

Falk Felix Frank Röder  
Dr. med.

## **Zusammenhang zwischen Cholesterin-Konzentration und Veränderungen der Plasma-Thiol-Konzentration und des Plasma-Thiol-Redox-Status bei Patienten mit Hyperlipidämie**

Geboren am 19.05.1973 in Karlsruhe  
Staatsexamen am 07.06.2002 an der Universität Heidelberg

Promotionsfach : Anatomie und Zellbiologie  
Doktorvater : Priv.-Doz. Dr. sc. hum. Ralf Kinscherf

Die Arteriosklerose stellt eine der Hauptursachen für Morbidität und Mortalität in westlichen Ländern dar. Die Hyperlipidämie gilt als der wichtigste Risikofaktor für ihre Entwicklung. Es gibt zunehmend Hinweise, dass oxidativer Stress, also das vermehrte Auftreten reaktiver sauerstoffhaltiger Moleküle aufgrund einer vermehrten Bildung und/oder einer verminderten antioxidativen Abwehr bei der Pathophysiologie der Arteriosklerose, insbesondere unter hyperlipidämischen Bedingungen, eine Rolle spielt. So scheint oxidativer Stress nicht nur an der Bildung von oxLDL und am Auftreten einer endothelialen Dysfunktion beteiligt zu sein, sondern über die Aktivierung redox-regulierter Signalwege auch an weiteren pathologischen Veränderungen, wie z.B. der Expression membranständiger Adhäsionsmoleküle für MNZ, mitzuwirken. MNZ gelten als wichtige zelluläre Elemente der Arteriosklerose und scheinen an allen Phasen der Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen beteiligt zu sein. Der menschliche Organismus verfügt über antioxidative Systeme, welche in der Lage sind reaktive sauerstoffhaltige Moleküle zu entgiften; dazu gehören niedrigmolekulare Substanzen wie Glutathion in MNZ und Thiole im Plasma. Der intrazelluläre Glutathion-Redox-Status in MNZ und der Plasma-Thiol-Redox-Status, die sich aus der Interaktion von Oxidantien mit diesen Systemen ergeben, gelten somit als wichtige Maße für das Auftreten von oxidativem Stress in den entsprechenden Kompartimenten. Die Verfügbarkeit bestimmter Aminosäuren, insbesondere Cystein, spielt eine entscheidende Rolle bei der Aufrechterhaltung der genannten antioxidativen Systeme. Außerdem wurden Veränderungen der Plasma-Konzentrationen verschiedener Aminosäuren als unabhängige Risikofaktoren für die Entwicklung der Arteriosklerose identifiziert. Ziel der Arbeit war es deshalb, zu klären, ob unter hyperlipidämischen Bedingungen Veränderungen des Plasma-Thiol- bzw. des intrazellulären Glutathion-Redox-Status in MNZ bestehen, ob dabei Veränderungen der Plasma-Konzentrationen verschiedener Aminosäuren, insbesondere Cystein, eine Rolle spielen und ob ein Zusammenhang zwischen den individuellen Konzentrationen der genannten Parameter mit den individuellen Konzentrationen einzelner Lipidfraktionen oder untereinander besteht. Zu diesem Zweck wurden 12 hyperlipidämische Patienten (Gruppe 1+2), davon 5 Patienten ohne weitere kardiovaskuläre Risikofaktoren (Gruppe 1) sowie 7 Patienten mit Diabetes mellitus und/oder Nikotinabusus (Gruppe 2), als auch 17 normolipidämische Probanden (Kontrolle) in die Studie eingeschlossen. Die Bestimmung der Cholesterin-, Triglycerid-, LDL- und HDL-Konzentrationen im Nüchternplasma erfolgte im Rahmen der klinischen Routine. Zur Isolierung der MNZ

wurde eine Ficoll-Dichtegradienten-Zentrifugation eingesetzt. Die Bestimmung der GSH- und GSSG-Konzentrationen erfolgte photometrisch. Der intrazelluläre Glutathion-Redox-Status wurde gemäß der Formel  $[\text{rGSH}]^2/[\text{GSSG}]$  berechnet. Die Bestimmung der Plasma-Thiol-Konzentration erfolgte photometrisch, die Plasma-Aminosäuren-Konzentrationen wurden mittels HPLC bestimmt. Für die Bestimmung der Plasma-Homocystein-Konzentration wurde ein kommerziell verfügbarer Assay verwendet. Der Plasma-Thiol-Redox-Status wurde nach der Formel  $[\text{Thiol}]^2/[\text{Cystin}]$  berechnet. Das Alter der hyperlipidämischen Patienten und der Kontrolle war im Mittel vergleichbar. Gemäß den Einschlusskriterien hatten hyperlipidämische Patienten im Vergleich zur Kontrolle signifikant erhöhte Gesamtcholesterin-, LDL- und Triglycerid- sowie erniedrigte HDL-Konzentrationen. Bei hyperlipidämischen Patienten fanden wir erstmals eine verminderte Plasma-Thiol-Konzentration, einen signifikant verminderten Plasma-Thiol-Redox-Status sowie erhöhte Plasma-Taurin- und -Glutamat-Spiegel. Die Plasma-Homocystein-Konzentration war bei den normo- und hyperlipidämischen Patientenkollektiven vergleichbar. In MNZ der hyperlipidämischen Patienten war der intrazelluläre Glutathion-Redox-Status erniedrigt. Die individuellen Plasma-Thiol-Konzentrationen und der Plasma-Thiol-Redox-Status korrelierten signifikant positiv mit den HDL- und signifikant invers mit den Gesamtcholesterin-, LDL-, und Triglycerid-Spiegeln. Die individuellen Plasma-Taurin-Konzentrationen korrelierten signifikant invers mit den HDL- und signifikant positiv mit den Gesamtcholesterin-, LDL-, und Triglycerid-Konzentrationen. Weiterhin korrelierten die individuellen Plasma-Glutamat-Konzentrationen signifikant positiv mit den Gesamtcholesterin-, LDL-, und Triglycerid-Spiegeln und signifikant invers mit den Plasma-Thiol-Konzentrationen. Unsere Befunde zeigen erstmals, dass bei hyperlipidämischen Patienten eine prooxidative Verschiebung sowohl im Plasma als auch in MNZ vorzuliegen scheint. Da diese Verschiebung mit einer Erniedrigung der Plasma-Thiol-(Cystein)-Konzentration bei gleichzeitiger Erhöhung der Plasma-Taurin-Konzentration einhergeht und Cystein hepatisch zu Taurin metabolisiert werden kann, besteht möglicherweise ein Zusammenhang zwischen den Veränderungen der Plasma-Thiol-(=Cystein)-Konzentration bzw. des Plasma-Thiol-Redox-Status und den erhöhten Plasma-Taurin-Konzentrationen. Die Beobachtung eines verminderten intrazellulären Glutathion-Redox-Status in MNZ könnte auf einer verminderten Verfügbarkeit von Cystein, dem limitierenden Baustein der GSH-Synthese, beruhen. Tierexperimentell konnte gezeigt werden, dass die ohnehin limitierte Versorgung mit Cystein durch erhöhte extrazelluläre Glutamat-Konzentrationen gehemmt werden kann. Somit könnten niedrige Plasma-Thiol-(=Cystein)- bei erhöhten -Glutamat-Konzentrationen über eine verminderte intrazelluläre Cysteinverfügbarkeit zu einer Beeinträchtigung des intrazellulären Glutathion-Redox-Status führen. Da abnormal hohe LDL- und niedrige HDL-Spiegel mit einem erhöhten Risiko einer KHK assoziiert, die verantwortlichen Mechanismen der Veränderungen der Lipid-Spiegel aber im Detail nicht geklärt sind, könnten unsere Befunde einer positiven Korrelation der Plasma-Thiol-Konzentration bzw. des Plasma-Thiol-Redox-Status mit der HDL-Konzentration und inverser Korrelationen mit der Gesamtcholesterin-, LDL- und Triglycerid-Konzentration in Verbindung mit der früheren Beobachtung, dass die HDL-Konzentration durch N-Acetyl-Cystein gesteigert werden kann, auf einen Zusammenhang zwischen der Plasma-Thiol-Konzentration bzw. des Plasma-Thiol-Redox-Status und den genannten Lipidparametern hindeuten. Es besteht somit eine hohe Wahrscheinlichkeit für einen kausalen Zusammenhang zwischen Veränderungen des Plasma-Thiol-Redox-Status und der Entwicklung einer Arteriosklerose unter hyperlipidämischen Bedingungen. Da das Auftreten von oxidativem Stress auch für die meisten anderen Risikofaktoren der Arteriosklerose beschrieben wurde, könnte die Störung des Plasma-Thiol-Redox-Status

möglicherweise ein gemeinsames pathophysiologisches Element verschiedener Risikofaktoren darstellen und eine Rationale für den Einsatz von NAC oder ähnlichen antioxidativen Substanzen zur Prävention und Therapie kardiovaskulärer Erkrankungen bilden.