and early atherosclerosis in a sample of menopausal women. *Clin Chim Acta* 2013; 426: 1–5.
 6. Gerber PA, Berneis K: Regulation of low-density lipoprotein subfractions by carbohydrates. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2012; 15: 381–5.
 7. Graham JM, Griffin BA, Davies IG et al.: Fractionation of lipoprotein subclasses in self-generated gradients of iodixanol. *Methods Mol Med* 2001; 52: 51–9.
 8. Graham JM, Higgins JA, Gillott T et al.: A novel method for the rapid separation of plasma lipoproteins using self-generating gradients of iodixanol. *Atherosclerosis* 1996; 124: 125–35.
 9. Hirayama S, Miida T: Small dense LDL: An emerging risk factor for cardiovascular disease. *Clin Chim Acta* 2012; 414: 215–24.
 10. Hoogeveen RC, Gaubatz JW, Sun W et al.: Small dense low-density lipoprotein-cholesterol concentrations predict risk for coronary heart disease: the Atherosclerosis Risk In Communities (ARIC) study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2014; 34: 1069–77.
 11. Krauss RM: Lipoprotein subfractions and cardiovascular disease risk. *Curr Opin Lipidol* 2010; 21: 305–11.
 12. Nikolic D, Katsiki N, Montaldo G et al.: Lipoprotein subfractions in metabolic syndrome and obesity: clinical significance and therapeutic approaches. *Nutrients* 2013; 5: 928–48.
 13. Oravec S, Dukat A, Gavornik P et al.: Atherogenic Versus Non-atherogenic Lipoprotein Profiles in Healthy Individuals. Is There a Need to Change Our Approach to Diagnosing Dyslipidemia? *Curr Med Chem* 2014; 21: 2892–901.
 14. 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) final report. *Circulation* 2002; 106: 3143–421.
 15. Wu L, Parhofer KG: Diabetic dyslipidemia. *Metabolism* 2014; 63: 1469–79.
- Stand: März/2017

Ihr Ansprechpartner:
PD Dr. med. Dietmar Plonné
Ärztliche Leitung Lipiddiagnostik
E-Mail: info@labor-gaertner.de
Telefon: +49 751 502-0