

T. Purcz
W. Reuter
B. Vorberg
I. Sauer
A. Neugebauer

Vitamin-E-Verteilung der Lipoproteine bei Patienten mit koronarer Herzkrankung

Vitamin E distribution in lipoproteins in patients with coronary artery disease

Zusammenfassung Der oxidativen Modifikation von LDL-Partikeln wird eine bedeutende Rolle bei der Entwicklung der Atherogenese beigemessen. Es wurde der Frage nachgegangen, ob Patienten mit koronarer Herzkrankheit Unterschiede im Vitamin-E-Gehalt im Serum und in den Lipoproteinen aufweisen. Die Untersuchungen wurden an 36 Patienten mit angiographisch gesicherter koronarer 3-Gefäßkrankung sowie an 32 gesunden Probanden durchgeführt. Es erfolgte die Bestimmung von Cholesterin, Triglyceriden, LDL-Cholesterin und

HDL-Cholesterin sowie von Vitamin E im Serum und in den Lipoproteinen. Die Vitamin-E-Konzentration im Serum war bei den Koronarpatienten signifikant erhöht, wobei in beiden Kollektiven eine positive Korrelation zwischen Vitamin E und Cholesterin bestand. Vitamin E wurde in der Kontrollgruppe zu 53 % in den LDL, zu 34 % in den HDL und zu 13 % in den VLDL transportiert, in der Patientengruppe waren 57 % an LDL, 26 % an HDL und 16 % an VLDL gebunden. Der Vitamin-E-Gehalt in den LDL war bei den Patienten deutlich erhöht und korrelierte mit der Vitamin-E- und der Gesamt-Cholesterin-Konzentration im Serum. Der Quotient Vitamin E/Cholesterin in den LDL war in der Patientengruppe gering vermindert, während der Ratio in den HDL signifikant erhöht war. Die Ergebnisse bestätigen auch bei Koronarpatienten den Zusammenhang zwischen Lipidkonzentration und Vitamin E. Ein verminderter Quotient Vitamin E/Cholesterin in den LDL könnte deren oxidative Modifizierung begünstigen.

Summary The oxidative modification of LDL could play an important role for the development of atherosclerosis. The present study was undertaken to compare the concentration of vitamin E in serum and lipoproteins between

patients with coronary heart disease and a healthy control group. The study included 36 male patients with angiographically established coronary three-vessel disease and 32 healthy volunteers. Cholesterin, triglyceride, LDL-cholesterin, HDL-cholesterin, and vitamin E in serum and in lipoproteins were determined. The serum vitamin E concentration in the patients group was significantly higher than in controls. However, vitamin E was correlated with cholesterol in both groups. The distribution of vitamin E in healthy volunteers was LDL 53 %, HDL 34 % and VLDL 13 %, whereas that in patients was LDL 57 %, HDL 26 % and VLDL 16 %. The level of vitamin E in LDL was in the patient group significantly higher and correlated with the vitamin E- and the cholesterol-concentration in serum. The ratio vitamin E/cholesterol in LDL was in patients discretely lower, whereas the same ratio in HDL was higher. The results suggest that also in patients with coronary artery disease vitamin E is related to the lipid concentration. The decreased ratio vitamin E/cholesterol in LDL could be attributed to the oxidative modification of LDL.

Schlüsselwörter Vitamin E – Vitamin-E-Transport – Lipoproteine – koronare Herzkrankung

Eingegangen: 14. März 1995
Akzeptiert: 21. Mai 1996

Dr. T. Purcz (✉) · W. Reuter · B. Vorberg
I. Sauer
Medizinische Klinik und Poliklinik III
Universität Leipzig
Johannisallee 32
04103 Leipzig

A. Neugebauer
Medizinische Klinik I
Universität Leipzig
Johannisallee 32
04103 Leipzig

Key words Vitamin E – vitamin E-transport – lipoproteins – coronary artery disease

Abbreviation index *VLDL* = Very low density lipoprotein · *LDL* = Low density lipoprotein · *HDL* =

High density lipoprotein · *HPLC* = High performance liquid chromatography

Einleitung

Bei der Entstehung der Atherosklerose wird den oxidativen Veränderungen der Lipoproteine niedriger Dichte (LDL) eine immer größere Bedeutung beigemessen. Die Modifizierung der nativen LDL wird als Voraussetzung für die Bildung von Schaumzellen angesehen. Die oxidierten LDL binden nicht mehr an den klassischen LDL-Rezeptor, sondern an spezifische Zelloberflächenrezeptoren von Makrophagen, die zu den sogenannten Scavenger-Rezeptoren gehören (10, 17). Die lipidüberladenen Makrophagen werden schließlich zu Schaumzellen, die sich zu der frühesten histologisch faßbaren atherosklerotischen Gefäßwandveränderung, den Fettstreifen (fatty streaks), zusammenlagern.

In-vitro-Untersuchungen haben gezeigt, daß die oxidative Umwandlung nativer LDL-Partikel in Abhängigkeit von der Konzentration antioxidativ wirkender Substanzen auftritt. Zu den bedeutendsten wird gegenwärtig das Vitamin E gezählt, ein lipidlösliches Vitamin, das im Blut an Lipoproteine gebunden ist. Klinische Studien, die sich mit Beziehungen zwischen dem Vitamin E und der koronaren Herzkrankheit befaßten, beschränkten sich bisher vorwiegend auf die Bestimmung des absoluten Vitamin E im Serum oder auf die Berechnung der lipidstandardisierten Vitamin-E-Konzentration.

Untersuchungen zur Verteilung des Vitamin E zwischen den Lipoproteinen sind nur selten durchgeführt. Ziel der Arbeit war es daher zu überprüfen, ob bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit im Vergleich zu gesunden Kontrollen unterschiedliche Vitamin-E-Konzentrationen auftreten und inwieweit sich diese auf den Vitamin-E-Gehalt in den Lipoproteinen niederschlagen.

Material und Methodik

In die Studie wurden 36 Männer mit einem mittleren Alter von 58 ± 6 Jahren und einer angiographisch gesicherten koronarer 3-Gefäßerkrankung einbezogen. Die Kontrollgruppe bestand aus 32 gesunden männlichen Blutspendern, deren durchschnittliches Lebensalter 45 ± 8 Jahre betrug. Sowohl die Patienten als auch die Probanden waren normgewichtig und frei von Diabetes mellitus, Gicht sowie anderen Stoffwechselerkrankungen oder Endokrinopathien. In der Gruppe mit koronarer Herzkrankung waren im Rahmen der lipidsenkenden Therapie 13 Patienten auf ein Fibrat und 8 Patienten auf einen HMG-CoA-Reduktasehemmer eingestellt. Die durchschnittliche tägliche Nahrungsaufnahme betrug zwischen 2 000 und

2 500 Kcal, die Zusammensetzung bestand aus 50–55 % Kohlenhydraten, 20–25 % Protein und 20–30 % Fett. Die Koronarpatienten waren auf eine zusätzliche cholesterinarme Diät orientiert. Es erfolgten Nüchternblutentnahmen morgens nach 12stündiger Nahrungskarenz. Die Konzentrationsmessungen von Triglyceriden und Cholesterin im Serum wurden enzymatisch mittels Testkit der Fa. Boehringer Mannheim GmbH durchgeführt. Die LDL-Cholesterin- und HDL-Cholesterin-Bestimmungen erfolgten nach Zugabe der Fällungsreagenzien Polyvinylsulfat bzw. Phosphorwolframsäure ebenfalls enzymatisch. Vitamin E wurde als α -Tocopherol im Serum und in den präzipitierten HDL und LDL mittels HPLC mit elektrochemischer Detektion gemessen (3). Die Geräteparameter lauten wie folgt: Trennsäule: Hypersil ODS (250 x 4 mm) 5 μ m, Eluent: 63 % Acetonitril, 35 % Methanol, 2 % Wasser, Flußrate: 0,8 ml/min, elektrochemischer Detektor: Potential 1V, Leitelektrolyt: Lithiumperchlorat 0,01 mol/l und Probevolumen 20 μ l. Die Vitamin-E-Konzentration in den VLDL ergab sich als Differenz zwischen dem Vitamin E im Serum und dem in den HDL und LDL. Die statistische Auswertung erfolgte mit dem Programmpaket SPSS. Neben der deskriptiven Analyse wurden Mittelwertvergleiche mit dem U-Test nach Mann/Whitney durchgeführt.

Ergebnisse

Die von uns bestimmten Lipidparameter sind in Tabelle 1 dargestellt. In der Patientengruppe waren Gesamt-Cholesterin, LDL-Cholesterin und Triglyceride im Vergleich zur Kontrollgruppe signifikant erhöht, während das HDL-Cholesterin geringfügig vermindert war. Diese Befunde schlagen sich auch in den errechneten Lipidquotienten LDL-Cholesterin/HDL-Cholesterin und Gesamt-Cholesterin – HDL-Cholesterin/HDL-Cholesterin nieder, die in der Gruppe der Koronarpatienten signifikant erhöht waren. Der Vergleich der Vitamin-E-Spiegel im Serum ergab eine signifikante Verminderung in der Kontrollgruppe (Abb. 1). Dabei zeigte sich in beiden Kollektiven eine statistisch sicherbare Korrelation zwischen Vitamin E im Serum und dem Gesamt-Cholesterin, wobei im Kollektiv der gesunden Probanden eine engere Beziehung bestand ($r = 0,77$, $p = 0,001$) gegenüber $r = 0,35$, $p = 0,05$) (Abb. 2).

Die Ergebnisse der Vitamin-E-Bestimmung in den Lipoproteinen sind in Abbildung 3 dargestellt. Das Vitamin E in den LDL betrug bei den Koronarpatienten durchschnittlich 21,33 μ mol/l und war im Vergleich zum Kollektiv gesunder Probanden (15,93 μ mol/l) signifikant erhöht. Dieser Befund ließ sich auch für das Vitamin E in

Tab. 1 Lipidparameter bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und bei Gesunden (Mittelwerte \pm Standardabweichung, n = Anzahl, * = $p < 0,001$, + = $p < 0,05$)

	Kontrollgruppe n = 32	Patientengruppe n = 36
Cholesterin (mmol/l)	4,82 \pm 1,12	6,33 \pm 0,95 *
LDL-Cholesterin (mmol/l)	2,91 \pm 1,04	4,28 \pm 1,13 *
HDL-Cholesterin (mmol/l)	1,36 \pm 0,29	1,23 \pm 0,30 +
Triglyceride (mmol/l)	1,53 \pm 1,03	2,11 \pm 0,73 *
<u>LDL-Cholesterin</u>		
HDL-Cholesterin	2,25 \pm 0,99	3,70 \pm 1,43 *
<u>Ges-Cholesterin – HDL-Chol</u>		
HDL-Cholesterin	2,70 \pm 1,18	4,48 \pm 1,69 *

Tab. 2 Beziehungen zwischen Vitamin E in LDL und Vitamin E im Serum, Cholesterin und LDL-Cholesterin bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und bei Gesunden (r = Korrelationskoeffizient, p = Irrtumswahrscheinlichkeit)

	LDL-Vitamin E	
	Gesunde n = 32	Patienten n = 36
Vitamin E	$r = 0,82$ $p < 0,001$	$r = 0,83$ $p < 0,001$
Cholesterin	$r = 0,76$ $p < 0,001$	$r = 0,34$ $p < 0,05$
LDL-Cholesterin	$r = 0,77$ $p < 0,001$	$r = 0,26$ n.s.

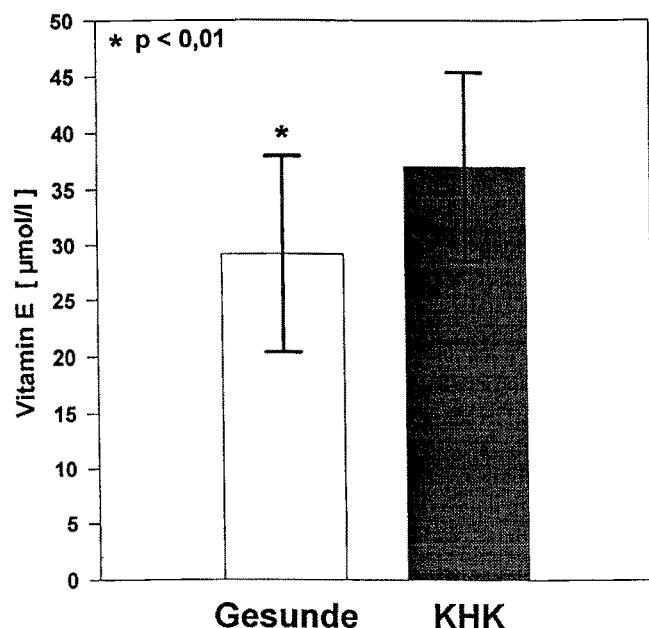


Abb. 1 Vitamin-E-Konzentration im Serum bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und bei Gesunden (p = Irrtumswahrscheinlichkeit).

den VLDL sichern (Patientengruppe 6,33 $\mu\text{mol/l}$ und Kontrollgruppe 4,17 $\mu\text{mol/l}$). Ein nicht signifikanter Unterschied bestand zwischen den mittleren Vitamin-E-Konzentrationen in den HDL (Patientengruppe 9,34 $\mu\text{mol/l}$ und Kontrollgruppe 9,06 $\mu\text{mol/l}$). Die Vitamin-E-Verteilung zwischen den Lipoproteinen zeigt Abbildung 4. Während in der Kontrollgruppe 53 % des Gesamt-Vit-

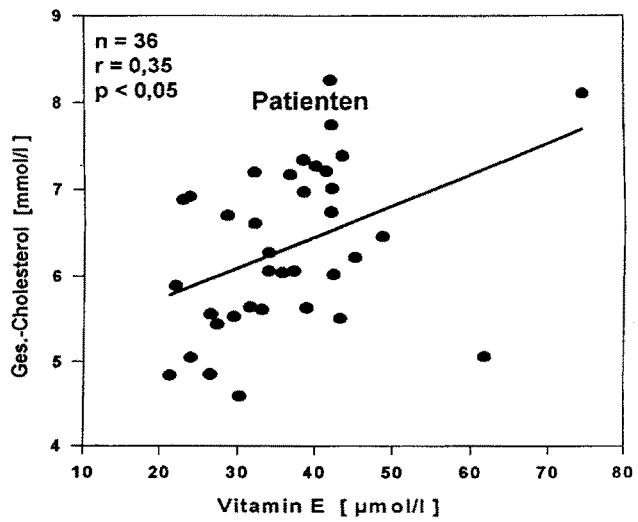
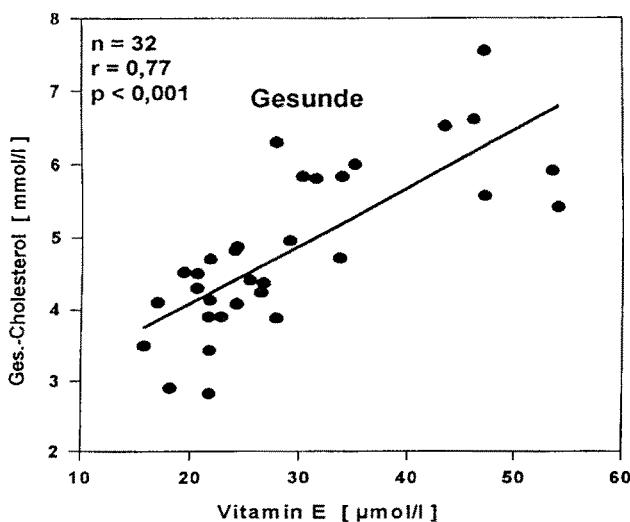


Abb. 2 Vitamin E im Serum und Gesamt-Cholesterin von Patienten mit koronarer Herzerkrankung und von Gesunden (r = Korrelationskoeffizient, n = Anzahl der untersuchten Probanden, p = Irrtumswahrscheinlichkeit).

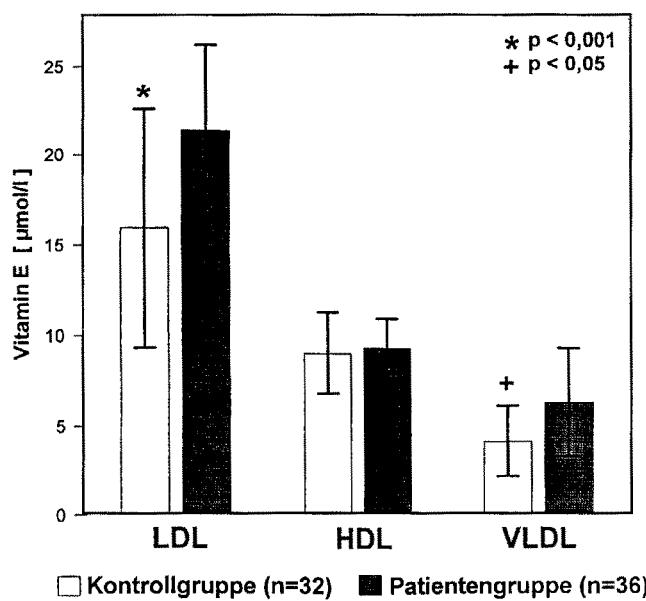
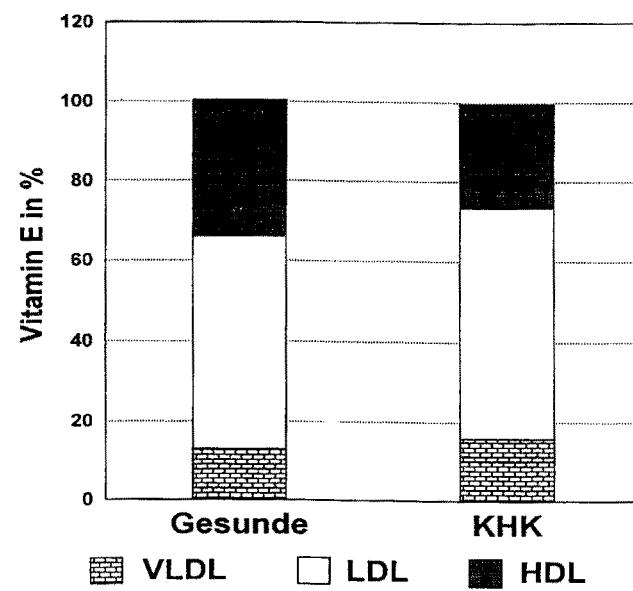


Abb. 3 Vitamin-E-Konzentration in den Lipoproteinen bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und bei Gesunden (p = Irrtumswahrscheinlichkeit).



amin E in den LDL, 34 % in den HDL und 13 % in den VLDL transportiert wurden, war das Vitamin E in der Patientengruppe zu 57 % an LDL, zu 26 % an HDL und zu 16 % an VLDL gebunden.

Die Überprüfung eventuell bestehender Einflüsse auf das Vitamin E in den LDL ergab in der Gruppe der Koronarpatienten eine Korrelation zur Konzentration von Gesamt-Vitamin E und Gesamt-Cholesterin, während bei den gesunden Probanden eine zusätzliche Beziehung zum LDL-Cholesterin gesichert werden konnte (Tab. 2). Die Berechnung des Quotienten Vitamin E/Cholesterin in den LDL ergab in der Patientengruppe einen geringfügig verminderten Wert, während der Ratio in den HDL signifikant erhöht war (Abb. 5).

Diskussion

Eine Störung der Balance zwischen radikalerzeugenden Prozessen und antioxidativen Schutzmechanismen wird zunehmend in der Pathogenese zahlreicher Krankheitsbilder diskutiert. Der oxidativen Modifikation von LDL wird eine wesentliche Rolle in der Entwicklung der Atherosklerose beigemessen. Vitamin E gilt als bedeutendes Antioxidans und wird im Blutplasma durch Lipoproteine transportiert. Eine alleinige Bestimmung der Vitamin-E-Konzentration im Serum ohne Berücksichtigung der Lipidparameter ist daher wenig sinnvoll und kann zu Fehlinterpretationen führen. So fanden wir überraschender-

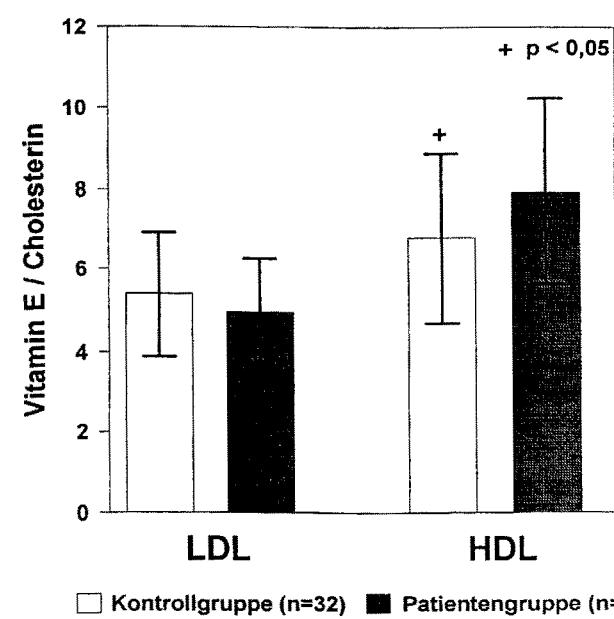


Abb. 5 Vitamin E/Cholesterin in den Lipoproteinen LDL und HDL bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung und bei Gesunden (p = Irrtumswahrscheinlichkeit).

weise im Kollektiv der Koronarpatienten höhere Vitamin-E-Konzentrationen als im gesunden Vergleichskollektiv. Auch wenn bisher nur wenige Untersuchungen zum Vitamin E bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit vorliegen, wurde bisher eher von einem verminderten (7) oder

unbeeinflußten (11, 15, 16) Plasmaspiegel berichtet. Der Unterschied im Vitamin E zwischen den beiden Kollektiven steht in Einklang mit der erhöhten Cholesterin-Konzentration in der Gruppe der Koronarpatienten. In beiden Kollektiven fand sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen Vitamin E und Cholesterin im Serum. Eine lipidstandardisierte Auswertung der Vitamin-E-Konzentration ist daher erforderlich und wird auch von anderen Autoren vorgeschlagen (4, 8). Die Resistenz der LDL gegenüber der oxidativen Modifizierung wird in zahlreichen Arbeiten in Abhängigkeit vom Vitamin-E-Gehalt in den LDL diskutiert. So setzte die Lipidperoxidation autoxidierter LDL erst nach deutlicher Verminderung der Vitamin-E-Konzentration in den LDL ein (6). Eine Supplementierung mit Vitamin E resultierte in einem Anstieg der Plasma- und LDL-Vitamin-E-Spiegel und verminderte die Anfälligkeit der LDL für eine Oxidation (9). Es erschien uns daher von Interesse zu überprüfen, ob bei koronarer Herzkrankheit Besonderheiten im Verteilungsmuster des Vitamin E zwischen den Lipoproteinen auftreten. Dabei zeigte sich, daß in der Patientengruppe geringfügig mehr Vitamin E an LDL und VLDL gebunden war, während deutlich weniger Vitamin E in die HDL-Fraktion transportiert wurde. Diese Veränderungen waren von einem Anstieg der absoluten Vitamin-E-Konzentration in den LDL begleitet, wobei in beiden Kollektiven ein positiver Zusammenhang zwischen Vitamin E im Serum und in den LDL bestand. Die Ergebnisse stehen in Einklang mit Befunden früherer Untersuchungen, wonach der Vitamin-E-Gehalt in den Lipoproteinen von der Konzentration dieser Lipoproteine beeinflußt wird. Die geschlechtsabhängigen Differenzen in der Vitamin-E-Ver-

teilung zwischen den Lipoproteinen verhalten sich parallel zu den höheren HDL-Konzentrationen bei Frauen (3, 14). Patienten mit Hypertriglyceridämie haben eine deutlich höhere Vitamin-E-Konzentration als Personen mit normwerten Triglyceriden (2). Bei Diabetikern war entsprechend dem Lipoproteinprofil der Vitamin-E-Spiegel in den LDL und VLDL erhöht und in den HDL vermindert (12). Mit der Bestimmung der absoluten Vitamin-E-Konzentration in den Lipoproteinen wird deren Abhängigkeit von der Lipoproteinkonzentration nur ungenügend berücksichtigt. Aussagekräftiger erscheint der Quotient Vitamin E/Cholesterin, der in der LDL-Fraktion bei den Koronarpatienten geringfügig vermindert war. Dieser Befund könnte zur Erklärung der beschriebenen gesteigerten Oxidationsanfälligkeit der LDL bei koronarer Herzkrankheit beitragen (5, 13). Das Verhältnis Vitamin E zu Cholesterin in den HDL war in der Patientengruppe signifikant erhöht. Ursächlich dafür kommt einerseits das gering verminderte HDL-Cholesterin bei den Koronarkranken in Betracht, anderseits scheint HDL zusätzlich, unabhängig von seinem Lipidgehalt, spezifische Bindungskapazitäten für Vitamin E zu besitzen (1). Die Ergebnisse bestätigen auch für Patienten mit koronarer Herzkrankheit den Zusammenhang zwischen Lipidkonzentration und dem Vitamin E. Zur Beurteilung des Vitamin-E-Status sollte die Konzentration in den Lipoproteinen gemessen werden und eine lipidbezogene Auswertung erfolgen. Eine Verminderung des Quotienten Vitamin E/Cholesterin in den LDL könnte Hinweis auf eine verminderte Resistenz der LDL gegenüber oxidativen Veränderungen sein und somit den Prozeß der Atherosklerose unterstützen.

Literatur

1. Behrens WA, Madere R (1985) Transport of alpha- and gamma-tocopherol in human plasma lipoproteins. *Nutr Res* 5:167-174
2. Bjornson LK, Kayden HJ, Miller E, Moshell AN (1976) The transport of alpha-tocopherol and beta-carotene in human blood. *J Lipid Res* 17:343-352
3. Carcelain G, David F, Lepage S, Bonnefont-Rousselot D, Legrand A, Peynet J, Troupel S (1992) Simple method for Quantifying alpha-tocopherol in low-density + very-low-density lipoproteins and in high-density-lipoproteins. *Clin Chem* 38:1792-1795
4. Chow CK (1985) Vitamin E and blood. *Wld Rev Nutr Diet* 45:133-166
5. Cominacini L, Garbin U, Pastorino AM, Davoli A, Campagnola M, De Santis A, Pasini C, Faccini GB, Trevisan MT, Bertozzo L, Pasini F, Lo Cascio V (1993) Predisposition to LDL oxidation in patients with and without angiographically established coronary artery disease. *Atherosclerosis* 99:63-70
6. Esterbauer H, Jürgens G, Quechenberger O, Koller E (1987) Autoxidation of human low density lipoprotein: loss of polyunsaturated fatty acids and vitamin E and generation of aldehydes. *J Lipid Res* 28:495-509
7. Gey KF, Brubacher GB, Stähelin HB (1987) Plasma levels of antioxidant vitamins in relation to ischemic heart disease and cancer. *Am J Clin Nutr* 45:1368-1377
8. Gey KF (1989) Plasma - Vitamine A und E invers zur Koronarmortalität korreliert. *Soz Praeventivmed* 34:78-80
9. Jialal I, Grundy SM (1992) Effect of dietary supplementation with alpha-tocopherol on the oxidative modification of low density lipoprotein. *J Lipid Res* 33:899-906
10. Kodama T, Freeman M, Rohrer L, Zabicky J, Matsudaira P, Krieger M (1990) Type I scavenger receptor contains alpha-helical and collagen-like coiled coils. *Nature* 343:531-535
11. Kok FJ, Poppel G, Melse J, Verheul E, Schouten EG, Kruyssen DHCM, Hofman A (1991) Do oxidants and polyunsaturated fatty acids have a combined association with coronary atherosclerosis? *Atherosclerosis* 31:85-90
12. Kokoglu E, Ulakoglu E (1991) The transport of vitamin E in plasma and its correlation to plasma lipoproteins in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *Diabetes Res Clin Pract* 14:175-181
13. Liu K, Cuddy TE, Pierce GN (1992) Oxidative status of lipoproteins in coronary disease patients. *Am Heart J* 123:285-290
14. Ogihara T, Miki M, Kitagawa M, Mino M (1988) Distribution of tocopherol among human plasma lipoproteins. *Clin Chim Acta* 174:299-306

-
15. Riemersma RA, Wood DA, Macintyre CCA, Elton RA, Gey KF, Oliver MF (1991) Risk of angina pectoris and plasma concentrations of vitamins A, C and E and carotene. *Lancet* 337:1–5
 16. Salonen JT, Salonen R, Penttila I, Heranen J, Jauhainen M, Kantola M, Lappetelainen R, Maenpaa PH, Alfthan G, Puska P (1985) Serum fatty acids, apolipoproteins, selenium and vitamin antioxidants and the risk of death from coronary artery disease. *Am J Cardiol* 56:226–231
 17. Sparrow CP, Parthasarathy S, Steinberg D (1989) A macrophage receptor that recognizes oxidized low-density lipoprotein but not acetylated low-density lipoprotein. *J Biol Chem* 264:2599–2604