

Übersichten

Studien zur Charakterisierung und zum Stoffwechsel des Lipoprotein-X (LP-X), des abnormen Lipoproteins der Cholestase*

Dietrich Seidel

Klinisch-Chemisches Labor der Medizinischen Universitäts-Klinik (Ludolf-Krehl-Klinik) Heidelberg

Studies on the Structure and Metabolism of Lipoprotein-X (LP-X), the Abnormal Plasmalipoprotein in Cholestasis

Summary. Recent results regarding the pathophysiology of hyperlipoproteinemia in cholestasis are reported. The isolation of an abnormal lipoprotein (Lipoprotein-X; LP-X) from the plasma of cholestatic patients was achieved by a combination of various physico-chemical techniques. Most of the plasmacholesterol in these patients is transported in form of this abnormal lipoprotein which is very rich in phospholipids and unesterified cholesterol. LP-X represents a vesicle with a mean diameter of 700 Å. Albumin takes part as a structural protein of the particle. Besides albumin, which seems to be located in an internal water compartment or to be covered with lipids, Apo-C and Apo-D are present as surface proteins. The lack of Apo-B in LP-X, the major apoprotein of normal low density lipoproteins, seems to be the reason for a disturbed endogenous feedback mechanism of hepatic cholesterol synthesis, which is strongly increased in cholestasis. The high specificity and power of the LP-X test as clinical-chemical parameter to demonstrate or exclude cholestasis finds its explanation in our knowledge about the origin of this abnormal lipoprotein in cholestasis. LP-X is formed when a lipoprotein normally excreted with the bile refluxes into the plasma stream to convert into LP-X. This formation depends only on certain physico-chemical requirements and is independent of an energy-providing or enzymatically regulated process. The biological half-life of LP-X is similar to that of normal plasmalipoproteins. However, enzymes of postheparin plasma as well as the lecithin:cholesterol acyltransferase do not seem to play a major role in the catabolism of lipoprotein-X, but only change some of the physico-chemical characteristics of this vesicle.

Key words: Cholestasis – Plasmalipids – Plasmalipoproteins – Apoproteins – Structure of Plasmalipoproteins – Lipoprotein-X – Bile lipids – Bile lipoprotein – Bile salts – Free Fatty Acids – Lecithin:Cholesterol Acyltransferase.

Zusammenfassung. In einer Übersicht werden neue Befunde zur Pathophysiologie der Hypercholesterinämie bei Cholestase dargestellt. Durch die Kombination verschiedener physikochemischer Trennverfahren ist es gelungen, aus dem Plasma von Patienten mit cholestaticem Ikterus ein abnormes Lipoprotein (Lipoprotein-X; LP-X) zu isolieren und quantitativ zu bestimmen. Hierdurch gelang der Nachweis, daß der größte Teil des Plasmacholesterins bei der Cholestase in Form dieses phospholipid- und cholesterinreichen Partikels transportiert wird. Es handelt sich bei dem LP-X um ein Vesikel von durchschnittlich 700 Å Durchmesser, an dessen Aufbau dem Albumin als Strukturprotein eine besondere Bedeutung zukommt. Neben Albumin, das sich wahrscheinlich in einem inneren Wasserkompartiment des Partikels befindet, zeigen sich Apo-C und Apo-D als Oberflächenproteine des Lipoproteins. Das Fehlen von Apo-B am LP-X, dem hauptsächlichen Apoprotein der low density Lipoproteinfraktion, verhindert die Auslösung des endogenen Feedbacks der Cholesterinsynthese und kann daher als Teilursache der gesteigerten hepatischen Cholesterinsynthese unter der Cholestase in Frage kommen. Die hohe Spezifität und Sensitivität des LP-X-Nachweises im Plasma als klinisch-chemischer Parameter zum Anzeigen einer Cholestase erklärt sich durch die nunmehr aufgedeckten Entstehungsmechanismen des LP-X. Das LP-X bildet sich im Plasma durch den Reflux eines, normalerweise mit der Galle ausgeschiedenen, Lipoproteinkomplexes. Seine Bildung ist unabhängig von energieliefernden oder enzymatisch gesteuerten Prozessen. Die biologische Halbwertszeit des LP-X entspricht der normaler Plasmalipoproteine. Die lipolytischen Enzyme des Postheparinplasmas, ebenso wie die Lecithin:

* Preisarbeit Heinrich Wieland Preis 1976

Cholesterin-Acyltransferase scheinen jedoch im Abbau dieses Lipoproteins eine untergeordnete Rolle zu spielen und lediglich einige physikochemische Eigenschaften dieses Vesikels zu verändern.

Schlüsselwörter: Cholestase – Plasmalipide – Plasmalipoproteine – Apoproteine – Struktur der Plasmalipoproteine – Lipoprotein-X – Gallenlipide – Gallenlipoprotein – Gallensalze – Freie Fettsäuren – Lecithin:Cholesterin-Acyltransferase.

I. Einleitung

Aufgrund zahlreicher experimenteller Untersuchungen, die bei verschiedenen Tierspezies, an isolierten Organen, an Zellen und an Zellorganellen vorgenommen wurden, ist gesichert, daß die Leber neben der Darmwand das hauptsächlichste Synthesorgan der Plasmalipide darstellt. Darüber hinaus wirkt die Leber direkt sowie indirekt regulierend auf den Katabolismus der im Plasma zirkulierenden Lipide, indem sie diese z.T. selbst ab- oder umbaut, ausscheidet und zusätzlich im Plasmapool wirksame lipolytische Enzyme bildet. Es ist daher gut verständlich und auch seit langem bekannt, daß Störungen der Leberfunktion häufig mit abnormen Plasmalipidkonzentrationen einhergehen. Lange Zeit stand die isolierte Lipidanalytik des Plasmas im Mittelpunkt der Betrachtungen und Bewertung der Fettstoffwechselstörungen, wie sie sekundär bei Lebererkrankungen auftreten können. Hierbei wurden in erster Linie Bestimmungen der Gesamtlipide, des Cholesterins, der Triglyceride und der Phospholipide vorgenommen. Die beschränkte Aussagekraft solcher Untersuchungen wurde jedoch mit der wachsenden Kenntnis des Fettstoffwechsels und seiner möglichen Störungen deutlich. So haben die Ergebnisse der Lipidforschung der letzten Jahre gezeigt, daß vielmehr den Plasmalipoproteinen die zentrale Stellung bei der Beurteilung und in der Suche nach den pathophysiologischen Zusammenhängen des Lipidstoffwechsels bei Leberstörungen zukommt. Es sind dies jene konjugierten Protein-Lipid-Komplexe, in deren Form alle Lipide des Plasmas – mit Ausnahme der freien Fettsäuren, die vorwiegend an Albumin gebunden sind – transportiert werden. Gerade bei den verschiedenen Formen von Hyperlipoproteinämie, wie sie im Verlauf von Lebererkrankungen auftreten, konnte in den letzten Jahren der Nachweis erbracht werden, daß sich die gefundenen abnormen Plasmalipidkonzentrationen häufig, wenn nicht insgesamt, in dem Auftreten abnorm strukturierter Lipoproteinkomplexe widerspiegeln (s. Übersicht [1]).

Im Rahmen dieser Abhandlung soll auf die Pathophysiologie der, dem Arzt am längsten bekannten, sekundären Hyperlipoproteinämie näher eingegangen werden, auf die Hyperlipoproteinämie bei Cholestase. Zum besseren Verständnis des Folgenden erscheint eine kurze, auf das Wesentliche beschränkte Zusammenfassung der Charakteristik normaler Plasmalipoproteine sinnvoll.

II. Charakteristik der normalen Plasmalipoproteine

(s. Abb. 1)

Die physiko-chemischen und chemischen Eigenschaften der Plasmalipoproteine sind festgelegt durch die Art und die Konzentration ihrer einzelnen Protein- und Lipidkomponenten. Da die Lipide eine wesentlich niedrigere Dichte besitzen ($< 0,9$ g/ml) als die Proteine (1,3–1,35 g/ml), zeichnen sich alle Plasmalipoproteine durch eine – im Vergleich zu den Plasmaproteinen – niedrigere Dichte aus. Das Plasmalipoproteinspektrum erstreckt sich über den Dichtebereich von 0,9–1,21 g/ml. Die Plasmalipoproteine mit der niedrigsten Dichte bestehen vorwiegend aus Triglyceriden und sind die größten Lipoproteine, während mit steigender Dichte ihre Größe ab- und ihr Proteingehalt zunimmt. Sie alle setzen sich jedoch aus den 4 Komponenten Protein, Cholesterin, Triglyceriden und Phospholipiden zusammen.

Untersucht man das Plasmalipoproteinspektrum in der analytischen Ultrazentrifuge, so zeigen sich vier charakteristische Konzentrationsmaxima und Konzentrationsminima. Die Konzentrationsminima gelten als Grenzdichten zur Fraktionierung der Plasmalipoproteine nach Dichteklassen mit Hilfe der präparativen Ultrazentrifuge. Mit ihr lassen sich die Plasmalipoproteine in drei Hauptdichteklassen fraktionieren:

1. Die VLDL (very low density lipoproteins) im Dichtebereich von 0,9–1,006 g/ml,

2. die LDL (low density lipoproteins) im Dichtebereich von 1,006–1,063 g/ml und

3. die HDL (high density lipoproteins) im Dichtebereich von 1,063–1,21 g/ml.

Bedingt durch die qualitativen sowie quantitativen Unterschiede in ihrem Proteinanteil lassen sich diese Dichtefractionen der Plasmalipoproteine elektrophoretisch in vier Banden auftrennen, denen – entsprechend der Trennmethode – eine eigene Nomenklatur gegeben wurde:

1. Die nicht wandernden Chylomikronen;
2. die mit den β -Globulinen wandernden β -Lipoproteine, die den LDL entsprechen;
3. die mit den α_2 -Globulinen wandernden prä- β -Lipoproteine, die den VLDL entsprechen;

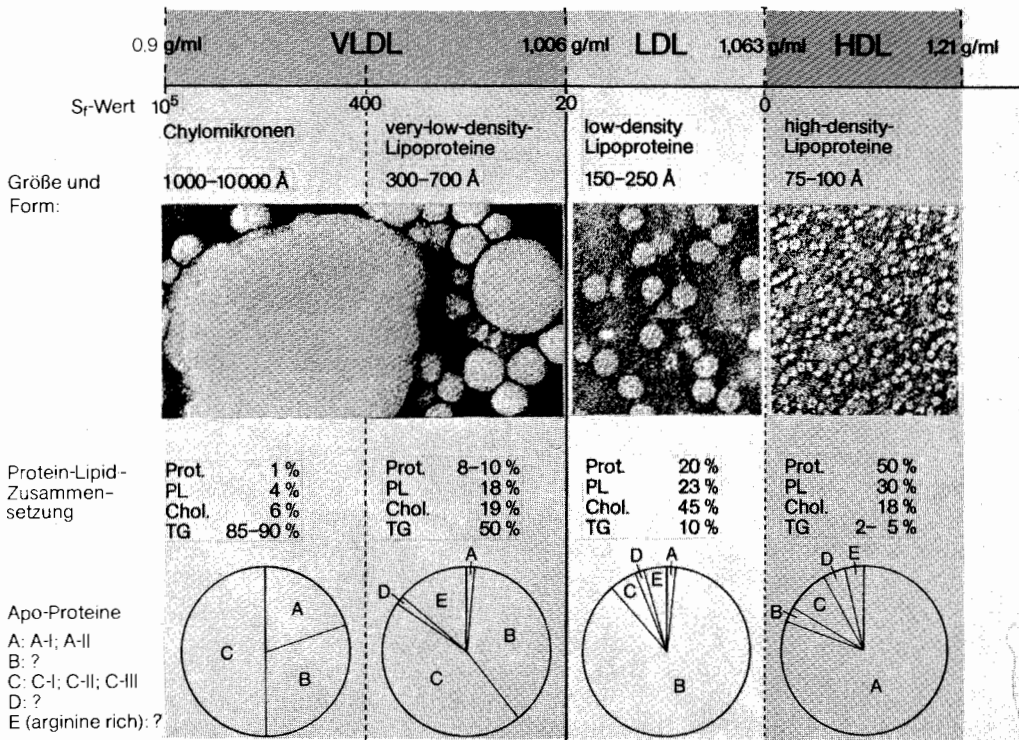


Abb. 1. Charakteristik der normalen Plasmalipoproteine

4. die mit den α_1 -Globulinen wandernden und den HDL entsprechenden α -Lipoproteine.

Chylomikronen

Die Chylomikronen sind mit einem Durchmesser, der bis zu 10000 Å reichen kann, die größten Lipoproteine. Sie werden in der Mukosa der Darmwand synthetisiert und bestehen zu 90% aus exogenen Glyceriden, als deren Vehikel sie betrachtet werden können. Über den ductus thoracicus gelangen sie ins Plasma, wo sie dann durch Lipoproteinlipasen zu Plasmalipoproteinen höherer Dichte abgebaut werden.

Prä- β -Lipoproteine

Ähnlich den Chylomikronen bestehen die VLDL oder die prä- β -Lipoproteine zum überwiegenden Anteil aus Triglyceriden, die jedoch endogener Herkunft sind. Sie werden vorwiegend im Golgi-Apparat der Leberzellen zusammengesetzt, im Plasmapool selbst zu LDL und HDL abgebaut und erreichen eine Größe von 300-700 Å.

β -Lipoproteine

Die LDL- oder die β -Lipoproteinfraktion besteht bis zu 50% aus Cholesterin, das zu $\frac{2}{3}$ mit Fettsäuren verestert ist. Die Partikel haben eine Größe von 150-250 Å. Durch die Wirkung der Lipoproteinlipasen werden sie im Plasma aus VLDL gebildet; der Ort und Weg ihres Abbaus ist noch nicht genau geklärt.

α -Lipoproteine

Die HDL oder α -Lipoproteine zeigen den geringsten Lipidanteil und bestehen zu 50% aus Protein. Sie besitzen nur noch einen Durchmesser von 75-100 Å und werden z.T. in der Leber gebildet, entstehen aber auch durch Abbau von VLDL. Obgleich Phospholipide den Hauptteil der Lipide der HDL ausmachen, kommt dieser Fraktion eine besondere Bedeutung im Cholesterin-Stoffwechsel zu. Sie stellt wahrscheinlich das Lipoproteinsubstrat der Lecithin:Cholesterin-Acyl-Transferase dar. Diese auch als LCAT bekannte Transferase fungiert nicht nur als Schlüsselenzym der Veresterung des Plasmacholesterins, sondern wirkt darüber hinaus indirekt regulierend auf die Lipidzusammensetzung von Zellmembranen, besonders der Erythrozytenmembran.

Apoproteine

Die hier beschriebenen und auf Dichteklassen oder elektrophoretischen Banden beruhenden Einteilungssysteme der Plasmalipoproteine sind jedoch nur dann gerechtfertigt, wenn es sich um normale Plasmalipoproteine handelt und wenn Nüchternplasma analysiert wird. Wir wissen heute, daß diese Einteilung der Plasmalipoproteine im Hinblick auf die Verteilung ihrer Proteinanteile, der sog. Apoproteine, zu sehr heterogenen Fraktionen führt. Man kennt heute eine Reihe verschiedener Trägerproteine der Plasmalipide, die sich unterschiedlich über das Lipoproteinspektrum verteilen und sich in ihren biologischen Funktionen, in ihren immunologischen Eigenschaften, ihrem Molekulargewicht, ihrer Aminosäuresequenz und in ihrem Kohlenhydratanteil voneinander unterscheiden. Näher charakterisiert sind bis heute das Apoprotein A (Apo-A), das Apoprotein B (Apo-B) und das Apoprotein C (Apo-C). Als zusätzliche Apoproteine, die allerdings in geringer Konzentration im Plasma vorkommen, sind bekannt das Apoprotein D (Apo-D), das „argininreiche“ Apoprotein oder Apo-E, sowie das LP_(a)-Apoprotein. Die Apoproteine A und C lassen sich durch chromatographische sowie elektrophoretische Verfahren weiter in definierte Untereinheiten auftrennen. Bis heute sind sicherlich nur die wenigsten der biologischen Funktionen der Apoproteine bekannt. Neben ihrer Rolle bei der Aufrechterhaltung der Struktur, Zusammensetzung und Stabilität der einzelnen Plasmalipoproteine, aktivieren oder hemmen die Apo-C Proteine in unterschiedlicher Weise die verschiedenen Lipoproteinlipasen. Möglicherweise spielen das Apo-A als auch das Apo-D bei der Reaktion der Lecithin:Cholesterin-Acyltransferase eine Rolle, während das Apo-B wahrscheinlich, ebenso wie das Apo-E, als Marker für Zelloberflächenrezeptoren Bedeutung erhalten, die den Abbau der Lipoproteine regulieren. Wie groß insgesamt der Einfluß der Apoproteine auf die Regelmechanismen zur Aufrechterhaltung normaler Plasmalipidwerte ist, hat sich deutlich durch die Charakterisierung abnormer Plasmalipoproteine, vor allen Dingen bei sekundären Hyperlipoproteinämien, gezeigt. Die Verhältnisse, so wie sie sich bei bestimmten Störungen der Leberfunktion ergeben können, sind Gegenstand dieser Studie.

III. Plasmalipide bei Verschlüßikterus

Flint [2] beschrieb 1862 als Erster eine Abweichung der Cholesterinwerte im Plasma von Patienten mit Verschlüßikterus. Seither wurden zahlreiche Untersuchungen von mehreren Arbeitsgruppen angestellt, um

die Verschiebung der einzelnen Plasmalipide bei Patienten mit Leberstörung zu charakterisieren [3–6]. Eine Erhöhung des Gesamtcholesterins wird bedingt durch die Erhöhung des freien Cholesterins. Dies hat ein Anwachsen des Verhältnisses freies Cholesterin/Gesamtcholesterin zur Folge, das so lange bestehen bleibt, solange die Leber in ihrer Funktion nicht weiter eingeschränkt ist, oder solange die Aktivität der Lecithin:Cholesterin-Acyltransferase normal ist. Daß es beim Verschlüßikterus zu keinem erhöhten Cholesteringehalt der Leber kommt, ist heute unbestritten. Hingegen weist die Mehrzahl der vorliegenden Untersuchungen auf eine gesteigerte Cholesterinsynthese in der Leber unter der Cholestase hin [7, 8]. Gleiches gilt für die Cholesterinsynthese in der Darmwand beim Verschlüßikterus [9]. Während die Plasmatriglyceridwerte keine eindeutigen Normabweichungen bei der Cholestase zeigen, kommt es sehr häufig zu einer Steigerung der Phospholipidkonzentration im Plasma mit einem Absinken des Verhältnisses Gesamtcholesterin/Phospholipide, was ein stärkeres Ansteigen der Phospholipide gegenüber dem Cholesterin anzeigt. Zugleich ändert sich die Zusammensetzung der Phospholipide, indem das Lecithin relativ und absolut am stärksten zunimmt. Da eine gesteigerte Phospholipidsynthese beim Verschlüßikterus in der Leber bisher nicht nachgewiesen werden konnte, vermutet man als Ursache der Hyperlipoproteinämie eine einfache Retention von Gallenlipiden [10]. Ahrens u. Mitarb. [11] sowie Friedmann u. Mitarb. [12] diskutierten als erste, daß speziell die Phospholipiderhöhung im Plasma verantwortlich für die Hyperlipoproteinämie bei der Cholestase sein könnte. Es wurde angenommen, daß die Phospholipide die Stabilität der Plasmalipoproteinkomplexe erhöhen und damit die Bindungskapazität für Cholesterin steigern.

Kunkel u. Mitarb. [13, 14] fanden später durch Verwendung der Zonen-Elektrophorese eine Korrelation zwischen dem Anstieg der Gesamtlipide und der Konzentration der β -Globuline. Gofman [15] beschrieb unter Verwendung der analytischen Ultrazentrifuge als erster einen charakteristischen Konzentrationsanstieg der low density Lipoproteine (S_f 0–10 und 10–20; $d=1,006–1,063$ g/ml) und mehrere andere Gruppen [16–19] zusätzlich einen Konzentrationsabfall der high density Lipoproteine ($d=1,063–1,21$ g/ml) im Plasma von Patienten mit Verschlüßikterus. Russ u. Mitarb. [20] fanden hingegen, daß der charakteristische Anstieg an freiem Cholesterin und Phospholipiden durch ein Lipoprotein mit abnormer Protein-Lipid-Zusammensetzung in der Cohn-Fraktion IV–VI bedingt ist, in der normalerweise die high density Lipoproteine oder α -Lipoproteine enthalten sind. Dieselben Autoren konnten diesen scheinbaren Widerspruch wenigstens teilweise

Dichteklasse : d 1.035 - 1.063 g/ml
 Sf-Wert : 14 - 16

Protein-Lipid-Zusammensetzung:

Protein	6 %
Cholesterin	25 %
freies Cholesterin	23 %
Cholesterinester	2 %
Triglyzeride	3 %
Phospholipide	66 %

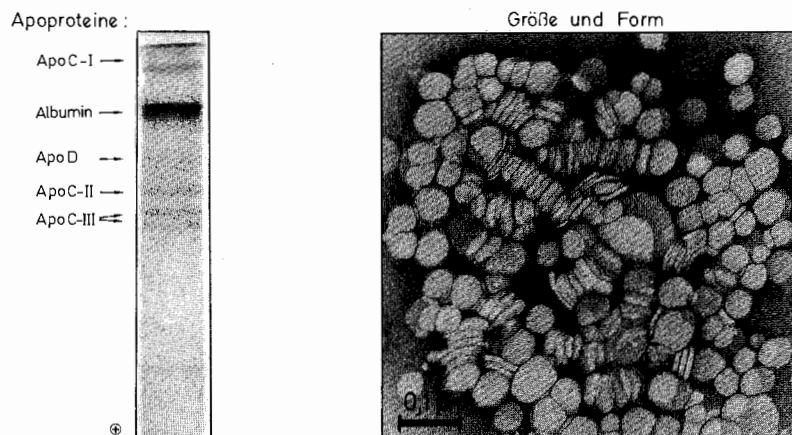


Abb. 2. Charakteristik des Lipoprotein-X

aufklären, indem sie zeigten, daß die in der Cohn-Fraktion IV – VI enthaltenen Lipoproteine bei Cholestase z.T. eine Dichte von $d=1,006-1,063$ g/ml besitzen, und damit der Dichteklasse der normalen β -Lipoproteine (LDL) angehören, aber immunologisch nicht mit einem Antiserum reagieren, das gegen β -Lipoproteine gerichtet ist. Ebenso beschrieb Switzer [21] bei Patienten mit Verschlußikterus in der LDL-Fraktion ein Lipoprotein, das nicht mit Anti- β -Lipoproteinserum reagierte und sich durch einen – für ein low density Lipoprotein – ungewöhnlich niedrigen Protein-, aber hohen Phospholipid- sowie freien Cholesteringehalt auszeichnete. Wegen der Tatsache, daß die high density Lipoproteine oder α -Lipoproteine den prozentual höchsten Phospholipidgehalt aufweisen, und durch den immunologischen Nachweis von LP-A – als Hauptbestandteil der high density Lipoproteine – [22] in der LDL-Fraktion von Patienten mit Verschlußikterus wurde vermutet [23], daß der Konzentrationsanstieg der LDL-Fraktion bei Cholestase durch eine Verschiebung des LP-A aus der HDL- in die LDL-Fraktion bedingt sein könnte. Ähnlich berichteten Burstein und Caroli [24] über ein β -Lipoprotein im Plasma von Patienten mit Verschlußikterus, das nach totaler Delipidierung in der Papier-electrophorese eine α_1 -Globulin-Mobilität zeigte. Da das Apo-B unter normalen Bedingungen unlöslich ist, nicht aber das Apo-A, kamen die Autoren auch zu dem Schluß, daß es sich bei dem abnormen low-density Lipoprotein um eine besondere Form eines α -Lipoproteins handeln könnte. Diese Vorstellung konnte – wie sich später zeigte – durch unsere Untersu-

chungen widerlegt werden. Sie war theoretisch denkbar, wenn man annimmt, daß ein LP-A aus der high density Lipoprotein-Fraktion durch zusätzliche Lipidanlagerung – besonders von Cholesterin – seine Dichte erniedrigt und so zu einem low density Lipoprotein wird. Um die zu dieser Zeit widersprüchlichen Befunde zu klären und das Plasmalipoproteinmuster, wie es sich bei der Cholestase zeigt, analysieren zu können, war eine Methode gefordert, die eine Fraktionierung der angereicherten LDL-Fraktion in Plasmalipoproteinklassen mit gleichen Apoproteinen ermöglicht. Die erste komplette Fraktionierung der LDL-Fraktion von Patienten mit Cholestase und die Reindarstellung des Lipoprotein-X (LP-X) gelang uns durch die Kombination von Ultrazentrifugation, Cohnfraktionierung und Polyanionenpräzipitation [25, 26].

IV. Charakteristik des Lipoprotein-X

Gestützt auf eingehende chemische, physikochemische und immunologische Kriterien finden sich in der LDL-Fraktion von Patienten mit histologisch und/oder anatomisch gesicherter Cholestase drei voneinander verschiedene Lipoproteine:

1. LP-A mit Apo-A als Apolipoprotein,
2. LP-B mit Apo-B als Apolipoprotein und
3. ein Lipoprotein mit einem Proteinanteil, der verschieden von Apo-A und Apo-B ist.

Dieses Lipoprotein wurde als LP-X bezeichnet [25, 26] (vgl. Abb. 2). Die Protein-Lipid-Zusammensetzung

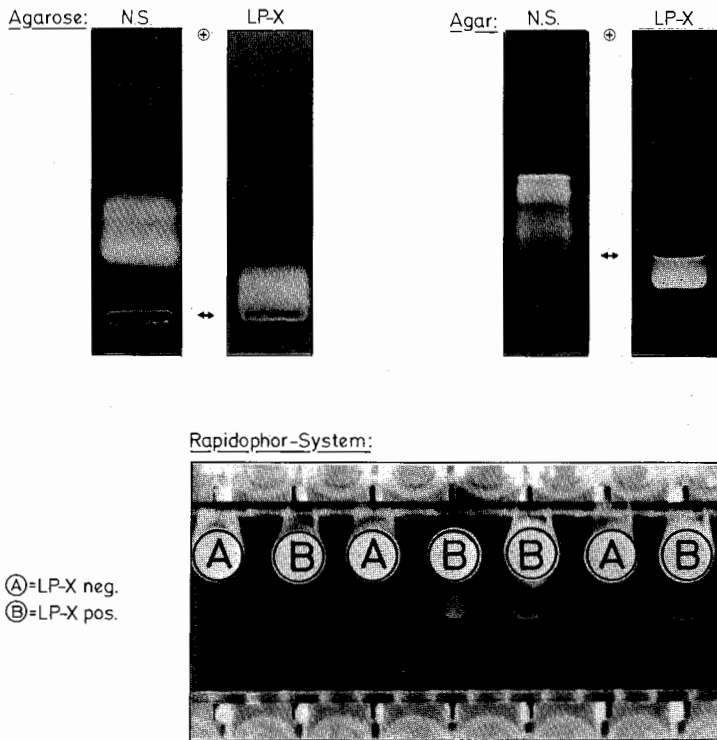


Abb. 3. Vergleich des elektrophoretischen Verhaltens normaler Plasmalipoproteine zu dem LP-X. Die Elektrophorese wurde in 1% Agarose-, bzw. in 1% Agar-Gel bei pH 8,6 ausgeführt. Die Lipoproteinbanden wurden durch Polyanionenlösungen zur Darstellung gebracht. Das Rapidophorsystem zum Nachweis des LP-X stammt von der Firma Immuno GmbH, D-6900 Heidelberg, Postfach 103080

zung des LP-X ist nahezu konstant und offensichtlich unabhängig von der absoluten Konzentration des LP-X im Plasma der Patienten. Sie zeichnet sich durch einen hohen Gehalt an Phospholipiden und freiem Cholesterin aus sowie durch einen – für ein low density Lipoprotein – sehr niedrigen Gehalt an Protein. Dies hat das ungewöhnlich hohe Phospholipid-Proteinverhältnis von 11 zur Folge. Die Lipidanalyse der zwei Haupt-low density Lipoproteine des LP-B und des LP-X zeigte, daß die abnormen Lipidwerte der LDL-Fraktion und somit auch des Plasmas der Patienten mit Cholestase vorwiegend durch die abnorme Protein-Lipid-Zusammensetzung des LP-X bedingt sind [25]. In Untersuchungen mit der analytischen Ultrazentrifuge wurden für das LP-X S_f -Werte zwischen 13 und 17 angegeben [27].

Das elektrophoretische Verhalten von LP-X ist nicht einheitlich in allen Medien (s. Abb. 3). Während es auf Papier, in Stärke-Gel, in Agarose und Polyacrylamid eine Mobilität zeigt, die der normaler β -Lipoproteine ähnlich ist, wandert es in Agar-Gel zur Kathode [25]; ein Phänomen, das sich durch die Größe und Ladung der Partikel sowie durch die starke Elektroendosenose in Agar ergibt. Hierin unterscheidet es sich grundlegend von allen anderen bekannten Lipoproteinen. Daß es sich bei dem LP-X jedoch nicht um ein γ -Globulin handeln kann, beweist seine Dichte, sein Lipidanteil und die Tatsache, daß es immunologisch nicht mit Anti- γ -Globulinserum rea-

giert. Ebenso wenig reagiert LP-X mit Antihumanserum, wenn dies mit Nüchternplasma gesunder Kontrollpersonen hergestellt ist.

Obgleich das isolierte und rein dargestellte LP-X in intakter Form nur mit Anti-LP-X-Serum immunologisch reagiert, findet sich nach partieller Delipidation mit n-Heptan zusätzlich Albumin neben dem spezifischen Proteinanteil. Die Trennung des Albumins vom spezifischen Proteinanteil des LP-X ist mit Hilfe der Ultrazentrifugation nach Delipidierung bei einer Dichte von $d=1,21$ g/ml möglich [26]. Es ist bemerkenswert, daß dem Albumin konstant 40% des Proteins am LP-X zukommt und seine antigene Determinante durch Lipide im intakten Partikel blockiert zu sein scheint, während der verbleibende Rest an Apo-X wenigstens teilweise als Oberflächenprotein fungiert [26, 28]. Bisher ist kein anderes Lipoprotein beschrieben worden mit Ausnahme des LP_(a), an dem das Albumin einen wesentlichen Anteil ausmacht. Der konstante Anteil des Albumins am LP-X spricht – wie später dargestellt – für eine bedeutende Rolle dieses Proteins hinsichtlich der Struktur und des Stoffwechsels des Lipoprotein-X.

Wird das partiell delipidierte und albuminfreie LP-X mit einem Äthanolgemisch total delipidiert, so erhält man ein wasserlösliches Apoprotein-X, dessen elektrophoretische Mobilität gegenüber dem LP-X verändert ist. Das Apo-X enthält weniger als 0,1% Phospholipide und unterscheidet sich sowohl in

seinen terminalen Aminosäuren als auch in seiner Aminosäurezusammensetzung von Apo-A und Apo-B. Kürzlich ist der Nachweis erbracht worden, daß es sich bei dem spezifischen Apo-X um Apo-C und Apo-D handelt. Alle drei dem Apo-C zugehörigen Peptidketten konnten im Apo-X identifiziert werden [26], (vgl. auch Abb. 2).

Nicht nur in seiner Protein-Lipid-Zusammensetzung unterscheidet sich das Lipoprotein-X in auffälliger Weise von normalen Lipoproteinen, sondern auch in seiner Struktur und Morphologie. Es erscheint im Elektronenmikroskop nach Negativkontrastdarstellung als runder Partikel mit einem mittleren Durchmesser von 500–700 Å und einer starken Tendenz zur Aggregation und Scheibenbildung [28, 29]. Ähnliche lamelläre Strukturen wurden bei künstlichen Phospholipid-Protein- und Phospholipid-Apoprotein-komplexen beschrieben. Auf der anderen Seite wurde gezeigt, daß der hohe Gehalt an freiem Cholesterin als Ursache für diese Tendenz zur Aggregation in Frage kommt.

Die Phospholipide des LP-X lassen sich durch Einwirkung von Phospholipase A₂ leicht hydrolysieren, was darauf hinweist, daß ihre polaren Kopfgruppen zu der Außenseite des Partikels gerichtet sind. Da sich durch diese Behandlung die Struktur des LP-X allerdings in auffälliger Weise ändert [28], ist es auch denkbar, daß einige Phospholipide, die im nativen Partikel verborgen liegen, nun für das Enzym zugänglich werden.

Kleinwinkelröntgenstrahl-Streuungsuntersuchungen lassen vermuten, daß es sich bei dem LP-X um ein Vesikel handelt, bei dem eine Phospholipid- und Cholesterinbilayerstruktur ein internes und externes Wasserkompartiment voneinander trennt. Die Zugabe von Ammoniummolybdat zerstört den Partikel, was ebenso wie der immunologische Nachweis von Apoproteinen im nativen Partikel darauf schließen läßt, daß sich an seiner Oberfläche Proteine befinden. Die ausgiebige chemische Modifikation des LP-X Proteinanteils durch Succinylanhydrit führt allerdings zu keiner Veränderung der Gesamtstruktur des Partikels [30]. Dies, obgleich eine durchschnittliche Succinylierungsrate von etwa 80% der gesamten reaktiven Gruppen des Proteins zu auffälligen physikochemischen Änderungen des Gesamtlipoproteins, wie z.B. dem elektrophoretischen Verhalten oder der immunologischen Reaktivität, führt. Eine mögliche Erklärung für dieses Phänomen könnte durch eine Stabilisierung der spezifischen Proteine durch ihre Interaktion mit Lipiden gegeben sein. Es wäre denkbar, daß die Succinylierung nicht ausreicht, um eine Lösung von Protein-Lipid-Interaktionen hervorzurufen oder die Proteinkonfiguration in einem Ausmaß zu verändern, die sich in einer Änderung der Gesamt-LP-X-Struktur

zeigen würde. Daß die Lipide allgemein einen stabilisierenden Effekt auf Proteine ausüben können, zeigt das gegenteilige Verhalten von globulären Proteinen und das gleichsinnige Verhalten von anderen Plasmalipoproteinen unter ausgiebiger Succinylierung [31].

Eng mit der Frage der Struktur des Lipoprotein-X verbunden ist die Frage nach seiner möglichen Rolle als Substrat der Lecithin:Cholesterin-Acyltransferase, des LCAT-Enzyms, nicht zuletzt deswegen, weil bei der angeborenen Form von LCAT-Mangel LP-X im Plasma ohne nachweisbare Leberschädigung auftritt [32, 33]. Unser heutiger Wissensstand reicht allerdings nicht aus, um hier eine schlüssige Antwort zu geben. Der hauptsächliche Grund hierfür liegt darin, daß der exakte Wirkungsmechanismus dieses Enzyms noch unklar ist. Es wurde eine zeitlang angenommen, daß die HDL, oder genauer gesagt, die Lipide der HDL, das hauptsächliche Cholesterin- und Lecithin-substrat für das LCAT-Enzym seien und daß das Apo-I den entscheidenden Cofaktor darstelle. In jüngerer Zeit wurde hingegen diskutiert, daß die VLDL eher als die HDL-Fraktion das Lipidsubstrat darstellt [34] und daß es das Apo-D [35] oder sogar ein Protein der Dichtefraktion > 1,25 g/ml ist [36], das als potenter Aktivator für das Enzym infrage kommt. Es steht außer Zweifel, daß Cholesterin, Lecithin und ein Protein als Aktivator eine notwendige Voraussetzung für die LCAT-Reaktion darstellen, Voraussetzungen, die grundsätzlich am LP-X erfüllt sind. Es erscheint aber notwendig, zukünftig stärker als bisher, die molekularen Beziehungen dieser Anteile innerhalb des Lipoproteinpartikels zu bewerten. Hinweise für die große Bedeutung gerade dieses Aspektes der physikochemischen Voraussetzungen einer Enzymreaktion wurden in jüngster Zeit durch Studien gegeben, in denen die Interaktion zwischen lipolytischen Enzymen und Membranlipiden analysiert wurden.

Die Beziehung zwischen LP-X und LCAT bei der Cholestase, wenn es eine solche überhaupt gibt, ist bis heute unklar. Die Aktivität des LCAT-Enzyms kann bei der Cholestase entweder normal, erhöht oder erniedrigt sein, unabhängig von dem Auftreten und der Konzentration des LP-X. Entsprechend der sorgfältig durchgeführten Studie von Ritland und Gjone [37] ergibt sich eine inverse Korrelation zwischen LCAT-Aktivität nur zu der Konzentration der Plasmacholesterinester, nicht aber zu der LP-X-Konzentration. Die Tatsache, daß LP-X häufig das einzige abnorme Plasmalipoprotein, besonders in Fällen einer milden Cholestase mit erhöhter LCAT-Aktivität und normalen Esterraten der anderen Lipoproteine, darstellt, weist darauf hin, daß es nicht als besonders gutes Substrat für dieses Enzym infrage kommt, womit das Argument des relativen LCAT-Mangels als Ursache der LP-X-Anreicherung im Plasma cholestati-

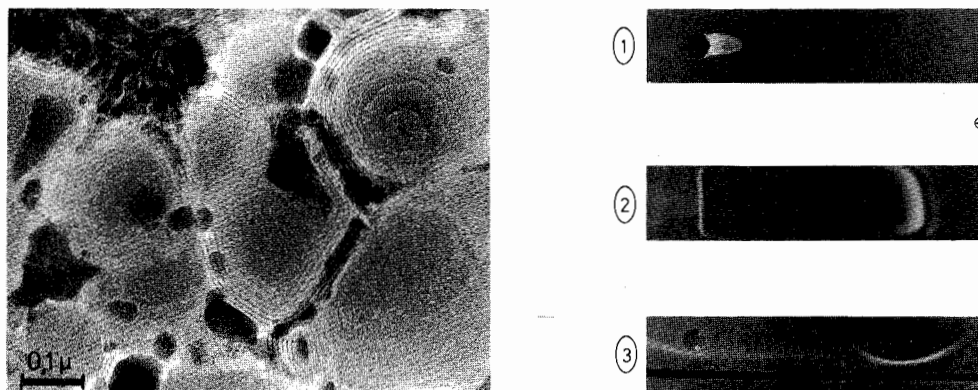


Abb. 4. Elektronenmikroskopisches und elektrophoretisches Verhalten von nativer Galle. Zur Elektronenmikroskopie wurde Nativgalle im Negativkontrastverfahren mit Phosphorwolframsäure dargestellt. In der Lipoproteinelektrophorese (1)=1% Agar-Gel; (2)=1% Agarose-Gel, wurden die Lipoproteinbanden durch Polyanionenpräzipitation zur Darstellung gebracht. In der Immunelektrophorese (3) wurde als Antiserum Antihumanserum verwendet

scher Patienten [52] entfällt. Studien, in denen isoliertes LP-X mit einer partiell gereinigten LCAT-Fraktion inkubiert wurde, ohne daß eine Esterifizierung des Cholesterinanteils stattfand, stützen diese Vorstellung [38]. Es ist daher wahrscheinlich, daß der Mechanismus der LP-X-Bildung bei Formen des familiären LCAT-Mangels völlig anders verläuft als bei der Cholestase, auf die im folgenden eingegangen sein soll.

V. Stoffwechsel des Lipoprotein-X

Durch die Einführung eines methodisch einfachen und Spezies-unabhängigen Tests zur Bestimmung und Quantifizierung des LP-X [39] war es möglich, die Konzentration dieses Lipoproteins im Serum verschiedener Tiere unter bestimmten Bedingungen zu verfolgen und Syntheseraten als auch die biologische Halbwertszeit zu bestimmen [40].

Das LP-X erscheint sowohl beim Hund als auch bei der Ratte innerhalb der ersten 24 h nach einer künstlichen Ligatur des Gallengangs und zeigt dann schnell steigende Konzentrationen [40]. Eine ähnliche Zeitspanne scheint auch für das Auftreten des LP-X beim Menschen bei Gallengangverschluss notwendig zu sein. Trotz gegenteiliger Berichte [41] läßt sich auch beim Schwein LP-X nach experimentell gesetzter Cholestase nachweisen, allerdings zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt und in niedrigerer Konzentration [42]. Eine plausible Erklärung hierfür gibt es bislang nicht; wahrscheinlich sind die besonderen morphologischen Gegebenheiten der Schweineleber diesbezüglich von Bedeutung.

Nachdem das Auftreten des LP-X bisher niemals außer unter der Cholestase – Ausnahme familiäre Form der Lecithin:Cholesterin-Acyltransferasemangelkrankung [32, 33] – nachgewiesen werden konnte, und außerdem bekannt ist, daß während der

extrahepatischen Cholestase Galle aus den Gallengängen durch die hepatischen Lymphgefäße in den Ductus Thoracicus und von dort in das Blut gelangt, war es naheliegend, bei der Suche nach der Pathophysiologie der LP-X-Bildung besonderes Augenmerk auf die Lipide der Galle zu richten. Dies ist umso verständlicher, nachdem bekannt war, daß sich die Lipidfraktion der Galle vor allen Dingen aus Phospholipiden und freiem Cholesterin zusammensetzt, also große Ähnlichkeit mit der des Lipoprotein-X zeigt. Gleiches gilt für die freien Fettsäuren der Phosphatide [43], die in den beiden Fraktionen nahezu identisch sind.

Die Richtigkeit des vermuteten Zusammenhangs zwischen den Lipiden der Galle und dem Lipoprotein-X hat sich durch in vitro, als auch durch in vivo Experimente unserer Arbeitsgruppe [44, 45] erwiesen. Durch diese Studien konnte eindeutig der Nachweis erbracht werden, daß es bei der Cholestase zu einem Reflux eines – normalerweise mit der Galle ausgeschiedenen – Lipoproteins kommt, aus dem dann im Plasma LP-X entsteht. Die Umformung des Gallenlipoproteins in LP-X wird bedingt durch die besonderen physikochemischen Gegebenheiten im Plasma und läuft ohne energieliefernde oder enzymatische Reaktionen ab. Auf einige wichtige Aspekte dieser Beziehung sei kurz eingegangen (Einzelheiten s. bei [45]).

Wenn man menschliche Galle einer Agar- oder Agaroselektrophorese unterwirft (vgl. Abb. 4), so findet man eine Lipoproteinbande mit anodischer Mobilität, die sich entweder durch Polyanionenpräzipitation oder durch eine Lipidfärbung sichtbar machen läßt. Immunochemisch findet man Albumin und Immunglobuline neben anderen Plasmaproteinen in der Galle, hingegen zeigen sich keine der üblichen Apoproteine, Apo-A, Apo-B, Apo-C und Apo-D in meßbaren Konzentrationen. Abgesehen von dem Auftre-

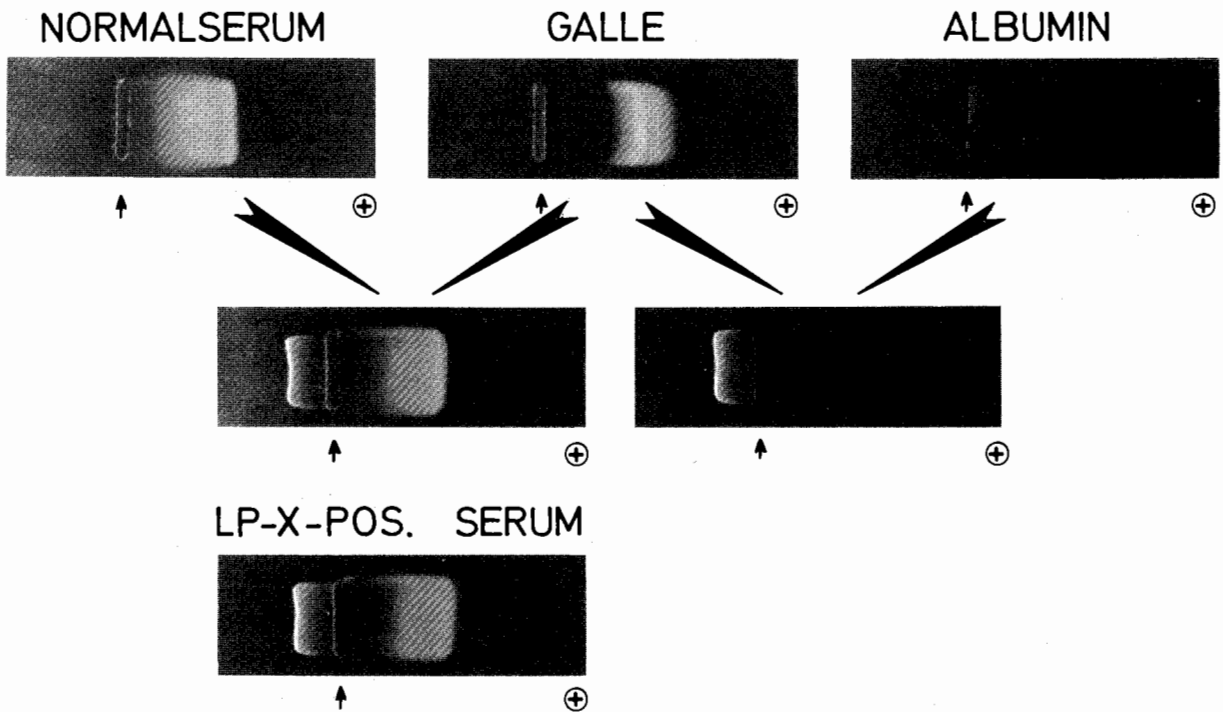


Abb. 5. Resultat der in vivo Inkubation verschiedener Proteinlösungen mit Galle. 1% Agarelektrophorese pH 8,6. Die Lipoproteinbanden wurden nach dem elektrophoretischen Lauf durch Polyanionenlösungen zur Darstellung gebracht

ten einzelner lamellärer Strukturen sind in der Galle elektronenmikroskopisch keine charakteristischen Formationen zu erkennen. Im Besonderen zeigt sich in der Galle nichts, was die charakteristischen physikochemischen Eigenschaften des LP-X aufweisen würde. Alle Lipide der Galle lassen sich jedoch in Form eines Albumin-Lipid-Komplexes — der als „Gallenlipoprotein“ bezeichnet wurde — isolieren [45]. Dieser Komplex zeigt eine Lipidkomposition, die der des LP-X identisch ist, ansonsten unterscheidet er sich allerdings in seinen physikochemischen Eigenschaften vom LP-X erheblich.

In vitro-Inkubation von Albumin oder LP-X-negativem Serum mit Galle resultiert hingegen in der Formation von LP-X, das an seiner charakteristischen Mobilität und anderen physikochemischen Eigenschaften erkannt und als solches isoliert werden kann (vgl. Abb. 5).

Die Menge an LP-X, die man durch Inkubation von Albumin oder Serum mit Galle erreichen kann, hängt von der Konzentration der Nativgalle, im Besonderen von der Konzentration des Gallenlipoproteins, aber ebenso von der Konzentration der Gallensalze und der Menge an zugesetztem Albumin ab, wobei das Albumin:Gallensalz-Verhältnis offensichtlich der entscheidende Parameter für die Festlegung der Struktur dieses Protein-Lipid-Komplexes ist, der entweder als LP-X in einem Albumin-reichen,

Gallensalz-armen Milieu imponiert, oder als Gallenlipoprotein in einem Milieu, reich an Gallensalzen und relativ arm an Albumin.

Diese beiden Formen desselben Protein-Lipid-Komplexes lassen sich beliebig und reversibel durch Änderung des Milieus ineinander überführen. Es ist theoretisch interessant und im Hinblick auf die Interpretation metabolischer Studien zum LP-X von Bedeutung, daß freie Fettsäuren einen vergleichbaren Effekt auf die Gesamtstruktur dieses abnormen Lipid-Protein-Komplexes ausüben, wie Gallensalze.

Wie in Abb. 6 dargestellt, führt sowohl die Zugabe von Gallensalzen als auch die Zugabe von freien Fettsäuren zu einer LP-X Lösung zur Umwandlung in das Gallenlipoprotein, das sich seinerseits durch zusätzliche Zugabe von Albumin in LP-X überführen läßt. Vergleicht man LP-X, das sich durch Zugabe von Albumin alleine bildet, mit LP-X, das sich durch Zugabe von Serum zu Galle bildet, oder mit nativem LP-X, so findet man eine identische Lipidzusammensetzung der verschiedenen Formen [45]. Unterschiede zeigen sich hingegen im Proteinanteil, ebenso wie in der Struktur der verschiedenen LP-X Formen (vgl. Abb. 6).

LP-X_(Alb) zeigt größere und insgesamt stärker heterogene Partikel im Elektronenmikroskop; in der Agar-Gel-Elektrophorese wandert es weiter zur Kathode und zeigt nicht die für das LP-X typischen

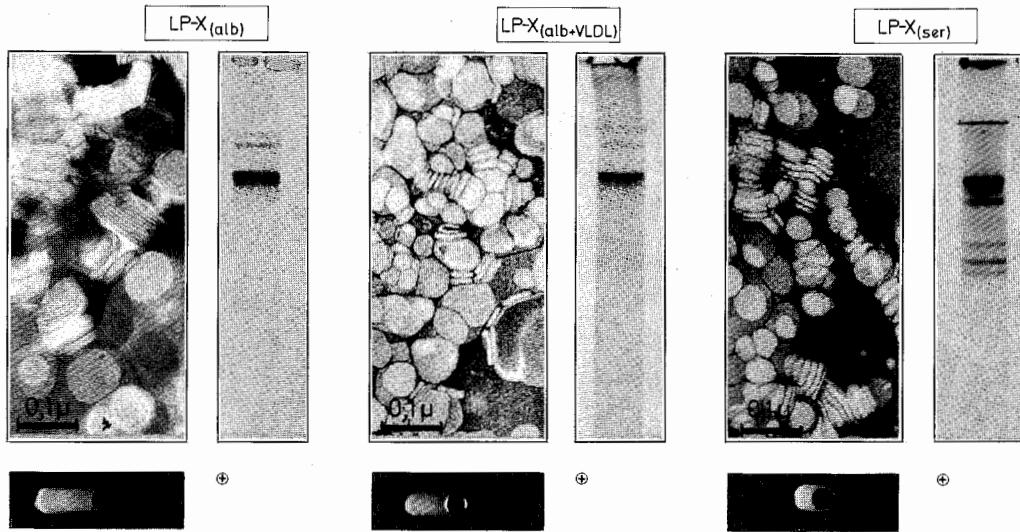


Abb. 6. Charakteristik verschiedener Formen von LP-X. Elektronenmikroskopisches Verhalten nach Negativkontrastdarstellung mit Phosphorwolframsäure; Darstellung der Apoproteine nach totaler Delipidierung und elektrophoretischer Trennung in 7% Polyacrylamidgel in 8 M Harnstoff; elektrophoretisches Verhalten von intakten LP-X Präparationen in 1% Agar. LP-X_(alb) = isoliertes LP-X nach Inkubation von Galle mit Albumin; LP-X_(alb+VLDL) = isoliertes LP-X_(alb) nach Inkubation mit VLDL; LP-X_(ser) = isoliertes LP-X nach in vitro Inkubation von LP-X negativem Serum mit Natigalle

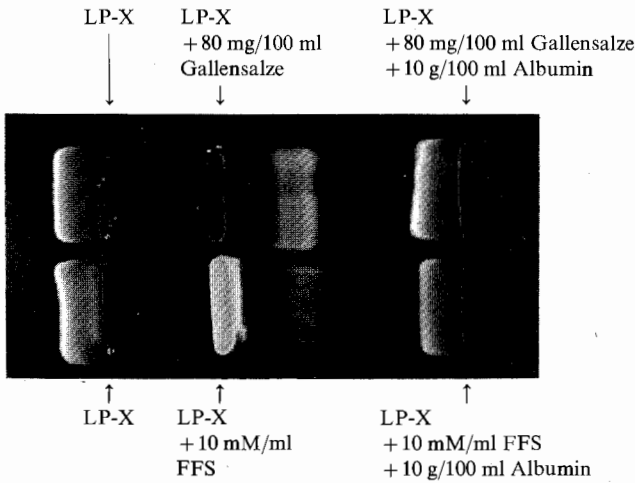


Abb. 7. Elektrophoretisches Verhalten des abnormen Lipoprotein-komplexes in Abhängigkeit vom Milieu. Die Elektrophorese wurde in 1% Agar-Gel pH 8,6 durchgeführt; die Lipoproteinbanden wurden durch Polyanionenpräzipitation zur Darstellung gebracht

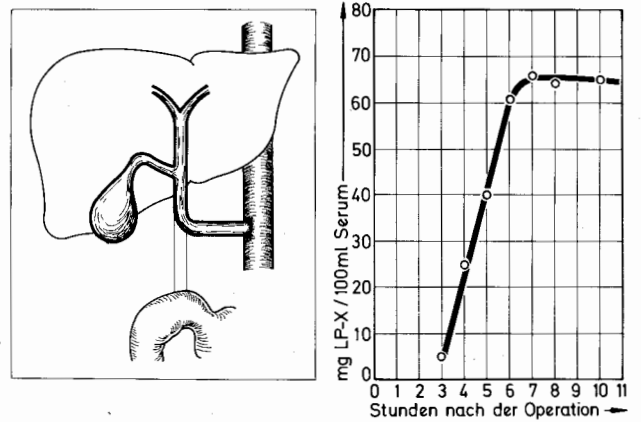


Abb. 8. Resultate des Tiermodells zur in vivo-LP-X-Bildung. Unter Verwendung des Rapidophorsystems läßt sich 3 h nach einer Anastomose zwischen dem Ductus Choledochus und der Vena Cava LP-X im Plasma der Tiere nachweisen

Apo-C and Apo-D Banden in PAGE. Nach Inkubation dieses Materials mit HDL oder VLDL und erneuter Isolierung zeigt diese Fraktion hingegen — ebenso wie LP-X_(ser) — diese Apoproteine. Das LP-X_(ser) zeigt nahezu keine Unterschiede zu nativem LP-X, weder in seinem Aufbau noch in seiner Struktur.

Diese in vitro Experimente werden durch in vivo Studien am Hund untermauert, in denen gezeigt werden konnte, daß eine künstliche Verbindung des Gallengangs mit der Vena Cava innerhalb weniger Stunden

zum Auftreten des LP-X im Plasma der Tiere führt [45] (vgl. Abb. 8).

Gemeinsam weisen die in vitro- und in vivo-Untersuchungen eindeutig darauf hin, daß es bei der Cholestase dann zur Bildung des LP-X kommt, wenn Gallenlipoprotein durch einen Reflux ins Plasma gelangt und sich durch weitere Aufnahme von Albumin zu LP-X umwandelt. Es ist daher wahrscheinlich, daß Albumin, im Gegensatz zu den Apo-X Peptiden, als Schlüsselprotein bezüglich der Bildung und Erhaltung

der Struktur des LP-X mit seinen charakteristischen physikochemischen Eigenschaften fungiert.

Der hierdurch erbrachte Nachweis eines Einstroms von Phospholipiden und freiem Cholesterin der Galle in Form des Gallenlipoproteins, bzw. des LP-X ins Plasma, eröffnet neue Aspekte im Verständnis um den Cholesterinstoffwechsel und im Besonderen um die Mechanismen, die zu Hypercholesterinämie bei der Cholestase führen. Es erscheint plausibel, daß die abnorme Transportart des Cholesterins in Form des LP-X ungeeignet ist, den endogenen negativen Feedback-Mechanismus der Cholesterinsynthese auszulösen. Im Gegenteil könnte der hohe Phospholipidgehalt des LP-X sogar Ursache der gesteigerten hepatischen Cholesterinsynthese bei der Cholestase sein.

Beides ist umso wahrscheinlicher, nachdem bekannt ist, daß die Steuerung der Cholesterinsynthese eng an das Apo-B geknüpft ist [46], das am Aufbau des LP-X, wie oben gezeigt, nicht beteiligt ist. Unterstützt werden solche Vorstellungen durch den Nachweis [47, 48], daß Infusionen von Phospholipiden zu einer Steigerung der Cholesterinsynthese und zur Hypercholesterinämie führen. In diesem Zusammenhang sind neuere Untersuchungen unseres Laboratoriums relevant [49], in denen gezeigt werden konnte, daß LP-X nicht in der Lage ist, die gesteigerte hepatische Cholesterinsynthese bei der Cholestase zu inhibieren, im Gegensatz zu normalen Apo-B-tragenden Lipoproteinen. Die interessante Frage, ob bei der Cholestase das neu und im Übermaß synthetisierte Cholesterin von der Leber in Form von VLDL bzw. LDL, oder in Form von LP-X, bzw. Gallenlipoproteinen ans Plasma abgegeben wird, läßt sich heute noch nicht beantworten. Hierfür wäre mehr Information über VLDL und LDL-Turnoverraten unter der Cholestase notwendig, da die hepatische Cholesterinsynthese bei normalem LDL-Katabolismus ohne Einfluß auf den Plasmacholesterinspiegel ist [50].

Die biologische Halbwertszeit des LP-X konnte bisher nur im Tierexperiment bestimmt werden. Sie liegt für die Ratte bei 10 h und für den Hund bei 37 h [40], was Werten entspricht, die man für normale Lipoproteine gefunden hat. Welche Organe für den LP-X-Abbau infrage kommen, ist noch offen. Bei experimenteller Cholestase wurde elektronenmikroskopisch LP-X-ähnliches Material in den Kupferschen Sternzellen beobachtet [51], was auf eine Beteiligung des RES im Abbau dieses Lipoproteins schließen läßt.

Alle bisher durchgeführten in vitro-Untersuchungen zum LP-X-Abbau durch Lipoprotein-Lipase-Aktivität [40, 52], müssen neu überdacht werden, nachdem wir zeigen konnten, daß freie Fettsäuren zu identischen Änderungen der physikochemischen Charakteristik des LP-X führen wie Gallensalze [53]. Gleiches gilt für die meisten der bisher vorliegenden Untersu-

Tabelle 1. Zusammenfassung verschiedener Studien zur Aussagekraft des LP-X-Tests in der Differentialdiagnose der Cholestase. Es wurden nur solche Werte in die Tabelle aufgenommen, bei denen ein eindeutiger anatomischer Befund vorlag

Vergleich zwischen morphologisch gesichertem Befund und LP-X

Autoren	Jahr	MIT CHOLESTASE			OHNE CHOLESTASE			OHNE LEBERBEFUND		
		n	LP-X POS %	NEG %	n	LP-X POS %	NEG %	n	LP-X POS %	NEG %
SEIDEL u. Mitarb.	1973	280	99	1	277	3	97	662	0	100
RITLAND u. Mitarb.	1973	23	100	0	51	10	90	20	0	100
MAYR	1975	100	99	1	164	1	99	156	3	97
FISCHER u. Mitarb.	1975	50	82	18	74	1	99	20	0	100
MILLER u. Mitarb.	1976	21	100	0						
MAGNANI & ALAUPOVIC	1976	81	98	2						
JUNG u. Mitarb.	1976	38	92	8	140	1	99			
WEISS u. Mitarb.	1976	181	93	7						
GESAMT		774	97	3	566	3	97	858	0,5	99,5

chungen zur katabolen Wirkung des LCAT-Enzyms auf das LP-X [54], ebenso wie für Untersuchungen, in denen Plasma LP-X Konzentrationen auf der Basis der Dichte oder der charakteristischen Mobilität in Agar-Gel bestimmt werden (vgl. auch Abb. 6).

VI. Der LP-X-Test als klinisch-chemischer Parameter

Aufgrund der abnormen elektrophoretischen Mobilität des LP-X in Agar-Gel wurde es möglich, ein einfaches, schnelles und sicheres Test-System für den Nachweis dieser abnormen Lipoproteinkomponente zu entwickeln [39] und in die Routine klinisch-chemischer Analysen einzuführen. Nachdem sich gezeigt hatte, daß LP-X im Plasma gesunder Kontrollpersonen nicht nachzuweisen ist, aber rasch im Verlauf einer Cholestase auftritt, lag es nahe, den Test auf LP-X in der Differentialdiagnose des Ikterus einzusetzen.

Hierzu wurden in den letzten Jahren in verschiedenen Ländern unabhängig voneinander eine Reihe gut dokumentierter Untersuchungen angestellt [55–70], um die klinisch-chemische Treffsicherheit des LP-X-Tests zu prüfen. Die Ergebnisse dieser Arbeiten zeigten in guter Übereinstimmung die hohe Treffsicherheit dieses Tests zum Nachweis oder Ausschluß einer Cholestase an, wenn als Kriterium ein klarer anatomischer Befund eingesetzt wird (s. auch Tabelle 1). Eine Unterscheidung zwischen intra- und extrahepatischer Cholestase ist aufgrund des Nachweises des LP-X allerdings weder zu erwarten noch möglich. Der große Vorteil des LP-X-Tests liegt in seiner Ja-Nein-Aussage und in der Tatsache, daß man nur 10 µl Serum zur Analyse braucht. Sowohl in seiner Spezifität wie in seiner Sensitivität ist der LP-X-Test allen anderen blutchemischen Parametern in der Differentialdiagnose der Cholestase überlegen. Der kürzlich er-

brachte und interessante Nachweis von LP-X im Serum scheinbar lebergesunder Säuglinge in den ersten Lebensmonaten [70] könnte, unter Berücksichtigung der pathophysiologischen Vorstellungen zur LP-X-Formation, als Zeichen einer Unreife der frühkindlichen Leber gewertet werden, bei der es zu einem Reflux von gallenpflichtigen Substanzen – in diesem Fall von Gallenlipoproteinen – kommt. Um die diagnostische Verwertbarkeit dieses Befundes zu erarbeiten, bedarf es allerdings noch weiterer intensiver, aber wahrscheinlich sehr lohnender Untersuchungen. Die Tatsache, daß LP-X nur sehr selten in den ersten Lebensstagen oder im Nabelschnurblut zu finden ist, läßt vermuten, daß die Gallenlipoproteinproduktion, als notwendige Voraussetzung für LP-X, erst post partem, u.U. erst nahrungsinduziert, einsetzt.

VII. Abschließende Bemerkungen

Im Rahmen dieses Überblicks konnte nur auf einige grundlegende neuere Befunde der Lipoproteinfor-schung am LP-X eingegangen werden. Die Ergebnisse zeigen jedoch hinreichend, daß Einblicke in die Patho-physiologie von Fettstoffwechselstörungen – hier dargestellt am Beispiel der Cholestase – nur dann zu erwarten sind, wenn die Planung und die Vorstel-lung des experimentellen Ansatzes auf der Analyse der Plasmalipoproteine basiert. Hierbei kommt der Analyse und Bewertung ihrer Proteinanteile, der Apo-proteine, ihrer strukturellen Verhältnisse, sowie ihres damit in engem Zusammenhang stehenden Stoffwech-sels die größte Bedeutung zu.

Die Ergebnisse, die in der vorliegenden Übersicht diskutiert werden, wurden an anderer Stelle, nach enger Zusammenarbeit mit Dr. Giovanna Baggio, Dr. P. Alaupovic, Dr. H. Wieland, Dr. P. Müller und Dr. R. Fellin publiziert. Ihnen allen möchte ich meinen besonderen Dank aussprechen, ebenso wie meiner lang-jährigen Assistentin, Frau Claudia Ziebold-Ruppert. Die Arbeiten wurden durch die Deutsche Forschungsgemeinschaft (SFB 90) finan-ziell unterstützt.

Literatur

1. Seidel, D.: Hyperlipoproteinämie bei Erkrankungen der Leber. *Schweiz. Med. Wschr.* **105**, 857 (1975)
2. Flint, A., Jr.: Experimental researches into a new excretory function of the liver, consisting in the removal of cholesterol from the blood, and its discharge from the body in the form of stercorine. *Amer. J. med. Sci.*, **44**, 305 (1862)
3. Feigl, J.: Neue Untersuchungen über akute gelbe Leberatro- phie. III. Fette und Lipide des Blutes. *Chemische Beiträge zur Kenntnis der Entwicklung und Charakteristik spezifischer Lipä- mien.* *Biochem. Z.* **86**, 1 (1918)
4. Rothschild, M.A., Felsen, J.: The cholesterol content of the blood in various hepatic conditions. *Arch. Int. Med.* **24**, 520 (1919)
5. Thannhauser, S.J., Schober, H.: Über die Beziehungen des Gleichgewichtes Cholesterin und Cholesterinester in Blut und Serum zur Leberfunktion. *Klin. Wschr.* **5**, 252 (1926)
6. Epstein, E.Z.: Cholesterol of the blood plasma in hepatic and biliary diseases. *Arch. Intern. Med.* **50**, 203 (1932)

7. Fredrickson, D.S., Loud, A.V., Hinkelman, B.T., Schneider, H.S., Frantz, J.D.: The effect of ligation of the common bile duct on cholesterol synthesis in the rat. *J. Exp. Med.* **92**, 43 (1954)
8. Kattermann, R., Reimold, W.V.: Leberschaden und Lipidstoff- wechsel. *Acta hepato-splenol. (Stuttg.)* **17**, 75(1970)
9. Dietschy, J.M., Siperstein, M.D.: Cholesterolsynthesis by the gastrointestinal tract: Localization and mechanism of control. *J. clin. Invest.* **44**, 1311 (1965)
10. Quarfordt, S.H., Oelschläger, H., Krigbaum, W.R., Jakobi, L., Davis, R.: Effect of biliary obstruction on canine plasma and biliary lipids. *Lipids* **8**, 522 (1973)
11. Ahrens, E.H., Kunkel, H.G.: The stabilization of serum lipid emulsions by serum phospholipids. *J. Exp. Med.* **90**, 409 (1949)
12. Friedman, M.S., Byers, O., Roseman, R.H.: Lipogenic hyper- cholesterolemia. A guide for reorientation in the consideration of lipid-cholesterol relationships. *Arch. Int. Med.* **116**, 807 (1965)
13. Kunkel, H.G., Ahrens, E.H., Jr.: The relationship between serum lipids and the electrophoretic pattern, with particular reference to patients with primary biliary cirrhosis. *J. clin. In- vest.* **28**, 1575 (1949)
14. Kunkel, H.G., Slater, R.J.: Lipoprotein patterns of serum obtained by zone electrophoresis. *J. clin. Invest.* **31**, 677 (1952)
15. Gofman, J.: The serum lipoprotein transport system in health, metabolic disorders, atherosclerosis and coronary artery disea- ses. *Plasma* **2**, 484 (1954)
16. Furman, R.H., Conrad, L.L., Howard, R.P.: A serum lipo- protein pattern characteristic of biliary obstruction, with some comments on "jaundice due to methyltestosterone". *Circula- tion* **10**, 586 (1954)
17. Havel, R.J., Eder, H.A., Bragdon, J.H.: The distribution and chemical composition of ultracentrifugally separated lipo- proteins in human serum. *J. clin. Invest.* **34**, 1345 (1955)
18. Furman, R.H., Conrad, L.L.: Ultracentrifugal characteriza- tions of the lipoprotein spectrum in obstructive jaundice: Studies of serum lipid relationships in intra- and extrahepatic biliary obstruction. *J. clin. Invest.* **36**, 713 (1957)
19. Lindgren, F.T., Nichols, A.V.: Structure and function of hu- man serum lipoproteins. In: *The Plasma Proteins* (F. Putnam, Ed.), Vol. 2, p. 1. New York, Academic Press 1960
20. Russ, E.M., Raymunt, J., Barr, D.P.: Lipoproteins in primary biliary cirrhosis. *J. clin. Invest.* **35**, 133 (1956)
21. Switzer, S.: Plasma lipoproteins in liver disease. I. Immunolog- ically distinct low-density lipoproteins in patients with biliary obstruction. *J. clin. Invest.* **46**, 1855 (1967)
22. Delalla, L., Levine, L., Brown, R.K.: Immunologic studies of human high density lipoproteins. *J. Exp. Med.* **106**, 261 (1957)
23. Fredrickson, D.S., Levy, R.I., Lees, R.S.: Fat transport in lipoproteins—An integrated approach to mechanism and disor- ders. *N.Engl. J. Med.* **276**, 273 (1967)
24. Burstein, M., Caroli, J.: Isolement et étude des lipoprotéines sériques anormales au cours des ictères par rétention après floculation par le polyvinyl-pyrrolidone. *Rev. Franc. Etud. Clin. Biol.* **13**, 387 (1968)
25. Seidel, D., Alaupovic, P., Furman, R.H.: A lipoprotein charac- terizing obstructive jaundice. I. Method for quantitative separa- tion and identification of lipoproteins in jaundiced subjects. *J. clin. Invest.* **48**, 1211 (1969)
26. Seidel, D., Alaupovic, P., Furman, R.H., McConathy, W.J.: A lipoprotein characterizing obstructive jaundice. II. Isolation and partial characterization of the protein moieties of low den- sity lipoproteins. *J. clin. Invest.* **49**, 2396 (1970)
27. Mills, G.L., Seidel, D., Alaupovic, P.: Ultracentrifugal charac- terization of a lipoprotein occurring in obstructive jaundice. *Clin. Chim. Acta* **26**, 239 (1969)
28. Seidel, D., Agostini, A., Müller, P.: Structure of an abnormal plasmalipoprotein (LP-X) characterizing obstructive jaundice. *Biochem. Biophys. Acta (Amst.)* **260**, 146 (1972)

29. Hamilton, R.L., Havel, R.J., Kane, J.P., Blaurock, A.E., Sata, T.: Cholestasis: Lamellar structure of abnormal human serum lipoprotein. *Science* **172**, 475 (1971)
30. Jonas, A., Seidel, D.: Properties of the Abnormal Human Plasma Lipoprotein (LP-X) Characteristic of Cholestasis After Chemical Modification with Succinic Anhydride. *Arch. Biochem. and Biophys.* **163**, 200 (1974)
31. Scanu, A., Pollard, H., Reader, W.: Properties of human serum low density lipoproteins after modification by succinic anhydride. *J. Lipid Res.* **9**, 342 (1968)
32. Seidel, D., Gjone, E., Blomhoff, J.P., Geisen, H.P.: Plasma lipoproteins in patients with familial plasma lecithin:cholesterol acyltransferase (LCAT) deficiency—Studies on the apolipoprotein composition of isolated fractions with identification of LP-X. *Int. Symp. on Lipid Metabolism, Obesity and Diabetes mellitus. Impact upon Atherosclerosis*, Wiesbaden, April 1972
33. Torsvik, H., Berg, K., Magnani, H.N., McConathy, W.J., Alaupovic, P., Gjone, E.: Identification of the abnormal cholestatic lipoprotein (LP-X) in familial lecithin:cholesterol acyltransferase deficiency. *FEBS Letters* **24**, 165 (1972)
34. Marcel, Y.L., Vecina, C.: Lecithin:cholesterol acyltransferase of human plasma. *J. Biol. Chem.* **248**, 8254 (1973)
35. Kostner, G.M.: Studies on the cofactor requirement of Lecithin:Cholesterol Acyltransferase. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* **33**, 19 (1974)
36. David, S.K., Soloff, L.A., Lacko, A.G.: Factors affecting the esterification of lipoprotein cholesterol by lecithin:cholesterol acyltransferase. *Life Sciences* **18**, 701 (1976)
37. Rittland, S., Gjone, E.: Quantitative determination of LP-X in familial LCAT deficiency and during cholesterol esterification. *Clin. Chim. Acta* **59**, 109 (1975)
38. Wengeler, H., Greten, H., Seidel, D.: Serum cholesterol esterification in liver disease. Combined determination of lecithin:cholesterol acyltransferase and lipoprotein-X. *Europ. J. clin. Invest.* **1**, 372 (1971)
39. Wieland, H., Seidel, H.: Eine neue und vereinfachte Methode zum Nachweis des LP-X, eines cholestasespezifischen Lipoproteins. *Dtsch. Med. Wschr.* **98**, 1474 (1973)
40. Seidel, D., Büff, H.K., Fauser, U., Bleyl, K.: On the metabolism of lipoprotein-X (LP-X). *Clin. Chim. Acta* **66**, 195 (1976)
41. Danielson, B., Ehman, R., Johansson, B.G., Petersson, B.G.: Zonal ultracentrifugation of plasma lipoproteins from normal and cholestatic pigs. *Clin. Chim. Acta* **65**, 187 (1975)
42. Baggio, G., et al.: Unveröffentlichte Resultate
43. Picard, J., Veissiere, D., Voyer, F.: Isolation and properties of abnormal serum lipoproteins in cholestasis. *Protides Biol. Fluids* **19**, 249 (1972)
44. Seidel, D., Baggio, G.: Origin and Metabolism of Lipoprotein-X. *Europ. Soc. for the study of the liver, Barcelona*, 11.–13. Sept. 1975
45. Manzato, E., Fellin, R., Baggio, G., Neubeck, W., Seidel, D.: Formation of lipoprotein-X: Its relationship to bile compounds. *J. clin. Invest.* **57**, 5, 1248 (1976)
46. Brown, M.S., Goldstein, J.L.: Role of the low density lipoprotein receptor in regulating the content of free and esterified cholesterol in human fibroblasts. *J. clin. Invest.* **55**, 783 (1975)
47. Deluzio, N.R., Zilversmit, D.B.: Effect of intravenous phospholipid and triton on lipids of normal and ethanol-treated rats. *Amer. J. Physiol.* **199**, 99 (1973)
48. Byers, S.O., Friedman, M., Sugiyama, T.: Mechanism underlying phosphatide-induced hypercholesterolemia. *J. Biol. Chem.* **237**, 3375 (1962)
49. Liersch, M., Heuck, C.C., Baggio, G., Seidel, D.: Regulation of cholesterol biosynthesis in rat liver by two different plasma lipoproteins. *IV. Int. Symp. on Atherosclerosis*, Tokyo, August 1976
50. Eisenberg, S., Levy, R.J.: Lipoprotein Metabolism. In: *Advances in Lipid Research*. 1975, Academic Press, New York
51. Stein, O., Alkan, M.D., Stein, Y.: Obstructive jaundice lipoprotein particles—studied in ultrathin sections of livers of bile duct ligated mice. *Lab. Invest.* **29**, 166 (1973)
52. Ritland, S., Stokke, K.P., Gjone, E.: Changes in the concentration of LP-X during incubation of post heparin plasma from patients with LCAT deficiency. *Clin. Chim. Acta* **67**, 63 (1976)
53. Baggio, G., et al.: Unveröffentlichte Resultate
54. Patsch, W., Patsch, I., Sailer, S.: In vitro degradation of LP-X by normal plasma. *Europ. Soc. for Clin. Invest. 10th. Ann. Meeting*, Abstr. Nr. 242 (1976)
55. Seidel, D., Schmitt, E.A., Alaupovic, P.: An abnormal low density lipoprotein in obstructive jaundice. II. Significance in differential diagnosis of jaundice. *Dtsch. Med. Wschr.* **15**, 671 (1970)
56. Seidel, D., Gretz, H., Ruppert, C.: Significance of the LP-X test in differential diagnosis of jaundice. *Clin. Chem.* **19**, 86 (1973)
57. Ritland, S., Blomhoff, J.P., Elgio, K., Gjone, E.: Lipoprotein-X (LP-X) in liver disease. *Scand. J. Gastroenterol.* **8**, 155 (1973)
58. Mayr, K.: Der Wert des Nachweises von Lipoprotein-X zur Feststellung einer Cholestase: Ein Vergleich mit anderen klinisch-chemischen Untersuchungen. *Dtsch. Med. Wschr.* **100**, 2193 (1975)
59. Fischer, M., Falkensommer, Ch., Barouch, G., Wuketich, St., Kronberger, O., Schnach, H.: Zur Diagnostik der Cholestase: Lipoprotein-X (LP-X). *Wiener Klin. Wschr.* **87**, 524 (1975)
60. Müller, J.P., Johnson, K.: A critical examination of the value of combined determination of LCAT and LP-X in the differential diagnosis of liver disease. *Clin. Chim. Acta* **69**, 81 (1976)
61. Magnani, H.N., Alaupovic, P.: Utilization of the quantitative assay of lipoprotein-X in the differential diagnosis of extrahepatic obstructive jaundice and intrahepatic disease. *Gastroenterology*, **71**, 87 (1976)
62. Jung, K., Schimmelpfennig, W., Wach, R., Heumann, R., Mallmann, B., Prockat, U.: Zur diagnostischen Bedeutung des LP-X bei chronischen Lebererkrankungen. *Dtsch. Gesundh. Wesen* **31**, 825 (1976)
63. Weiss, W., Baumgartner, G., Eder, G.: Klinische Relevanz der Lipoprotein-X-Bestimmung im Serum. Vortrag 10. *Int. Kongr. Gastroenterol. Budapest* 23.–29.6.76
64. Mayr, K.: Lipoprotein-X und andere klinisch-chemische Parameter bei Cholestase. *Wiener Med. Wschr.* 126. Jg., Nr. 25–27, S. 378–380 (1976)
65. Vergani, C., Pietrogrande, M., Grondana, M.C., Pizzolato, A.: Studio di una lipoproteina anomala (LP-X) caratteristica della colestasi. *Clin. Med.* **64**, 1461 (1973)
66. Mordasini, R.C., Berthold, S., Schlumpf, E., Keller, H., Riva, G.: Lipoprotein-X bei Hepatobiliären Erkrankungen. *Schweiz. Med. Wschr.* **105**, 863 (1975)
67. Rosti, D., Gaspari, G.C.: Valore diagnostico della LP-X negli itteri neonatali. *Abstract. Minerva Pediatr.* **26**, 582 (1974)
68. Prexl, H.J., Petek, W.: Die Bedeutung des Lipoprotein-X und der Serumcholinesterase in der präoperativen Diagnostik des Verschlussikterus. *Chirurg.* **44**, 310 (1973)
69. Poley, J.R., Alaupovic, P., Seidel, D., McConathy, W.J.: Differential diagnosis between neonatal hepatitis and extrahepatic biliary atresia in infants: A new test. *Gastroenterology* **58**, 983 (1970)
70. Witt, I., Ober, M.: Lipoprotein-X bei Neugeborenen: Gehäuftes Auftreten ohne nachweisbare Cholestase. *Z. klin. Chem.* **14**, 197 (1976)

Professor Dr. Dietrich Seidel
 Klinisch-Chemisches Labor der
 Medizinischen Univ.-Klinik
 Ludolf-Krehl-Klinik
 Bergheimer Straße 68
 D-6900 Heidelberg
 Bundesrepublik Deutschland