

Aus der Medizinische Klinik m.S. Kardiologie der Medizinischen  
Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Untersuchungen zur Prädiktion kardiovaskulärer Ereignisse  
bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und akuten  
kardiovaskulären Erkrankungen durch Messung von  
Vollblut-Cholin mittels Hochleistungsflüssigchromatographie  
Massenspektrometrie**

Zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Herrn HOLGER CONRAD  
aus Zwönitz (Sachsen)

Gutachter: 1. Priv.-Doz. Dr. med. M. Möckel  
2. Prof. Dr. med. R. Tauber  
3. Prof. Dr. med. T. Störk

Datum der Promotion: 19.09.08

## INHALTSVERZEICHNIS

### I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS

### II. ABBILDUNGSVERZEICHNIS

### III. TABELLENVERZEICHNIS

### IV. FORMELVERZEICHNIS

<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>10</b>
1.1	RENALE DYSFUNKTION UND CHRONISCHE NIERENINSUFFIZIENZ ..	10
1.2	ARTERIOSKLEROSE BEI RENALER DYSFUNKTION UND CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ .....	15
1.2.1	<i>Pathophysiologie der Arteriosklerose .....</i>	16
1.2.2	<i>Arteriosklerotische Plaque .....</i>	18
1.2.3	<i>Phospholipase D (PLD) .....</i>	19
1.2.4	<i>Vollblut-Cholin (WBCHO) .....</i>	22
1.2.4.1	Vollblut-Cholin bei reduzierter Nierenfunktion .....	22
1.2.4.2	Vollblut-Cholin bei kardiovaskulären Ereignissen .....	24
1.3	DIAGNOSTIK UND RISIKOSTRATIFIZIERUNG DES AKUTEN KORONARSYNDROMS BEI RENALER DYSFUNKTION UND CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ .....	27
1.3.1	<i>Das akute Koronarsyndrom (ACS) .....</i>	27
1.3.2	<i>„Klassische“ bzw. „traditionelle“ Risikofaktoren für kardiale Ereignisse bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz .....</i>	29
1.3.2.1	Arterielle Hypertonie .....	30
1.3.2.2	Diabetes mellitus .....	32
1.3.2.3	Hyper- und Dyslipidämie .....	33

1.3.3	<i>„Nichttraditionelle“ bzw. „CKD-verwandte“ Risikofaktoren für kardiale Ereignisse bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz</i>	34
1.3.3.1	Reduzierte GFR .....	34
1.3.3.2	Erhöhtes Kreatinin .....	35
1.3.3.3	Chronische Niereninsuffizienz .....	36
1.3.3.4	Art der chronischen Niereninsuffizienz .....	37
1.3.3.5	Hyperhomocysteinämie .....	38
1.3.3.6	Hyperphosphatämie .....	38
1.3.3.7	Männliches Geschlecht .....	39
1.3.3.8	Erhöhtes Alter .....	39
1.3.3.9	Schwarze (afrikanische) Rasse .....	40
1.3.3.10	Proteinurie .....	41
1.3.3.11	Malnutrition .....	42
1.3.3.12	Extrazelluläre Volumenbelastung/aktiviertes Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) .....	43
1.3.3.13	Entzündung und oxidativer Stress .....	43
1.3.3.14	Gesteigerte Koagulation .....	44
1.3.3.15	Anämie .....	45
1.3.4	<i>Biochemische Risikomarker für kardiovaskuläre Ereignisse bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz</i> .....	45
1.3.4.1	Troponin .....	47
1.3.4.2	B-Typ natriuretisches Peptid .....	49
1.3.4.3	C-reaktives Protein .....	50
1.3.4.4	Weitere Marker .....	51

1.3.5	<i>Kardiovaskuläre Ereignisse bei verschiedenen Schweregraden chronischer Nierenfunktionseinschränkungen und deren Marker</i> .....	52
<b>2</b>	<b>FRAGESTELLUNG</b> .....	<b>57</b>
<b>3</b>	<b>MATERIAL UND METHODIK</b> .....	<b>58</b>
3.1	STUDIEN-PROTOKOLL .....	58
3.1.1	<i>Genehmigung der Ethikkommission</i> .....	58
3.1.2	<i>Auswahl der Patienten</i> .....	58
3.1.3	<i>Probengewinnung</i> .....	59
3.1.4	<i>Probenvorbereitung</i> .....	60
3.2	TRENN- UND ANALYSEVERFAHREN .....	61
3.2.1	<i>Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)</i> .....	61
3.2.2	<i>Massenspektrometrie (MS) mit dem Kopplungssystem Elektrospray-Ionisation (ESI)</i> .....	64
3.2.3	<i>Systemaufbau</i> .....	68
3.2.4	<i>Probenmessung</i> .....	69
3.3	STATISTISCHE ANALYSEN .....	71
<b>4</b>	<b>ERGEBNISSE</b> .....	<b>72</b>
4.1	PATIENTEN-CHARAKTERISTIKA .....	72
4.2	VOLLBLUT-CHOLIN UND GLOMERULÄRE FILTRATIONSRATE .....	74
4.3	VOLLBLUT-CHOLIN BEI AUSGEWÄHLTEN PATIENTEN- CHARAKTERISTIKA .....	76
4.4	VOLLBLUT-CHOLIN UND KARDIOVASKULÄRE EREIGNISSE .....	77
4.5	VOLLBLUT-CHOLIN BEI RENALER DYSFUNKTION UND CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ .....	81

4.6	VOLLBLUT-CHOLIN BEI UNTERSCHIEDLICHEN URSACHEN VON RENALER DYSFUNKTION UND CHRONISCHER NIERENINSUFFIZIENZ .....	86
4.7	MULTIVARIATE ANALYSE VON VOLLBLUT-CHOLIN UND ANDEREN EINFLUSSVARIABLEN .....	91
<b>5</b>	<b>DISKUSSION .....</b>	<b>92</b>
5.1	DISKUSSION DER FRAGESTELLUNG .....	92
5.2	DISKUSSION DER METHODIK .....	97
5.3	DISKUSSION DER ERGEBNISSE .....	99
<b>6</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>117</b>
<b>7</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>119</b>
<b>8</b>	<b>DANKSAGUNG .....</b>	<b>142</b>
<b>9</b>	<b>LEBENS LAUF .....</b>	<b>143</b>
<b>10</b>	<b>SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG .....</b>	<b>144</b>

**I. ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS**

ACS	Acute Coronary Syndrome (akute Koronarsyndrom)
AHA	American Heart Association
AMI	Akuter Myokardinfarkt
AP	Angina Pectoris
CHF	Congestive Heart Failure (hypervolämisches Herzversagen)
CK/CK-MB	Kreatinkinase (gesamt)/Kreatinkinase der MB-Fraktion
CKD	Chronic Kidney Disease (chronische Niereninsuffizienz)
CRP	C-reaktives Protein
CVD	Cardiovascular Disease (kardiovaskuläre Erkrankung)
DAD	Dioden Array Detektor
ESI	Elektrospray-Ionisation
ESRD	End-Stage Renal Disease (Dialyse- oder Transplantationspflichtiges Endstadium der chronischen Niereninsuffizienz)
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HR/OR	Hazard Ratio/Odds Ratio
HDL/IDL/LDL/ VLDL	High/Intermediate/Low/Very Low Density Lipoprotein (Lipoprotein mit hoher/mittlerer/geringer/sehr geringer Dichte)
(RP-)HPLC	(Reversed Phase) High Performance Liquid Chromatography (Umkehrphasen-) Hochleistungsflüssigchromatographie
HRST	Herzrhythmusstörung
kDa	Kilodalton
KHK	Koronare Herzkrankheit
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MS	Massenspektrometrie/Massenspektrometer
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
PEP	Primärer Endpunkt
PLD (A, B, C)	Phospholipase D (A, B, C)
PTCA	Percutaneous Transluminal Coronary Angioplasty (Perkutane transluminale Koronarangioplastie)
WBCHO	Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin)
95%CI	95% Konfidenzintervall

**II. ABBILDUNGSVERZEICHNIS**

Abbildung 1	Enzymatische Spaltung der Phospholipide durch Phospholipasen.
Abbildung 2	Wirkung von Phospholipase D an der Phospholipiddoppelmembran.
Abbildung 3	3-Hydroxyethyltrimethylammonium (Cholin).
Abbildung 4	Umkehrphasenhochleistungsflüssigchromatographie (RP-HPLC).
Abbildung 5	Schematische Schaltfolge der Trenn- und Analyseapparatur.
Abbildung 6	Elektrospray-Ionisation (ESI) und Massenspektrometrie (MS).
Abbildung 7	Histogramme der Häufigkeitsverteilungen von WBCHO und GFR aller eingeschlossenen Studien-Patienten, von denen beide Werte vorlagen.
Abbildung 8	Streudiagramm von WBCHO gegen GFR aller eingeschlossenen Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion (GFR <90 mL/min [K/DOQI II – V]).
Abbildung 9	„Hazard Ratio's“ für den primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) der Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz bei verschiedenen Cutoff-Konzentrationen von WBCHO.
Abbildung 10	„Hazard Ratio's“ für die einzelnen Endpunkte (Tod, AMI oder Revaskularisation) bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz und einer Cutoff-Konzentration für WBCHO $\geq 40$ $\mu\text{mol/L}$ .
Abbildung 11	Kaplan-Maier-Kurven für die Inzidenz der Endpunkte primärer Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation), Tod, AMI und Revaskularisation bei einem WBCHO-Cutoff $\geq 40,0$ $\mu\text{mol/L}$ und einem Beobachtungszeitraum von 42 Tagen.
Abbildung 12	„Box-and-Whiskers-Plot“ für WBCHO der Gruppe der Patienten mit leichter Einschränkung der GFR (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]; n = 112) und der Gruppe der Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]; n = 115).
Abbildung 13	„Hazard Ratio's“ für den kombinierten primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) und die einzelnen Endpunkte bei unterschiedlichen Schweregraden der Nierenfunktionseinschränkung nach K/DOQI und einer Cutoff-Konzentration für WBCHO $\geq 40$ $\mu\text{mol/L}$ .
Abbildung 14	Kaplan-Maier-Kurven für die Inzidenz der primären Endpunkte (Tod, AMI oder Revaskularisation) bei leichter (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]) und mittlerer bis starker (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]) Einschränkung der GFR, einem WBCHO-Cutoff $\geq 40,0$ $\mu\text{mol/L}$ und einem Beobachtungszeitraum von 42 Tagen.
Abbildung 15	„Box-and-Whiskers-Plot“ für WBCHO der Gruppe der Patienten mit diabetischer Nephropathie (n = 80) und der Gruppe der Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie (n = 145).



Abbildung 16	„Hazard Ratio's“ für den kombinierten primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) und die einzelnen Endpunkte bei diabetischer und nichtdiabetischer Nephropathie und einer Cutoff-Konzentration für WBCHO $\geq 40$ $\mu\text{mol/L}$ .
Abbildung 17	Kaplan-Maier-Kurven für die Inzidenz der primären Endpunkte (Tod, AMI oder Revaskularisation) bei nichtdiabetischer und diabetischer Nephropathie, einem WBCHO-Cutoff $\geq 40,0$ $\mu\text{mol/L}$ und einem Beobachtungszeitraum von 42 Tagen.

### III. TABELLENVERZEICHNIS

Tabelle 1	Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz nach der Klassifikation der „National Kidney Foundation, Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease“ (K/DOQI).
Tabelle 2	Faktoren, welche auf die Konzentration von Kreatinin im Blut Einfluss nehmen.
Tabelle 3	Einteilung und Nomenklatur der arteriosklerotischen Läsionen nach Stryer bzw. der „American Heart Association“ (AHA).
Tabelle 4	Bei Aufnahme ins Krankenhaus bzw. Einschluss in die Studie erhobene Patienten-Daten.
Tabelle 5	Demographische und klinische Charakteristika der 229 Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz.
Tabelle 6	WBCHO-Konzentrationen bei Vorhandensein/Nichtvorhandensein ausgewählter Patienten-Charakteristika.
Tabelle 7	Erreichte und nicht erreichte Endpunkte der 227 Studien-Patienten mit WBCHO-Wert und „Follow-up“ über 42 Tage.
Tabelle 8	Patienten-Charakteristika der Kollektive mit leichter (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]) und mittlerer bis starker (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]) Einschränkung der GFR.
Tabelle 9	Patienten-Charakteristika der Kollektive mit nichtdiabetischer und diabetischer Nephropathie.
Tabelle 10	Multivariate Analyse verschiedener wichtiger Einflussvariablen für den primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) innerhalb eines Beobachtungszeitraums der Patienten von 42 Tagen.

### IV. FORMELVERZEICHNIS

Formel 1	Abschätzung der „Clearance“.
Formel 2	Abschätzung der Kreatinin-Clearance nach Cockcroft und Gault.
Formel 3	Abschätzung der GFR nach der überarbeiteten MDRD-Formel.

## 1 EINLEITUNG

### 1.1 Renale Dysfunktion und chronische Niereninsuffizienz

Definiert wird eine chronische Nierenerkrankung als jede Schädigung der Nieren, die länger als 3 Monate andauert. Eine chronische Störung der Nierenfunktion wird, abhängig vom Grad der Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate (GFR), in renale Dysfunktion und chronische Niereninsuffizienz unterteilt. Eine renale Dysfunktion besteht bei einer chronischen Einschränkung der Nierenfunktion auf eine GFR größer oder gleich  $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$ . Die Diagnose chronische Niereninsuffizienz („Chronic Kidney Disease“; CKD) darf nach Festlegung der „National Kidney Foundation“ gestellt werden, wenn für drei oder mehr Monate eine glomeruläre Filtrationsrate von weniger als  $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  besteht <sup>1</sup>. In Europa liegt die Inzidenz der chronischen Niereninsuffizienz bei etwa 6 – 7 pro 100000 Personen im Jahr. Am häufigsten, ungefähr in 30 – 40% der Fälle, ist die Ursache der chronischen Niereninsuffizienz ein Diabetes mellitus. Danach folgen mit je etwa 15% arterielle Hypertonie, Glomerulonephritis und renovaskuläre Erkrankungen. Etwas weniger häufig ist die Ursache eine interstitielle Nephritis oder chronische Pyelonephritis, eher selten sind es Zystennieren, eine Analgetikanephropathie oder Systemkrankheiten wie Vaskulitiden oder Kollagenosen. Chronische Nierenfunktionsstörungen können sich durch eine Vielzahl von Symptomen bemerkbar machen, deren Auftreten abhängig vom Stadium ist. Genannt seien hier als Stichpunkte diverse Allgemeinsymptome, eine Herzkreislaufsymptomatik, gekennzeichnet durch arterielle Hypertonie und Neigung zu Arrhythmien, Neigung zu Pneumonien, Gerinnungsstörungen, renale Anämie durch Erythropoietinmangel sowie erhöhte Infektneigung und Osteomalazie mit erhöhtem Frakturrisiko durch verminderte  $1,25\text{-(OH)}_2\text{-Vitamin-D}_3\text{-Synthese}$ . Die Stadieneinteilung chronischer Nierenfunktionsstörungen orientiert sich an der Höhe der GFR und erfolgt nach Klassifikation der „Kidney Disease Outcome Quality Initiative Guidelines“ (K/DOQI) der „National Kidney Foundation“ <sup>2</sup> (Tabelle 1). Eine Reduktion der GFR auf  $60 - 89 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  (K/DOQI II) wird in dieser Arbeit als „leichte“, eine Reduktion der GFR auf weniger als  $60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  (K/DOQI III – IV) als „mittlere bis starke“ Nierenfunktionseinschränkung bezeichnet.

Tabelle 1: Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz nach der Klassifikation der „National Kidney Foundation, Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease“ (K/DOQI).

Stadien und ihre Bezeichnung		charakteristische Merkmale
<b>I</b>	kompensierte Niereninsuffizienz (= Latenzstadium)	Retentionswerte nicht erhöht GFR >90 mL/min
<b>II</b>	Stadium der vollen Kompensation	Glomerulumfiltrat vermindert Kreatinin noch annähernd im Normbereich GFR 60 – 89 mL/min
<b>III</b>	Niereninsuffizienz im Stadium der kompensierten Retention	noch keine klinische Symptomatik GFR 30 – 59 mL/min
<b>IV</b>	Stadium der dekompenzierten Retention (= präterminale Niereninsuffizienz)	Retentionswerte erhöht klinische Symptomatik vorhanden GFR 15 – 29 mL/min
<b>V</b>	Endstadium, Urämie (= terminale Niereninsuffizienz)	Niere nicht mehr funktionsfähig, Dialyse oder Transplantation zwingend erforderlich GFR <15 mL/min

GFR = glomeruläre Filtrationsrate.

Zur Kontrolle der Nierenfunktion in Gesundheit wie Krankheit ist die Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) gebräuchlich, die angibt, wie viel der 1200 Milliliter Blut, die pro Minute beide Nieren durchströmen, in den Glomerula gefiltert und mit den harnpflichtigen Substanzen in den Primärharn überführt werden. Der gesunde junge Erwachsene hat eine GFR von ungefähr 110 – 140 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, welche von Geschlecht und „Body-Mass-Index“ (BMI) abhängig ist. Mit zunehmendem Alter sinkt die GFR sukzessiv ab, pro Lebensjahrzehnt ungefähr um 7 – 12 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>. Der Bezug auf die Körperoberfläche erklärt sich daraus, dass die Nierenfunktion in absoluten Größen sich in etwa proportional zur Körperoberfläche verhält. Eine Abnahme der GFR ist ein Hinweis auf eine sich verschlechternde Nierenfunktion, eine permanent erniedrigte GFR ein eindeutiger Hinweis auf eine bestehende chronische Niereninsuffizienz<sup>3</sup>. Ab einer GFR von ungefähr 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> steigt die Wahrscheinlichkeit des Auftretens der typischen Nebenwirkungen stark an. Bei vielen Nierenerkrankungen und Bestehen bestimmter Risikofaktoren sinkt die GFR ab<sup>3,4,5,6</sup>, wobei die Abnahme über die Zeit eine relativ große Schwankungsbreite zwischen Patienten mit gleicher Ursache der Nierenfunktionseinschränkung aufweist, für den einzelnen Patienten pro Jahr aber relativ konstant ist<sup>3</sup>. Die Einschränkung der GFR

beträgt bei den meisten Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz 2 – 12 mL/min/1,73 m<sup>3</sup> pro Jahr, es sind aber auch nicht lineare Verläufe bekannt. Eine Senkung der GFR ist mit einem erhöhten Risiko verbunden, die Endpunkte Tod und Myokardinfarkt zu erreichen <sup>7</sup>. Die GFR direkt zu messen, ist in der normalen Klinik nicht möglich. Indirekt ist sie aber über die Berechnung des Klärwerts („Clearance“; Formel 1) abzuschätzen, dem Verhältnis von pro Zeiteinheit ausgeschiedener Substanzmenge zur Plasma-Konzentration der jeweiligen Substanz.

Formel 1: Abschätzung der „Clearance“.

$$\text{Clearance}_x = \frac{V_U \times [X]_U}{[X]_P} \quad [\text{mL/min bzw. L/d}]$$

V = Volumen; U = Urin; X = Substanz; P = Plasma.

Als Marker zur Bestimmung der „Clearance“ werden exogene Stoffe wie Inulin, Na<sup>+</sup>-Iothalamat oder DTPA (Diethylentriaminopentaacetat) benutzt, welche in die Gefäße injiziert und bei Nierenpassage filtriert und mit dem Urin ausgeschieden werden. Für die normale klinische Praxis sind sie wegen des vergleichsweise aufwendigen Gebrauchs aber ungeeignet. Hier kommen bevorzugt körpereigene Marker zur Anwendung. Vorzugsweise Kreatinin, ein harnpflichtiges Stoffwechselprodukt, welches irreversibel aus Kreatin im Muskelgewebe entsteht. Anders als viele exogene Substanzen, welche überwiegend mittels Filtration aus dem Blut entfernt werden, wird Kreatinin nicht nur glomerulär filtriert, sondern zusätzlich auch tubulär und extrarenal sekretiert. Die Menge von produziertem Kreatinin ist mit etwa einem Gramm pro 24 Stunden relativ konstant und hält bei normaler Nierentätigkeit eine Konzentration von ungefähr 0,57 – 1,24 mg/dL (80 µmol/L) im Blut-Plasma aufrecht. Verschiedene Faktoren können die Konzentration von Kreatinin im Blut beeinflussen (Tabelle 2). Kreatinin im Serum kann die GFR nur unzureichend widerspiegeln und lässt eine diagnostische Lücke bestehen (Kreatinin-blinder Bereich).

Tabelle 2: Faktoren, welche auf die Konzentration von Kreatinin im Blut Einfluss nehmen.

Faktor	Erklärung
Konzentration von Kreatinin im Serum ist hoch bzw. steigt an:	
afrikanische Rasse	höhere Muskelmasse vorhanden als bei anderen Rassen
reichhaltiger Fleisch- bzw. Proteinverzehr	erhöhte exogene Zufuhr
Muskeltraining	erhöhte Freisetzung von Kreatinin durch Mikrotrauma
Ketoazidose	verminderte tubuläre Sekretion
diverse Medikamente	verminderte tubuläre Sekretion (z.B. Trimethoprim)
Konzentration von Kreatinin im Serum ist tief bzw. sinkt ab:	
erhöhtes Alter	verminderte Muskelmasse ab ungefähr 30. Lebensjahr
weibliches Geschlecht	geringere Muskelmasse vorhanden als beim Mann
vegetarische Diät	verminderte exogene Zufuhr
Mangelernährung	verminderte exogene Zufuhr

Die Bestimmung der GFR anhand der Kreatinin-Clearance erfolgt traditionell nach der Formel von Cockcroft und Gault<sup>8</sup>. Häufig wird sie durch einen geschlechtsabhängigen Korrekturfaktor ergänzt, da Männer im Mittel eine größere Muskelmasse als Frauen besitzen und deshalb eine höhere Kreatinin-Konzentration aufweisen. Für Alter, Gewicht und Rasse sind gleichfalls Korrekturfaktoren gebräuchlich. Vornehmlich die unpraktikable Gewinnung von 24-Stunden-Sammelurin macht die Bestimmung der GFR anhand der Kreatinin-Clearance zu einer aufwendigen und fehlerbehafteten Methode. In der vorliegenden Arbeit wurde Kreatinin im Serum bestimmt und zur Abschätzung der Nierenfunktion fand die Formel nach Cockcroft und Gault Anwendung (Formel 2).

Formel 2: Abschätzung der Kreatinin-Clearance nach Cockcroft und Gault.

$$\text{Kreatinin-Clearance} = \frac{\text{Urin-Kreatinin}}{\text{Serum-Kreatinin} \times \text{Urinvolumen}} \quad [\text{mL/min bzw. L/d}]$$

Serum-Kreatinin [mg/dL]; Urin-Kreatinin [mg/dL]; Urinvolumen [mL/1440 Minuten].

In jüngerer Zeit gelangt zur Abschätzung der GFR bevorzugt die so genannte MDRD-Formel zur Anwendung, welche von Levey A.S. et al. <sup>9</sup> aus den Daten der „Modification of Diet in Renal Disease“ Studie (MDRD-Studie) entwickelt wurde und wie die Formel von Cockcroft und Gault auf der Kreatinin-Konzentration im Serum basiert. In der zunächst publizierten (langen) Version der Formel werden neben Kreatinin im Serum die Items Alter, Geschlecht, Rasse, Albumin im Serum und Harnstoff im Serum einbezogen. In der überarbeiteten (kurzen) Version, welche die GFR vergleichbar gut einzuschätzen vermag wie die ursprüngliche Formel, werden nur noch Kreatinin im Serum, Alter, Geschlecht und Rasse berücksichtigt (Formel 3). Aufgrund ihrer unproblematischeren Anwendung hat sich die vereinfachte MDRD-Formel heute praktisch durchgesetzt. Ihre höchste Verlässlichkeit liegt im Bereich einer GFR von 20 bis 70 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, was sie besonders zur Verlaufskontrolle bei Patienten mit Niereninsuffizienz geeignet macht.

Formel 3: Abschätzung der GFR nach der überarbeiteten MDRD-Formel.

$$\begin{aligned} \text{GFR} &= 186 \times (\text{Serum-Kreatinin} / 0,95)^{-1,154} && [\text{mL/min bzw. L/d}] \\ &\times (\text{Alter})^{-0,203} \\ &\times (0,742 \text{ bei Frauen}) \\ &\times (1,21 \text{ bei Patienten afrikanischer Rasse}) \end{aligned}$$

GFR = Glomeruläre Filtrationsrate; MDRD = Modification of Diet in Renal Disease.

## 1.2 Arteriosklerose bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz

Bei der Arteriosklerose unterscheidet man die Atherosklerose, die Arteriosklerose und die Mönckeberg-Arteriosklerose. Sie kommt in allen Gefäßen vor, an kleinen muskulären Arterien und Arteriolen (Arteriosklerose) wie auch großen Gefäßen (Atherosklerose), weshalb sie Auswirkungen auf alle Organe besitzt. Sie ist in westlichen Industrieländern die Hauptursache für Morbidität und Mortalität. Neben der koronaren Herzkrankheit (KHK), an der in Westeuropa jährlich mehr als eine Million Menschen versterben, ist die Arteriosklerose auch für periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) und cerebralen ischämischen Insult verantwortlich<sup>10</sup>. Zur Stadieneinteilung der Arteriosklerose und ihres pathomorphologischen Korrelats, des arteriosklerotischen Plaques, gibt es verschiedene Klassifikationen, von denen die nach Stary wohl die gebräuchlichste ist<sup>11</sup> (Tabelle 3). Bei Männern zwischen zwanzig und dreißig Jahren können in einem Drittel der Fälle bereits arteriosklerotische Plaques nachgewiesen werden, wobei es sich nicht selten bereits um das Stadium IV nach Stary handelt. Bei Frauen gleichen Alters sind die nachgewiesenen arteriosklerotischen Läsionen meist geringer ausgeprägt. Die Pathogenese der Arteriosklerose<sup>10,12</sup> ist trotz intensiver Forschungen bis heute nicht vollständig geklärt. Eine einzige pathogenetische Kausalität gibt es mutmaßlich nicht, vielmehr wirken wohl verschiedene nebeneinander bestehende und ineinandergreifende Mechanismen dabei zusammen. Die Vielzahl unterschiedlicher Substanzen, die in arteriosklerotischen Läsionen bisher nachgewiesen werden konnten, legt einen multifaktoriellen Charakter nahe. Den gegenwärtigen Erkenntnisstand gibt die „Response to Injury“-Hypothese wieder. Sie ist weniger eine „frische“ Hypothese, die einen neuen oder alternativen Weg der Arteriosklerose-Entstehung postuliert, als vielmehr eine Weiterentwicklung und Zusammenführung bereits bestehender Hypothesen. Berücksichtigung finden in der „Response to Injury“-Hypothese vor allem Elemente aus der „Lipidhypothese“ von Rudolf Virchow und der „Hypothese des chronischen Endothelschadens“<sup>12</sup>.

Bei Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion werden deutlich gehäuft arteriosklerotische Veränderungen gefunden. Eine chronisch reduzierte Nierenfunktion ist assoziiert mit erhöhtem Auftreten von abnormalem Lipoprotein<sup>13</sup>, endothelialer vaskulärer Dysfunktion<sup>14</sup>, Verhärtung der Media<sup>15</sup> respektive arterieller Kalzifikation<sup>16</sup>, Verdickung der Arterienwandung<sup>17</sup> und Einengung des Lumens der Koronararterien<sup>18</sup>.

Tabelle 3: Einteilung und Nomenklatur der arteriosklerotischen Läsionen nach Stary bzw. der „American Heart Association“ (AHA).

Typ I Läsion	initiale Schädigung; Aufnahme und Einlagerung von Lipoprotein (LDL) in die Gefäßintima; nur mikroskopisch nachweisbar
Typ II Läsion <i>Fettstreifen („Fatty Streaks“)</i>	Akkumulation von Lipoprotein in Intima, Makrophagen und aktivierte Muskelzellen; mit bloßem Auge erkennbar
Typ III Läsion <i>Präatherom</i>	Einwanderung von glatten Muskelzellen in Intima, welche proteinreiches Bindegewebe produzieren, in denen sich extrazelluläre Lipide einlagern
Typ IV Läsion <i>Atherom bzw. arteriosklerotischer Plaque</i>	ausgeprägte Zerstörung der Intima; Organisation des Plaque; Bildung eines innen gelegenen Lipidkerns; klinische Symptome treten auf
Typ V Läsion <i>Fibroatherom</i>	Entwicklung einer Bindegewebsschicht aus überwiegend Kollagen und Vermehrung der Muskelzellen über dem Lipidkern
Typ VI Läsion <i>komplizierte Läsion</i>	Fissur, Erosion, Hämatom und/oder Thrombus des Atheroms
Typ VII Läsion kalzifizierte Läsion	fortgeschrittene und vorrangig aus Kalzium bestehende arteriosklerotische Läsion
Typ VIII Läsion <i>fibrotische Läsion</i>	fortgeschrittene und vorrangig aus Kollagen bestehende arteriosklerotische Läsion

### 1.2.1 Pathophysiologie der Arteriosklerose

Die Arteriosklerose entsteht nach der gegenwärtig aktuellen „Response to Injury“-Hypothese (Verletzungstheorie) durch eine chronische inflammatorisch-fibroproliferative Antwort auf eine vorher erfolgte Schädigung, welche die glatten Muskelzellen von Intima und Media reagieren lässt – und somit weniger ein degenerativer als vielmehr ein übersteigter proliferativer Prozess ist. Dieser beginnt mit einer initialen Schädigung des Gefäßendothels, was eine endotheliale Dysfunktion bedingt und eine chronische Entzündungsreaktion evoziert<sup>19</sup>. Folge ist eine Störung der normal gut ausgewogenen Balance verschiedener Mediator-kaskaden. So kommt es zu einer verminderten Freisetzung des vasodilatatorisch wirkenden und die Thrombozyten-Aggregation hemmenden Prostacyclin und zu einer erhöhten Freisetzung des vasokonstriktorisch wirkenden und die Aggregation fördernden Thromboxan A. Am verletzten Bereich der



Intima führt das zu einer verstärkten Adhäsion von Thrombozyten, welche durch Expression von Adhäsionsmolekülen (z.B. ELAM-1, VCAM-1) noch zusätzlich unterstützt wird. Folge ist eine zunächst nur auf die Intima der Gefäße beschränkte Entzündungsreaktion, welche später auch auf die Muskelzellen der Media übergreift.

Die eigentliche Entstehung der arteriosklerotischen Plaque beginnt mit der aktiven Aufnahme und Einlagerung von LDL („Low Density Lipoprotein“) in die Intima (Typ I Läsion nach Stary/AHA). Das aufgenommene LDL wird durch verschiedene Enzyme und freie Sauerstoffradikale oxidiert. Vermittelt über Expression von Adhäsionsmolekülen und Exozytose verschiedener chemotaktischer Substanzen durch Endothelzellen werden im Blut zirkulierende Monozyten aktiviert und zur Adhäsion und Migration in die subepitheliale Schicht angeregt. Durch Ausbildung so genannter Scavenger-Rezeptoren bei den eingewanderten Monozyten, welche nach dem Verlassen der Blutbahn Makrophagen genannt werden und keinen Rückkopplungsmechanismus mehr besitzen, kommt es zur ungebremsten Aufnahme und Akkumulation von oxidiertem LDL <sup>20,21</sup>. Das führt innerhalb des entzündlichen Prozesses zur Umwandlung der Makrophagen in mit Fett angereicherte Schaumzellen („Foam Like Cells“), die nach Kumulation die typischen Fettstreifen („Fatty Streaks“) bilden <sup>20</sup>. Durch das Zusammenwirken von verstärkt ausgeschütteten Wachstumsfaktoren und Zytokinen aus stimulierten Makrophagen, Lymphozyten und Thrombozyten kommt es zur Aktivierung und Proliferation von glatten Muskelzellen (Typ II Läsion nach Stary/AHA). Die in die Intima eingewanderten glatten Muskelzellen produzieren Proteine der bindegewebigen Matrix, in denen sich extrazelluläre Lipide aus untergegangenen Makrophagen einlagern (Typ III Läsion nach Stary/AHA). Diese extrazellulären Lipidablagerungen konfluieren und es kommt zur Organisation der Struktur und Bildung fibröser Plaque (Typ IV Läsion nach Stary/AHA), welche das Lumen einengen oder aufbrechen können.

### 1.2.2 Arteriosklerotische Plaque

Arteriosklerotische Plaque bestehen aus Bindegewebe, intra- und extrazellulären Lipiden, glatten Muskelzellen und Glykosaminoglykanen, welche von einer Haube aus Bindegewebe luminal abgedeckt werden<sup>22</sup>. Diese Plaque oder Atherome genannten Läsionen sind dynamische und überaus vulnerable Gebilde, welche sich vergrößern und umorganisieren können, bis es schließlich – bei Lumeneinengung in Ruhe, bei Unvermögen zur Gefäßerweiterung unter Belastung – zu den typischen Symptomen der Mangel durchblutung kommt. Ein Aufbrechen des Plaque und die nachfolgende Auflagerung eines Blutgerinnsels, Thrombus genannt, ist die häufigste Ursache für einen akuten Arterienverschluss. Das Risiko, einen akuten Koronararterienverschluss zu erleiden, wird primär von der Stabilität des arteriosklerotischen Plaque und erst sekundär vom Grad seiner Stenose bestimmt. Stabilität bzw. Instabilität der Plaque ergibt sich aus dem Zusammenwirken verschiedener Faktoren, neben anderen beispielsweise von Makrophagen, Endothelzellen, Zytokinen, Adhäsionsmolekülen, zellulären Transmittern und verschiedenen Proteinase. Resultat des Wirkens dieser Faktoren sind Verschiedenheiten bei den Plaque, die ein unterschiedlich hohes Risiko der Destabilisierung und des Auftretens kardialer Ereignisse bedingen. Infolgedessen werden stabile von instabilen Plaque unterschieden. Stabile bzw. fibröse Plaque haben verhältnismäßig kleine Kerne und relativ dicke Kapseln, welche im Vergleich mit instabilen Plaque reich an Bindegewebe und Muskelzellen sind<sup>22</sup>. Instabile Plaque weisen meist eine unterschiedlich stark ausgeprägte Entzündungsreaktion auf, sind oft kalzifiziert und reich an Lipiden. Sie besitzen eine relativ dünne bindegewebige Kappe und einen großen eingeschlossenen Lipidkern<sup>20</sup>. Nach Disruption des Plaque gelangt Blut mit dem thrombogenen Material des Lipidkerns in Kontakt und es kommt zur Aktivierung und Anlagerung von Thrombozyten bzw. zur Thrombusbildung<sup>20,23</sup>. Abhängig vom betroffenen Gefäß kann die Folge ein akuter Koronararterienverschluss mit Myokardinfarkt, eine periphere arterielle Verschlusskrankheit oder ein cerebraler ischämischer Insult sein.

Zwischen den arteriosklerotischen Plaque von Patienten mit und ohne chronisch reduzierter Nierenfunktion bestehen auffällige morphologische Unterschiede. Bei chronisch verminderter Nierenfunktion werden auffällig vermehrt solche Plaque gefunden, die kalzifiziert sind und dem instabilen Typ zugerechnet werden können<sup>18</sup>.

### 1.2.3 Phospholipase D (PLD)

Eine Phospholipase bzw. Phosphatidase ist ein Enzym, welches die Phospholipide hydrolytisch spaltet. Phospholipide werden durch verschiedene Phospholipasen gespalten, was im Organismus mannigfaltig vorkommt als auch *in vitro* zur Auftrennung angewandt wird. Die unterschiedlichen Phospholipasen haben ein Molekulargewicht zwischen 13 und 100 kDa, sind zytosolisch oder sekretorisch und kalziumabhängig oder -unabhängig. Vorrangig werden die Phospholipasen aber anhand der genauen Stelle unterschieden, an der sie die Phospholipide spalten. Durch die beiden Phospholipasen C (PLC) und D (PLD) werden die polaren Kopfgruppen der Phospholipide an der sn-3-Position hydrolytisch abgespalten, was freie Neutralphospholipide und freie polare Kopfgruppen ergibt. Die beiden Phospholipasen besitzen an den sn-3-Positionen aber unterschiedliche Angriffspunkte, weshalb die Phosphorsäure nach Abspaltung entweder an der polaren Kopfgruppe (PLC) oder aber am Neutralphospholipid (PLD) verbleibt. Die Phospholipasen A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> und B spalten die Phospholipide hydrolytisch an der sn-1-Position (PLA<sub>1</sub>, PLB) oder sn-2-Position (PLA<sub>2</sub>, PLB), was ein Lysophospholipid und eine freie Fettsäure entstehen lässt. Aus Phosphatidylcholin (Lezithin) entsteht so zum Beispiel ein Lysolezithin oder Lysokephalin und eine freie Fettsäure (Abbildung 1).

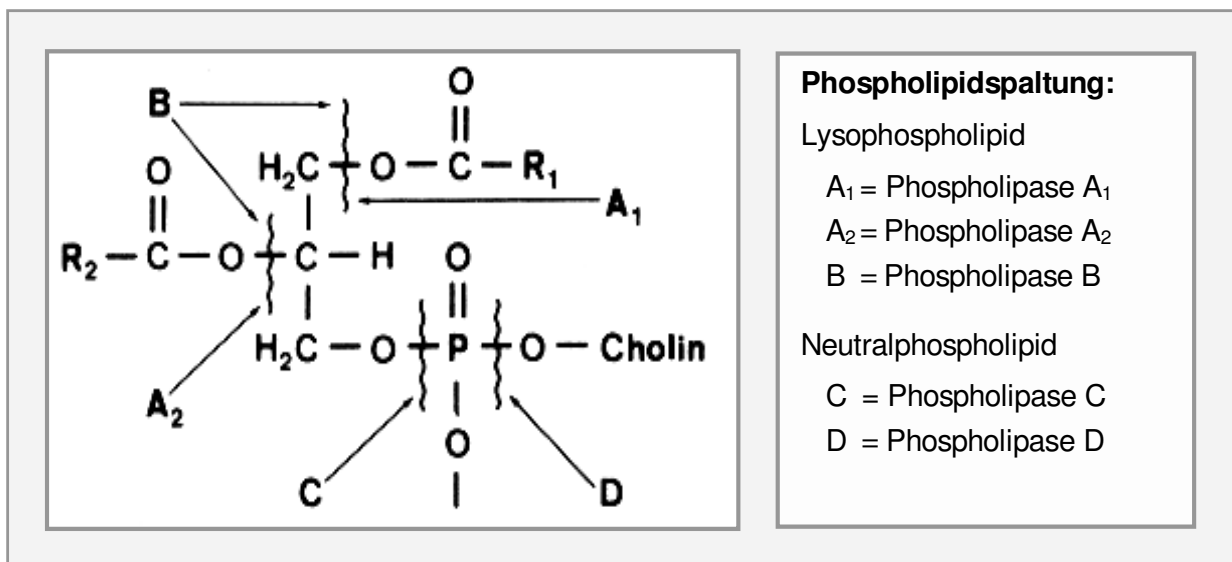


Abbildung 1: Enzymatische Spaltung der Phospholipide durch Phospholipasen. Am Beispiel von Lezithin wird gezeigt, an welchen Stellen die Phospholipasen die Phospholipide spalten. Durch die Phospholipasen A<sub>1</sub>, A<sub>2</sub> und B entsteht ein Lysophospholipid, durch die Phospholipasen C und D ein Neutralphospholipid. Komplementäre Spaltprodukte sind oft Fettsäuren, Ethanolamin und Cholin.

Die PLD umfasst dabei wie alle Phospholipasen eigentlich eine ganze Gruppe von Phospholipasen D, die meist ähnliche Strukturen und Molekulargewichte haben. Von der PLD wurden bisher drei Isoenzyme identifiziert. Die PLD<sub>1</sub> mit einem Gewicht von 120 kDa, welche in Plasma-Membranen und perinuklär zu finden ist, die PLD<sub>2</sub> mit einem Gewicht von 100 kDa, welche in Plasma-Membranen vorkommt, sowie die zuletzt entdeckte gPLD mit einem Molekulargewicht von 90 kDa, ebenfalls in Plasma-Membranen und zusätzlich in Granulozyten zu finden <sup>24</sup>.

An mannigfaltigen Vorgängen im Organismus sind diese Isoenzyme beteiligt, so beispielsweise an der Aufrechterhaltung der Zellstruktur, dem Membranfluss und der Proliferation und Reifung von T-Lymphozyten. Ihr kommt eine Rolle bei der Karzinogenese zu und sie ist signifikant erhöht bei bestimmten Tumoren der Brust, der Nieren, des Magens und Darms. Außerdem ist die PLD unter Vermittlung verschiedener Mediatoren, beispielsweise „Platelet Derived Growth Factor“ (PDGF), an der Spaltung von Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat in Inositol-1,4,5-triphosphat und Diacylglycerol (DAG) beteiligt – eine Reaktion, die eine Schlüsselstellung bei der Signaltransduktion einnimmt (Abbildung 2). Über die durch die Spaltung erhaltenen Substanzen, sehr potente Botenstoffe, werden – abhängig von Stimulus, Rezeptor und Membrantyp – verschiedene Kaskaden von Folgereaktionen ausgelöst, was über Aktivierung von Proteinkinasen und Lipasen beispielsweise zur Erregung der glatten Muskulatur mit Auswirkungen auf den Gefäßtonus oder Thrombozyten-Aggregation führen kann.

Phospholipide bestehen aus einer hydrophilen bzw. polaren Kopfgruppe (hauptsächlich Phosphatester, Zucker) und einem hydrophoben bzw. apolaren Teilstück (hauptsächlich Fettsäuren und Sphingosin). Als nach Ethanolamin am häufigsten vorkommende polare Kopfgruppe ist Cholin ein essentieller Bestandteil der Phospholipide, welche die Phospholipiddoppelmembran bilden, indem sie sich bimolekular aneinander lagern. Aus der Phospholipiddoppelmembran setzen die Phospholipasen hydrolytisch verschiedene Bestandteile ins Blut frei – PLD als komplementäre Spaltprodukte meist ein Neutralphospholipid und Cholin bzw. Ethanolamin <sup>25</sup> (Abbildung 2). Das geschieht im begrenzten Umfang physiologisch, mutmaßlich aber auch bei ischämischen Ereignissen und der Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque <sup>26,27,28</sup>. Vermutlich führen diese Gründe auch zu einer über PLD-Aktivierung vermittelten Freisetzung bzw. Erhöhung von Cholin in unterschiedlichen Blutzellen <sup>29,30,31</sup>. Vieles ist noch unklar bezüglich der

Mechanismen, die zur Aktivierung von PLD führen, denn die Wirkungen der PLD sind komplex<sup>32</sup>. Verschiedene im Myokard vorhandene Isoenzyme von PLD sind daran beteiligt<sup>33</sup>, weshalb, abhängig vom untersuchten Isoenzym oder der Zeitspanne bis zum Beginn der Reperfusion nach Ischämie, in einigen Arbeiten auch kein Anstieg der PLD-Aktivität gefunden werden konnte<sup>32,34</sup>. Wieder andere Arbeiten fanden dagegen eine durch ischämische Ereignisse ausgelöste Aktivierung anderer Phospholipasen, so beispielsweise der Phospholipase A<sub>2</sub><sup>34</sup>.

Im Organismus unter Mitwirkung von PLD ablaufende wesentliche Prozesse, die mit Bildung und Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque in Verbindung stehen, sind Sekretion von Metalloproteinase-9<sup>35</sup>, Förderung der Bindung von Fibrin an den Glycoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor<sup>36</sup> und Aktivierung von Makrophagen unter Beteiligung von oxidiertem LDL<sup>21</sup>.

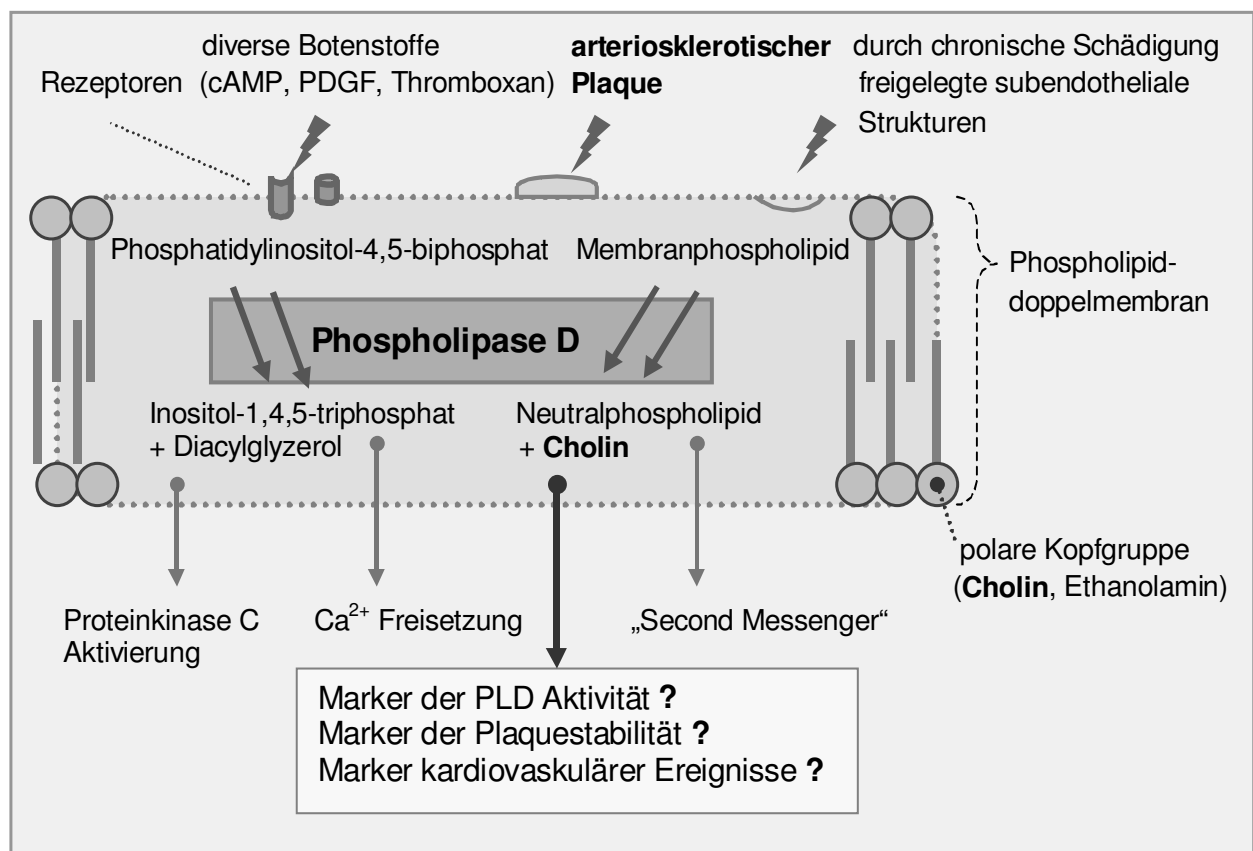


Abbildung 2: Wirkung von Phospholipase D an der Phospholipiddoppelmembran. Verschiedene Stimuli können zur Aktivierung der Phospholipase D führen, was ganz unterschiedliche Kaskaden von Folgereaktionen auslöst und zum Anstieg der komplementären Spaltprodukte im Blut führt.

### 1.2.4 Vollblut-Cholin (WBCHO)

Cholin (3-Hydroxyethyltrimethylammonium; Abbildung 3) ist ein quartäres Ammoniumsalz, welches aus 2-Aminoethanol durch Methylierung entsteht. Im Organismus hat es die Funktion eines Donators von Methylgruppen ( $\text{CH}_3$ ), ist Bestandteil der Phosphatide, der Lipoproteine, des Lecithins und des Neurotransmitters Acetylcholin. Die Konzentration von freiem Cholin im Blut-Plasma („Plasma Choline“; PLCHO) beträgt bei gesunden Personen etwa  $10 \mu\text{mol/L}$ , die Konzentration von Cholin im Vollblut („Whole Blood Choline“; WBCHO) ungefähr  $16 \mu\text{mol/L}$  <sup>28,37</sup>.

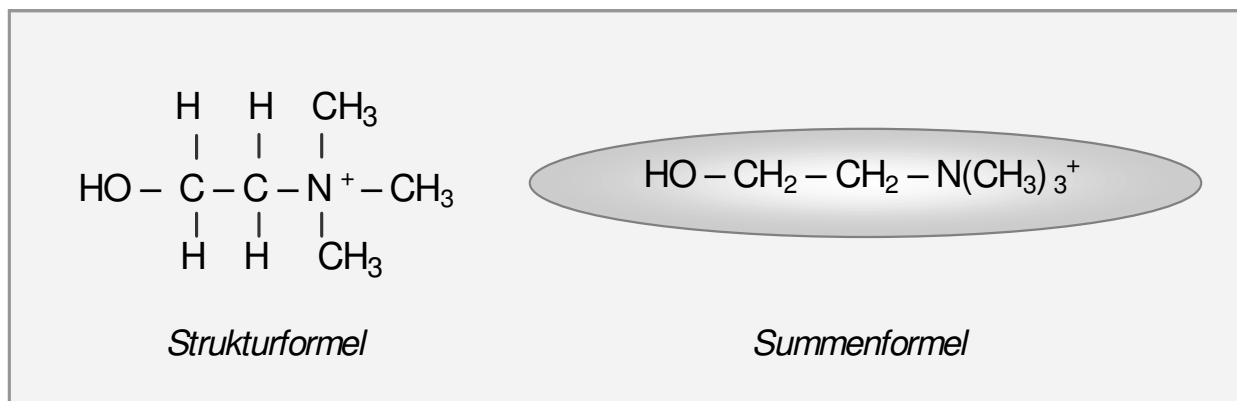


Abbildung 3: 3-Hydroxyethyltrimethylammonium (Cholin).

#### 1.2.4.1 Vollblut-Cholin bei reduzierter Nierenfunktion

In den Nieren wird Cholin sowohl an der glomerulären Membran filtriert als auch im Tubulus sekretiert und reabsorbiert <sup>38,39</sup>. Der Transport von Cholin durch die Wandung des Tubulus wird wahrscheinlich von Carriern getragen, ist in beide Richtungen möglich und findet überwiegend im proximalen Teil sowie der Henleschen Schleife statt, wohingegen der distale Tubulus für Cholin relativ undurchlässig zu sein scheint. Bei normalen bzw. niedrigen Plasma-Konzentrationen überwiegt die Reabsorption und die Ausscheidung von Cholin mit dem Urin ist gering (~1%). Bei hohen Konzentrationen überwiegt die Sekretion gegenüber der Reabsorption und es kommt zu einer erhöhten Ausscheidung von Cholin mit dem Urin <sup>38,39</sup>. Andere Wege der Eliminierung von Cholin

aus dem Plasma sind die metabolische Umwandlung zu Betain und die Aufnahme durch verschiedene organische Gewebe<sup>40</sup>. Im experimentellen Versuch konnte bei erhöhten Plasma-Konzentrationen, hervorgerufen durch intravenöse Infusion von <sup>11</sup>C-Cholin, sowohl eine Erhöhung von nichtexkretorischer bzw. metabolischer Elimination als auch eine Erhöhung von exkretorischer bzw. renaler Eliminierung, bewirkt durch eine Zunahme der tubulären Sekretion, gefunden werden<sup>39</sup>. Dabei fällt die Konzentration von Cholin nach intravenöser Infusion relativ schnell ab bzw. steigt die Konzentration des Hauptmetaboliten Betain im Blut schnell an, bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat, wonach das Verhältnis der Aktivitäten von Cholin zu Betain annähernd konstant bleibt<sup>40</sup>. Da im experimentellen Versuch eine Sättigung der tubulären Sekretion von Cholin erst bei hohen Plasma-Konzentrationen auftritt, kann angenommen werden, dass bei einer Verminderung von GFR und Tubulusfunktion die renale Elimination von Cholin, ähnlich wie bei verschiedenen anderen Substanzen, noch bis zu höhergradiger Niereninsuffizienz aufrechterhalten werden kann. Bei Nierenerkrankungen mit Tubulusschädigung bei weitgehend erhaltener GFR kann sogar eine pathologisch erhöhte Exkretion von Cholin bestehen. Vergleichbar nimmt die metabolische Elimination, welche eine verhältnismäßig hohe Sättigungsgrenze aufweist, auf die Konzentration Einfluss. Allerdings ist unklar, ob eine erhöhte metabolische Elimination von Cholin auf Dauer aufrechterhalten werden kann oder diese über die Zeit „erschöpft“. Weiterhin gehen mit einer Niereninsuffizienz Veränderungen des Metabolismus von Cholin in den Blutzellen einher – erhöhte Konzentrationen von Plasma-Cholin, Veränderungen des Transports von Cholin durch die Membranen, Ausbildung spezieller Cholin-Transporter und Veränderungen der Aufnahme und des Gehalts von Cholin in den Erythrozyten sind beschrieben worden<sup>41,42,43,44,45</sup>. Durch solche Einflüsse gibt es Patienten mit sehr hoher Cholin-Konzentration und nur geringer renaler Dysfunktion wie auch Patienten mit stark eingeschränkter GFR und normaler Cholin-Konzentration.

Eine spezieller Fall sind Dialyse-Patienten, da die Dialyse-Prozedur massiv in die ohnehin schon gestörte Regulation der Blutzusammensetzung eingreift. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass die Cholin-Konzentration im Plasma bei chronischer Niereninsuffizienz erhöht ist, während der Dialyse-Prozedur abfällt, teilweise bedingt durch Verlust von Cholin mit dem Dialysat, und es danach ungefähr sechs Stunden dauert, bis wieder die Konzentration erreicht ist, die am Anfang

der Dialyse bestimmt werden konnte<sup>41,46,47,48</sup>. Diese Normalisierung der Cholin-Konzentration, welche schon während der Dialyse beginnt, lässt die Existenz eines Rückkopplungsmechanismus vermuten, der unverzüglich aktiviert wird und für die Homöostase der Konzentration von Plasma-Cholin sorgt<sup>48</sup>. Während das Cholin im Plasma durch die Dialyse sinkt, steigt das an Phospholipid gebundene Cholin im Plasma an<sup>46</sup>. Über die genauen Mechanismen, welche für die Homöostase von Cholin bei Dialyse-Patienten sorgen, besteht gegenwärtig noch Unklarheit<sup>46</sup>. Fraglos aber kompliziert die starke Einflussnahme der Dialyse-Prozedur die Bestimmung von Cholin und macht die Interpretation erhöhter Werte problematisch.

#### **1.2.4.2 Vollblut-Cholin bei kardiovaskulären Ereignissen**

Cholin wird bei Schädigung der Phospholipiddoppelmembran, zum Beispiel bei einer Ischämie, durch bestimmte Enzyme, den Phospholipasen, ins Blut freigesetzt<sup>34</sup>. Bei ischämischen Gewebsverletzungen bzw. Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque kommt es initial durch aktivierte PLD zu einer erhöhten Freisetzung von Cholin ins Blut, gefolgt von einer sekundären Aufnahme in die Blutzellen, die beginnt, noch ehe die Freisetzung von Cholin ins Blut abgeschlossen ist. Außer in dieser Initialphase, in der eine stärkere Erhöhung der Konzentration von Plasma-Cholin als der von WBCHO gefunden werden kann, wird die Konzentration von WBCHO meist höher als die von Plasma-Cholin bestimmt. Verschiedene Mechanismen sind daran beteiligt: Dass Cholin in den Erythrozyten in hohen Konzentrationen gefunden werden kann und die aktive Aufnahme durch verschiedene Cholin-Transport-Systeme gewährleistet wird<sup>30,49</sup>, bei denen membranständige Phospholipasen eine entscheidende Rolle spielen<sup>43,49</sup>, ist seit den ersten Studien bekannt, welche sich mit Cholin beschäftigten<sup>44,45</sup>. Weiterhin existiert eine intrazelluläre Bildung von Cholin in den Blutzellen, die durch intrazellulär lokalisierte PLD und andere Signalkaskaden vermittelt wird<sup>29,31</sup>. Gerade bei Patienten mit arteriosklerotischen – insbesondere instabilen – Plaque besteht eine ausgeprägte Aktivierung von intrazellulär lokalisierter PLD, was den Austausch von Cholin beeinflusst, verschiedene Blutzellen zu einer verstärkten Aufnahme von Cholin anregt, und so dazu beiträgt, dass bei diesen Patienten erhöhte Werte von WBCHO gefunden werden können<sup>28</sup>. Weiterhin ist in diesem Zusammenhang von Bedeutung, dass Plasma-Cholin zu einem gewissen Grad metabolisch in Betain umgewandelt wird und in



verschiedene Gewebe aufgenommen werden kann<sup>40</sup>. Die vorgenannten Wirkungen bedingen wesentliche Unterschiede zwischen Plasma-Cholin und Vollblut-Cholin – gleichwohl beide Eignung als prognostische Marker bei Patienten mit ACS besitzen<sup>28,50</sup> –, weshalb eine Bestimmung von Cholin im Vollblut gegenüber der Bestimmung von Cholin im Plasma, wie sie bei vielen anderen Substanzen meistens erfolgt, bei bestimmten Fragestellungen geeigneter sein könnte<sup>51</sup>. Auch weil bei einer nennenswerten Anzahl von Patienten erhöhte WBCHO-Werte gefunden werden und sie ein erhöhtes Risiko für verschiedene schwere kardiale Komplikationen besitzen, ohne aber auch erhöhte Konzentrationen von Plasma-Cholin aufzuweisen<sup>51</sup>. Ein zweiter Aktivierungspfad kann deswegen angenommen werden, der neben dem über Gewebe-Ischämie vermittelten besteht und die erhöhten WBCHO-Werte mit starkem prädiktivem Vorhersagewert für schwere Komplikationen beim ACS erklärt. Möglicherweise könnten diese erhöhten WBCHO-Konzentrationen bei nicht oder nur gering erhöhten Konzentrationen von Plasma-Cholin neben oben erwähnten Mechanismen vor allem eine verstärkte PLD-Aktivität in den Blutzellen, Aktivierung von Thrombozyten und Destabilisierung koronarer Plaque widerspiegeln. Die durch Kollagen und Thrombin vermittelte Aktivierung von Thrombozyten am Ort der vaskulären Verletzung bzw. Plaquestabilisierung, die zur Thrombozyten-Aggregation führt und woran aktivierte PLD initial beteiligt ist, scheint dabei eine wesentliche Rolle zu spielen<sup>23,29,31,52,53</sup>. Die Freisetzung von Cholin durch PLD in den Thrombozyten ist vermutlich spezifisch, da andere wichtige Botenstoffe der Signaltransduktion nicht zu einer Aktivierung von PLD und Freisetzung von Cholin führen. Das könnte erklären, wieso eine Erhöhung von WBCHO, die das Cholin in den Thrombozyten beinhaltet, mit dem ACS assoziiert ist, nicht aber mit anderen Zuständen unspezifischer Thrombozyten-Aktivierung.

Gerade in der Frühphase nach einem kardialen Ereignis scheint WBCHO anderen Markersubstanzen überlegen zu sein, da es früher positiv ist und die höchste Konzentration meist mit der ersten Blutabnahme bestimmt werden kann<sup>28,51</sup>. Während viele der bekannten biochemischen Marker noch unauffällig sind, da Zellen noch nicht zerstört wurden, könnten erhöhte WBCHO-Werte – mutmaßlich nach vorausgehender Stimulation von PLD und Aktivierung von Oberflächenrezeptoren in koronaren Plaque – ein erster Hinweis auf ein möglicherweise drohendes kardiales Ereignis sein und Rückschlüsse auf erhöhte Phospholipase-D-Aktivität und Plaquestabilität zulassen. Das könnte beispielsweise bei der Identifizierung von Hochrisiko-Patienten helfen, bei denen

---

noch keine akute Symptomatik besteht und die deshalb auch keine Erhöhungen der Troponine oder anderer Markersubstanzen aufweisen<sup>28</sup>.

Um falsch positive Ergebnisse möglichst auszuschließen, ist zu beachten, dass bei einer nennenswerten Anzahl von Patienten, ohne dass dafür bisher eine Ursache identifiziert werden konnte, erhöhte Werte von Cholin wie auch von WBCHO bestehen, die bei jedem einzelnen Individuum in einem geringen Bandbereich aber relativ konstant sind und auch als möglicher Risikofaktor für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse diskutiert werden<sup>37</sup>.

Letztendlich bleiben die pathophysiologischen Hintergründe erhöhter WBCHO-Konzentrationen bei ischämischen Gewebsverletzungen bzw. Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque unklar, sind alle Erklärungen hypothetisch und besteht bezüglich ihrer prädiktiven Eignung für kardiale Ereignisse – obschon erste Studien vielversprechend waren – noch weiterer Klärungsbedarf.

### 1.3 Diagnostik und Risikostratifizierung des akuten Koronarsyndroms bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz

#### 1.3.1 Das akute Koronarsyndrom (ACS)

Die Definition des Myokardinfarktes ist im Jahr 2000 von der „American Heart Association“ (AHA) aufgrund gewonnener Erkenntnisse, welche Defizite in der alten Begriffsbestimmung erkennen ließen, neu formuliert worden. Unter dem Oberbegriff „akutes Koronarsyndrom“ (ACS) werden nun die instabile Angina Pectoris (UAP) und der Infarkt mit und ohne ST-Hebung zusammengefasst. Die klassische Einteilung über Q-Zacken-(Q-Wave)- bzw. Nicht-Q-Zacken-(Non-Q-Wave)-Infarkt wurde damit abgelöst bzw. in der Bedeutung zurückgedrängt. Das Augenmerk liegt nun auf einer Unterteilung in Patienten mit Brustschmerz und ST-Hebungen, welche im Verlauf häufig einen Q-Zacken-Infarkt im EKG entwickeln, sowie Patienten ohne ST-Hebungen. Patienten ohne verwertbare Veränderungen des EKG werden in Abhängigkeit vom Anstieg der kardialen Marker im Blut – vorzugsweise Troponin – als instabile Angina Pectoris (UAP) oder Infarkt ohne ST-Hebungen klassifiziert. Bei Stellung der Diagnose ist zwischen der sofortigen Notfalldiagnostik und der weiterführenden Diagnostik zu unterscheiden, die mit einer Risikostratifizierung verbunden sein sollte. Nach den aktuellen Richtlinien der „American Heart Association“<sup>54,55,56</sup> sind die drei primären diagnostischen Kriterien beim akuten Koronarsyndrom Klinik, Labor und EKG.

**Klinik:** Leitsymptom eines ACS ist der akute, anhaltende und oft nitrorefraktäre Brustschmerz, der meist retrosternal und/oder linksthorakal auftritt und meistens vorhanden ist. Eventuell kann eine Ausstrahlung in die linke Schulter und/oder den linken Arm, Hals, Unterkiefer, nach abdominal oder in den rechten Arm bestehen. Bei einer chronischen Niereninsuffizienz ist dieses Leitsymptom wegen der oft gleichzeitig vorhandenen diabetischen oder urämischen Neuropathie weniger häufig vorhanden. Auch die typischerweise beim ACS bestehende Dyspnoe ist bei Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion in der Aussagekraft herabgesetzt, da eine solche bei diesen Patienten wegen der oft vorhandenen Anämie, oder zur Kompensation der metabolischen Azidose (Azidoseatmung), bereits vorhanden sein kann. Ähnliches gilt für den Blutdruck, der wegen der verminderten renalen Ausscheidung und des in Folge häufig vermehrten Blutvolumens bei CKD-Patienten oft erhöht ist, vor allem der diastolische Wert, während bei Normalpersonen meist erniedrigte und nur selten

erhöhte Blutdruckwerte zu finden sind. An einer vegetativen Symptomatik, typischerweise bestehend aus Übelkeit, Erbrechen und Schweißausbrüchen, die viele Patienten mit intakten Nieren beim ACS aufweisen, leiden CKD-Patienten normal schon verstärkt, beispielsweise durch die Belastungen der Dialyse. Differentialdiagnostisch muss vor allem an eine Lungenembolie, akute Pankreatitis, Gallenkolik, gastroösophageale Refluxkrankheit und an Thoraxschmerzen funktioneller oder vertebragener Genese gedacht werden. Zusammenfassend lässt sich sagen, dass bei der Findung der Diagnose die Beurteilung der Klinik von CKD-Patienten wesentlich schwieriger ist, als bei Patienten mit intakter Nierenfunktion.

**Elektrokardiogramm (EKG):** Nicht selten ist es möglich, allein mit dem EKG, aber obligat unter Berücksichtigung von Klinik und Labor, die Diagnose zu stellen. Sie auszuschließen ist schon schwieriger, da das EKG bis zu 24 Stunden nach dem Ereignis negativ sein kann oder überhaupt keine „eindeutigen“ Zeichen eines Infarktes auftreten. Weiterhin kann zum Beispiel bei Blöcken des Reizleitungsystems, kleineren und auf das Endokard beschränkten Infarkten, Zeit nach abgelaufenen Infarkten und Wolf-Parkinson-White-Syndrom (WPW), die Beurteilung erschwert oder sogar unmöglich sein. An eine Lungenembolie, welche ein dem Infarkt ähnliches EKG verursachen kann, muss differentialdiagnostisch immer gedacht werden. Bei Verdacht auf ein ACS ist ein EKG immer indiziert, wobei ein 12-Kanal-EKG zu bevorzugen ist. Je nach betroffenem Bereich des Herzmuskels, Ausmaß der Durchblutungsstörung, Lage der Herzachse und vergangener Zeit nach dem Ereignis kann sich eine Ischämie durch ST-Hebungen, seltener Senkungen, R-Verluste, Q-Veränderungen, QRS-Veränderungen, R-Verluste oder Negativierungen und T-Wellen-Veränderungen bemerkbar machen, die im Gesamtbild und im Zusammenhang mit Klinik und Labor beurteilt werden müssen. Im Elektrokardiogramm von CKD-Patienten finden sich oft verbreiterte QRS-Komplexe und ST-T-Wechsel, verursacht durch die linksventrikuläre Hypertrophie, Volumenüberlastung und Urämie mit Elektrolyt-Schwankungen. Alles eingerechnet ist das EKG von CKD-Patienten schwieriger zu beurteilen als das von Patienten mit intakter Nierenfunktion. Sensitivität wie auch Spezifität sind beim EKG von Patienten mit CKD herabgesetzt <sup>57</sup>.

**Biochemische Marker:** Eine ganze Palette verschiedener spezifischer und unspezifischer Laborwerte, welche meist Strukturbestandteile oder Enzyme geschädigter Zellen sind, können bei der Diagnostik kardialer Schädigungen als

Hilfsmittel genutzt werden. Außer zur Erhöhung spezifischer Herzenzyme (cTnT, cTnI, CK-MB) kommt es auch zur Erhöhung unspezifischer Herzenzyme (Gesamt-CK, Myoglobin, Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, Laktat-Dehydrogenasen 1 und 2) sowie zur Erhöhung allgemeiner unspezifischer Entzündungszeichen (Leukozyten, CRP, BSG). Die drei in der Klinik am häufigsten zur Anwendung kommenden konventionellen Marker sind zuallererst die Troponine, in der Bedeutung mittlerweile deutlich gefolgt von der myokardialen Kreatinkinase (CK-MB) und Myoglobin. Darüber hinaus gibt es noch eine ganze Palette neuer vielversprechender Marker, beispielsweise Interleukin 6, Thromboxan A<sub>2</sub>, Phospholipase A<sub>2</sub>, Metalloproteinase 9, Schwangerschaft assoziiertes Plasma-Protein A, Ischämie modifiziertes Albumin oder Glykogen Phosphorylase Isoenzym BB<sup>58</sup>, die gegenwärtig hinsichtlich ihrer Eignung zur Detektion und Risikostratifizierung kardialer Schädigungen untersucht werden, im klinischen Alltag bisher aber meist nur eine untergeordnete Rolle spielen. Alles in allem ist die Beurteilung biochemischer Marker bei chronisch reduzierter Nierenfunktion erschwert, unter anderem dadurch, dass es zur Retention und Induktion metabolischer Prozesse kommt, was Einfluss auf die Konzentration der verschiedenen Markersubstanzen hat.

### **1.3.2 „Klassische“ bzw. „traditionelle“ Risikofaktoren bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz**

Seit Veröffentlichung der „Framingham Study“, die vor mehr als drei Jahrzehnten publiziert wurde und die ersten Risikofaktoren für die Entwicklung einer Arteriosklerose benannte, gelang es, in zahlreichen folgenden epidemiologischen Studien eine ganze Reihe weiterer Risikofaktoren zu identifizieren<sup>59,60</sup>. Dass Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus – die so genannten „traditionellen“ Risikofaktoren – starke und unabhängige Prädiktoren dafür sind, eine Arteriosklerose zu entwickeln, gilt als allgemein anerkannt. Auch für Nikotinabusus und positive Familienanamnese kann der Zusammenhang als gesichert betrachtet werden. Weitere Risikofaktoren, zum Teil kontrovers diskutiert, sind Adipositas, Hypertriglyzeridämie, Hyperinsulinismus, Hypothyreose, Hyperurikämie, männliches Geschlecht und genetische Disposition. Alle vorgenannten Risikofaktoren wirken natürlich auch bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz. Die Wichtung der einzelnen Risikofaktoren ist bei Bestehen einer chronischen Nierenschädigung aber

verändert und andere Risikofaktoren – in Abgrenzung zu den „klassischen“ bzw. „traditionellen“ Risikofaktoren „nichttraditionelle“ oder „CKD-verwandte“ Risikofaktoren genannt – kommen hinzu. Diese sind überwiegend allerdings keine unabhängigen Risikofaktoren, sondern meist als Laborwert messbare Folge der fortschreitenden Nierenfunktionseinschränkung, was sie zugleich zu Markersubstanzen des Verlaufs der Niereninsuffizienz macht <sup>61</sup>. Es konnte festgestellt werden, dass bereits eine milde Niereninsuffizienz mit einem enormen Risiko verbunden ist, kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden <sup>62,63</sup>, für das die „klassischen“ kardiovaskulären Risiken nicht als alleinige Ursache herangezogen werden können, unabhängig von diesen bei chronisch eingeschränkter Nierenfunktion eine deutliche Erhöhung des kardiovaskulären Risikos besteht <sup>64</sup>. Diese „Lücke“ könnten die „nichttraditionellen“ oder „CKD-verwandten“ Risikofaktoren und/oder die chronische Niereninsuffizienz per se füllen. Nichtsdestotrotz ist auch die Prävalenz „traditioneller“ Risikofaktoren bei CKD-Patienten deutlich höher als in der Normalbevölkerung <sup>1,66</sup>. Ob die bei chronischer Nierenschädigung verstärkt vorhandenen arteriosklerotischen Schäden vornehmlich durch die bei diesen Patienten deutlich vermehrt zu findenden Risikofaktoren – „traditionelle“ und „nichttraditionelle“ – erklärt werden können, oder ob das Vorhandensein einer chronischen Niereninsuffizienz an sich für die beschleunigte Arteriosklerose-Entwicklung als hauptverantwortlich angesehen werden muss, wird noch diskutiert. Für beide Annahmen, welche sich einander nicht ausschließen, gibt es Belege <sup>63,64,66,67</sup>. Nach Empfehlung der „Kidney Disease Outcome Quality Initiative Guidelines“ (K/DOQI) sollte jeder Patient mit chronischer Niereninsuffizienz als Hochrisiko-Patient für das Auftreten einer kardiovaskulären Erkrankung angesehen werden, unabhängig davon, ob und welche Risikofaktoren daneben bestehen.

### **1.3.2.1 Arterielle Hypertonie**

Ist der Blutdruck unbehandelt systolisch höher als 140 mmHg und diastolisch höher als 90 mmHg besteht eine arterielle Hypertonie. Ab einer Einschränkung der GFR auf Werte von 60 – 89 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> (K/DOQI II) tritt regelmäßig Bluthochdruck auf. Die essentielle Hypertonie, verantwortlich für ungefähr 90% aller Bluthochdruckerkrankungen, führt zur arteriellen Druckbelastung mit folgender Myokardhypertrophie und Dilatation. Es besteht ein erhöhter Sauerstoffbedarf,

hervorgerufen durch eine gestörte Ventrikelfunktion sowie eine Vergrößerung der Wanddicke, besonders des linken Ventrikels <sup>68</sup>. In einer Studie von Levin A. et al. konnten hoher systolischer Blutdruck, verminderte Nierenfunktion, verstärkte Anämie und hohes Alter als unabhängig assoziiert mit der linksventrikulären Masse bestimmt werden <sup>69</sup>. Durch die insuffiziente Ventrikelmechanik, der Unterversorgung mit Sauerstoff und direkter Wirkung des erhöhten Blutdruckes auf die Gefäße, kommt es gehäuft zu Arteriosklerose, Angina Pectoris, Linksherzinsuffizienz und hypertensiven Krisen. Sekundäre Hypertonien sind die renoparenchymalen Hypertonien, hervorgerufen zum Beispiel durch Glomerulonephritiden, Pyelonephritiden oder diabetische Glomerulosklerose, sowie die renovaskulären Hypertonien, welche durch ein- und doppelseitige Minderdurchblutung verursacht werden. Zahlreiche pathogenetische Mechanismen können bei Nierenfunktionsstörungen zu einer Hypertonie führen <sup>70</sup>. Eine Einschränkung der GFR ist mit einer erhöhten Prävalenz der Hypertonie verbunden <sup>71</sup>. In zahlreichen uni- und multivariaten Studien konnte für diverse Untergruppen (z.B. Allgemeinbevölkerung, Diabetes-Patienten, Patienten ohne Diabetes, Hypertonie-Patienten) gezeigt werden, dass erhöhter Blutdruck (arterieller Durchschnittsdruck, systolischer und/oder diastolischer Blutdruck) signifikant mit einer Einschränkung der Nierenfunktion verbunden ist <sup>3,72,73</sup>. In der Normalbevölkerung besteht eine strenge Beziehung zwischen hohem Blutdruck mit tödlichen und nicht tödlichen kardiovaskulären Ereignissen und Gesamt-Mortalität <sup>74,75</sup>. Eine Hypertonie kann bei CKD-Patienten in 60% bis 100% der Fälle gefunden werden, abhängig von der Ursache der Nierenschädigung und dem Design der Studie. Ein erhöhter Blutdruck kann sowohl Ursache als auch Folge einer chronischen Niereninsuffizienz sein und führt zu einer Verschlechterung der Nierenfunktion, einem erhöhten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse, kardiovaskulärer Mortalität und Gesamt-Mortalität. Ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko ist dabei schon bei Patienten mit erhöhtem Blutdruck zu finden, selbst wenn nur eine leichte Niereninsuffizienz besteht <sup>73</sup>. Der stärkste Zusammenhang zwischen hohem Blutdruck und der Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung wurde bei Dialyse-Patienten gefunden <sup>68</sup>. Andererseits konnte in der „Hemodialysis Study“ (HEMO) kein Zusammenhang zwischen erhöhtem Blutdruck und Auftreten einer kardiovaskulären Erkrankung oder pAVK gefunden werden <sup>76</sup>. Pauschal ausgedrückt, wurden neben zahlreichen Arbeiten, welche eine positive Assoziation von Blutdruck und Mortalität bei Patienten mit chronischer

Niereninsuffizienz fanden, auch einige Arbeiten veröffentlicht, die keinen Zusammenhang ermitteln konnten<sup>70</sup>. Eine einzelne Studie fand für Hämodialyse-Patienten sowohl bei zu niedrigen als auch zu hohen Blutdruckwerten ein gesteigertes Risiko zu versterben<sup>77</sup>.

### 1.3.2.2 Diabetes mellitus

Mit seinen metabolischen und hämodynamischen Veränderungen ist Diabetes mellitus ein starker und unabhängiger Risikofaktor für die Entstehung einer Arteriosklerose. Diabetes mellitus ist die häufigste Ursache der chronischen Niereninsuffizienz. In der Niere führt Diabetes mellitus zu tubulointestinalen Schädigungen und einem erhöhten Austausch von Plasma-Proteinen durch die glomeruläre Membran, was zur diabetischen Glomerulosklerose und Ausscheidung von Proteinen mit dem Urin führt. Die diabetische Mikro- und Makroangiopathie wirkt, wenn auch in unterschiedlichem Ausmaß, grundsätzlich auf alle Organe und Gefäße im Organismus ein. Folglich sind, hat sich eine diabetische Nephropathie herausgebildet, in der Regel auch eine diabetische Retinopathie und fortgeschrittene Läsionen der Koronararterien zu finden. Dementsprechend besteht zwischen Proteinurie (siehe auch Kapitel 1.3.3.10) und den anderen diabetischen Komplikationen eine enge Beziehung, reflektieren die gefundenen Proteine bzw. Albumine im Urin den Zustand der anderen Gefäße im Körper, insbesondere des Auges, des Nervensystems und des Herzens<sup>78</sup>. Zahlreiche Studien konnten zeigen, dass kardiovaskuläre Mortalität assoziiert ist mit der Höhe der Proteinurie bzw. Albuminurie bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ I<sup>79</sup>, Typ II<sup>80</sup> und Typ I gemeinsam mit Typ II<sup>81</sup>. Bei kaum einer anderen Risikogruppe wie bei den Diabetikern besteht ein ähnlich starker Zusammenhang zwischen einer reduzierten Nierenfunktion und dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse<sup>62,76,82</sup>. Bei Diabetes-Patienten mit Zeichen einer diabetischen Nephropathie – beispielsweise Mikroalbuminurie oder Proteinurie – ist das Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen, Retinopathien und andere diabetische Komplikationen signifikant höher als bei Patienten ohne Zeichen einer diabetischen Nephropathie. Je weiter die diabetische Nephropathie dabei vorangeschritten ist, desto größer ist das kardiovaskuläre Risiko<sup>82</sup>. Diabetes mellitus konnte als ein der chronischen Niereninsuffizienz vergleichbar starker Prädiktor für das Erleiden eines kardialen Ereignis ermittelt werden<sup>83</sup>.



### 1.3.2.3 Hyper- und Dyslipidämie

Vorweg sei erwähnt, dass manche Autoren bzw. Klassifikationen die Dyslipidämie zu den „nichttraditionellen“ Risikofaktoren rechnen und nur die Hyperlipidämie als „traditionellen“ Risikofaktor ansehen. Eine Hyper- oder Dyslipidämie liegt vor, wenn Lipoproteine im Blut in erhöhter Zahl oder abnormer Strukturierung vorhanden sind. Die Prävalenz der Hyperlipidämie ist bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz erhöht, wobei weniger die Vermehrung der Lipide im Blut als vielmehr die Veränderungen im Lipidmetabolismus auffallen<sup>84</sup>. Abnorme Lipide, VLDL („Very Low Density Protein“) und IDL („Intermediate Density Lipoprotein“) sind erhöht, HDL („High Density Lipoprotein“) hingegen vermindert. In den VLDL ist das Triglyzerid/Cholesterin-Verhältnis auf den Faktor 5:1 verschoben. Bei ungefähr 20% der Normalbevölkerung findet sich erhöhtes Cholesterin im Blut. Bei CKD-Patienten ohne nephrotisches Syndrom kann erhöhtes Cholesterin in ungefähr 30% gefunden werden, bei CKD-Patienten mit einem nephrotischen Syndrom in etwa 90% der Fälle. IDL und oxidiertes LDL, welche an der Bildung arteriosklerotische Plaque beteiligt sind, werden bei dialysepflichtigen Patienten deutlich erhöht im Blut gefunden<sup>85</sup> (siehe Kapitel 1.2.1). In diversen Studien konnten unterschiedliche Störungen des Lipidstoffwechsels (z.B. erhöhtes Gesamtcholesterin, erhöhtes LDL, erhöhte Triglyzeride, erniedrigtes HDL) in uni- und multivariaten Analysen als assoziiert mit einer schnelleren Reduktion der GFR für verschiedene Populationen (z.B. Allgemeinbevölkerung, Diabetes-Patienten, Patienten ohne Diabetes, Hypertonie-Patienten) bestimmt werden<sup>3,5,86</sup>. Bemerkenswert ist, dass in beinahe ebenso vielen Studien zwischen einer Störung des Lipidstoffwechsels und einer Einschränkung der GFR kein signifikanter Zusammenhang ermittelt werden konnte<sup>3,4,5</sup>. Sowohl erhöhtes LDL als auch erniedrigtes HDL konnten als auf die Arteriosklerose-Entstehung begünstigend einwirkend bestimmt werden<sup>87</sup>. Andererseits wurde Serumcholesterin bei dialysepflichtigen Patienten als nicht assoziiert mit dem Auftreten einer kardiovaskulären Erkrankung oder einer pAVK bestimmt<sup>76</sup>. Insgesamt ist die Datenlage bei Hyper- oder Dyslipidämie weniger eindeutig als bei vielen anderen Risikofaktoren.

### **1.3.3 „Nichttraditionelle“ bzw. „CKD-verwandte“ Risikofaktoren bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz**

Die „klassischen“ Risikofaktoren reichen allein nicht aus, um die hohe Anzahl kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu erklären. Zum Teil sind sie zu begründen durch so genannte „nichttraditionelle“ bzw. „CKD-verwandte“ Faktoren wie Anämie, oxidativer Stress und gestörte Kalzium-Phosphat-Homöostase, welche bei sich verschlechternder Nierenfunktion auftreten und verbunden sind mit erhöhter Arteriosklerose-Entstehung und endothelialer Dysfunktion<sup>66,88</sup>. Die „nichttraditionellen“ bzw. „CKD-verwandten“ Risikofaktoren sind überwiegend Parameter der Retention, zu welcher es bei einer Einschränkung der Nierenfunktion kommt. Weiterhin werden hämodynamische und metabolische Anomalitäten dazu gezählt, die von einer chronischen Niereninsuffizienz zumindest mitverursacht werden. Die „CKD-verwandten“ Risikofaktoren können weiter in solche unterteilt werden, die bereits vor dem Stadium der Urämie vorhanden bzw. erhöht sind, sowie solche, die für die Urämie charakteristisch sind<sup>89</sup>. Eine klare Abgrenzung der „nichttraditionellen“ von den „traditionellen“ Risikofaktoren ist nicht möglich und „traditionelle“ Risikofaktoren für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen – beispielsweise Geschlecht, Rasse und Alter – werden bei CKD-Patienten zu den „nichttraditionellen“ Risikofaktoren gezählt.

#### **1.3.3.1 Reduzierte GFR**

Vier größere Untersuchungen haben festgestellt, dass eine mehr oder weniger stark eingeschränkte GFR bei 8 – 12% der Allgemeinbevölkerung besteht<sup>90</sup>, deutlich häufiger bei Patienten mit bekannter Arteriosklerose<sup>91</sup>. Eine reduzierte GFR als Ausdruck der sich verschlechternden Nierenfunktion ist vergesellschaftet mit einer Vielzahl von Komplikationen, welche sich durch unterschiedliche Symptome und Abweichungen der Laborwerte bemerkbar machen können. Hunsicker L.G. et al. ermittelten für CKD-Patienten ohne Diabetes mellitus eine Abnahme der GFR von durchschnittlich 4 mL/min/Jahr<sup>3</sup>. Andere Studien gelangten zu ähnlichen Ergebnissen. Differenziert nach den wichtigsten Ursachen der chronischen Niereninsuffizienz (z.B. Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, glomeruläre Erkrankungen, tubulointestinale Erkrankungen) konnten Abnahmen der GFR zwischen 0,0 und 12,0 mL/min/Jahr ermittelt werden. Die Geschwindigkeit der GFR-Senkung ist abhängig vom Typ der

chronischen Niereninsuffizienz. Bei diabetischer, glomerulärer, polyzystischer und der chronischen Niereninsuffizienz bei Transplantat-Empfängern kommt es zu einer schnelleren GFR-Senkung als bei tubulointestinaler und hypertotonischer chronischer Niereninsuffizienz. Eine Reduktion der GFR führt zu einem Anstieg der Retentionsparameter, von denen einige als Marker bzw. Risikofaktoren für kardiovaskuläre Schädigungen bei CKD-Patienten diskutiert werden. Das Ansteigen der Konzentration dieser Marker bzw. Risikofaktoren verhält sich aber nicht streng linear zur Reduktion der GFR. Ein Anstieg tritt gewöhnlich erst ab einer Einschränkung der GFR auf ungefähr 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> auf, abhängig von individueller „Clearance“ und Selektivität der Nierenschädigung<sup>7</sup>. Bei Patienten mit stark reduzierter GFR bestehen höhere Inzidenzen von arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus, anamnestisch bekanntem Myokardinfarkt, hypervolämischem Herzversagen und linksventrikulärer systolischer Dysfunktion als bei Patienten mit geringer GFR-Einschränkung<sup>92</sup>. Der Zusammenhang zwischen reduzierter GFR und dem Auftreten kardiovaskulärer Schädigungen konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden<sup>62,73,91</sup>. Go A.S. et al. bestimmten in einer Untersuchung mit großem Patienten-Kollektiv bereits eine geringe GFR als unabhängig assoziiert mit dem Erreichen der Endpunkte Tod, kardiovaskuläre Ereignisse und Hospitalisation<sup>93</sup>. Eine reduzierte GFR ist ein starker Prädiktor für das Eintreten kardiovaskulärer Erkrankungen<sup>92,94</sup>, dem Erreichen der Endpunkte KHK<sup>95</sup>, pAVK<sup>95</sup>, cerebraler ischämischer Insult<sup>91</sup>, cerebrovaskuläre Insuffizienz<sup>95</sup>, Myokardinfarkt<sup>91</sup>, Gesamt-Mortalität<sup>73</sup> und kardiovaskuläre Mortalität<sup>91</sup>. Für eine Senkung der GFR um je 10 mL/min konnte ein erhöhtes Risiko ermittelt werden, die Endpunkte Tod, Myokardinfarkt und nichttödliche kardiovaskuläre Ereignisse zu erreichen<sup>7,92</sup>. Zwischen sich verringernder GFR und erhöhter Wahrscheinlichkeit des Eintretens von kardialen Ereignissen besteht ein annähernd linearer Zusammenhang<sup>62,73,91</sup>, wobei es so etwas wie einen „biologischen Schwelleneffekt“ zu geben scheint.

### 1.3.3.2 Erhöhtes Kreatinin

Kreatinin entsteht im Muskelgewebe aus Kreatin und hat beim Gesunden eine Konzentration im Plasma von ungefähr 0,57 – 1,24 mg/dL (80 µmol/L). Als klassischer Retentionsparameter des klinischen Alltags, der ungefähr den Verlust der Nierenfunktion widerspiegelt, steht seine Zunahme in direkter umgekehrter Beziehung

zur abnehmenden GFR (siehe auch Kapitel 1.1). In einer Vielzahl von Studien konnte gezeigt werden, dass bei CKD-Patienten die Konzentration von Kreatinin im Serum über die Zeit ansteigt<sup>96,97</sup>. In einer Studie von Reis S.E. et al. konnte für Frauen mit leichter chronischer Niereninsuffizienz eine Assoziation von Kreatinin mit den Merkmalen Alter, Triglyzeriden, systolischer Blutdruck und Homocystein ermittelt werden<sup>98</sup>. Der Zusammenhang zwischen hohen Kreatinin-Konzentrationen und dem vermehrten Erreichen kardialer Endpunkte gilt als gesichert<sup>73</sup>. Widersprüchlich sind die Ergebnisse hingegen bei leichter bis mittlerer Erhöhung von Serum-Kreatinin. Während einige Studien ein erhöhtes Erreichen der Endpunkte Gesamt-Mortalität und kardiovaskuläre Mortalität ermittelten, konnten andere Arbeiten das nicht bestätigen<sup>91,94</sup>. Bei einem Serum-Kreatinin >1,4 mg/dL, was knapp über dem Normbereich liegt, konnte das Risiko für kardiovaskulären Tod, Myokardinfarkt oder cerebralen ischämischen Insult als auf das Zweifache erhöht bestimmt werden<sup>62</sup>. Eine andere Studie fand erst ab einem Serum-Kreatinin >1,7 mg/dL ein erhöhtes Erreichen des Endpunkts Mortalität<sup>73</sup>. Weiner D.E. et al. kamen zu dem Ergebnis, dass in der Allgemeinbevölkerung ein um 0,25 mg/dL erhöhtes Serum-Kreatinin mit einem um 10% erhöhten kardiovaskulären Risiko verbunden ist<sup>90</sup>.

### 1.3.3.3 Chronische Niereninsuffizienz

Bezüglich der Frage, ob die chronische Niereninsuffizienz selbst ein eigenständiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen ist, wurden ebenfalls nicht ganz eindeutige Ergebnisse gefunden<sup>66,67,91,94</sup>. Manche Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen chronischer Niereninsuffizienz und dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen finden<sup>94</sup>, während andere Untersuchungen, deutlich überwiegend in der Zahl, die chronische Niereninsuffizienz als einen starken und unabhängigen Prädiktor für kardiovaskuläre Erkrankungen und kardiovaskuläre Mortalität bestimmen konnten<sup>83,99,100</sup>. Es scheint, dass die durch die chronische Niereninsuffizienz verursachte Urämie per se ein atherogenetisches Milieu bildet, welches die Arteriosklerose-Entstehung begünstigt und durch erhöhte Kalzium-Phosphat-Derivate<sup>101</sup>, Hyperparathyroidismus<sup>102</sup>, Hyperhomocysteinämie<sup>74,103</sup> und chronische Entzündung<sup>104,105</sup> noch zusätzlich verstärkt wird. Einige der „traditionellen“ Risikofaktoren für das Eintreten kardiovaskulärer Ereignisse in der Normalbevölkerung

scheinen bei Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion ungeeignet zu sein, was insbesondere für Hämodialyse-Patienten gilt. Andererseits tragen bei ihnen so genannte „nichttraditionelle“ Risikofaktoren, urämisches Milieu und vielleicht auch die Hämodialyse-Prozedur zur Arteriosklerose-Entstehung bei. Ferner spielt für das erhöhte Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion eine Rolle, dass sie eine weniger konsequente und aggressive Therapie für die anderen Risikofaktoren erhalten<sup>106,107</sup>. Trotz vieler Studien herrscht über die genauen pathogenetischen Mechanismen, die bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu der hohen kardiovaskulären Mortalität führen, noch weitgehend Unklarheit<sup>108</sup>. Weitere Forschungen sind notwendig, um Risikofaktoren zu identifizieren wie auch geeignete Präventivmaßnahmen und Behandlungsstrategien zu entwickeln<sup>76</sup>.

#### **1.3.3.4 Art der chronischen Niereninsuffizienz**

Bei chronischer Niereninsuffizienz, unabhängig von deren Ursache, besteht ein erhöhtes Risiko für das Eintreten kardiovaskulärer Ereignisse, denn die chronische Niereninsuffizienz ist mutmaßlich selbst ein Prädiktor dafür, kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden<sup>83</sup>. Das Risiko ist bei den verschiedenen Ursachen der chronischen Niereninsuffizienz unterschiedlich hoch. Die häufigste Ursache einer chronischen Niereninsuffizienz ist Diabetes mellitus mit ungefähr 40%, gefolgt von der Gruppe der Glomerulonephritiden mit etwa 20%. Im Vergleich der Ursachen ist Diabetes mellitus, welches massiv auf die Gefäße von Nieren und des kardiovaskulären Systems einwirkt, ein deutlich stärkerer Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse als die Summe der verschiedenen Glomerulonephritiden, welche eine sehr heterogene Gruppe bilden und sich in Klinik und Prognose teilweise deutlich unterscheiden. Bei einer chronischen Niereninsuffizienz, welche primär eine nephrogene Ursache besitzt (z.B. Nierenarterienstenose, primäre Glomerulonephritiden), treten kardiovaskuläre Ereignisse seltener auf als bei einer chronischen Niereninsuffizienz mit systemischer Ursache. Weiterhin ist die Progression der Abnahme der GFR bei den einzelnen Nierenkrankheiten von Bedeutung. So treten beispielsweise bei Diabetes-Patienten und Transplantat-Empfängern, bei denen es im Vergleich zu Hypertonie-Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu einer rascheren Abnahme der GFR kommt, kardiovaskuläre Erkrankungen im Beobachtungszeitraum häufiger auf.

### 1.3.3.5 Hyperhomocysteinämie

Homocystein ist eine vorwiegend intrazellulär lokalisierte schwefelhaltige Aminosäure, die bei gesunden Personen in nennenswerten Quantitäten normalerweise weder im Blut-Plasma noch im Urin zu finden ist. Eine Herabsetzung der Nierenfunktion führt zu einer Erhöhung der Konzentration von Homocystein<sup>13</sup>. Bei einer Einschränkung der GFR auf <70 mL/min kann ein Anstieg von Homocystein im Blut-Plasma bis auf das Zehnfache der normalen Konzentration gefunden werden<sup>109</sup>. Pathologisch erhöhtes Homocystein bzw. eine Hyperhomocysteinämie kann Proliferation der glatten Muskulatur, endotheliale Dysfunktion, Thrombozyten-Aggregation und Aktivierung der Faktoren V, X und XII verursachen – allesamt Komponenten, die auch an der Entstehung arteriosklerotischer Plaque beteiligt sind (siehe auch Kapitel 1.2.2). Bei CKD-Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen werden regelmäßig erhöhte Konzentrationen von Homocystein gefunden<sup>74,110</sup>. In verschiedenen Studien konnte eine erhöhte Konzentration von Homocystein bei CKD-Patienten als ein unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Mortalität<sup>103</sup> und kardiovaskuläre Ereignisse<sup>98,103</sup> bestimmt werden. Besonders gilt das für Dialyse-Patienten und Patienten nach Nierentransplantation<sup>109,111</sup>.

### 1.3.3.6 Hyperphosphatämie

Bei reduzierter GFR sinken die Konzentrationen von Calcitriol (Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>) und Kalzium im Plasma typischerweise ab, während die Konzentrationen von Phosphat und Parathormon (PTH) ansteigen<sup>112</sup>. Häufigkeit und Schwere von Knochenbrüchen und Knochenerkrankungen sind mit einer reduzierten GFR assoziiert. Ein abnormer Kalzium-Phosphat-Metabolismus und erhöhter Phosphat-Spiegel führen zu Knochenschmerzen, erhöhtem Frakturrisiko und kardiovaskulären Kalzifikationen, welche an der Entstehung arteriosklerotischer Plaque wesentlichen Anteil besitzen (siehe auch Kapitel 1.2.2). Verschiedene Studien fanden bei Patienten mit unterschiedlich schwerer Niereninsuffizienz Kalzifikationen der Arterien und arteriosklerotischen Plaque<sup>16,18,67</sup>, welche zum Teil um ein Vielfaches höher waren als die Kalzifikationen von Patienten ohne Niereninsuffizienz<sup>113</sup>. Unter Verwendung von „Electron Beam Computer-Tomographie“ konnte gezeigt werden, dass erhöhte arterielle Kalzifikationen bereits bei Patienten mit leichter Niereninsuffizienz bestehen können<sup>16</sup>.

Kalzifikationen der kardialen Muskulatur und koronaren Gefäße sind verbunden mit erhöhtem Auftreten von HRST, links ventrikulärer Dysfunktion, Ischämie und hypervolämischem Herzversagen. Die genaue Pathogenese der Kalzifikation bei chronischer Niereninsuffizienz ist noch weitgehend ungeklärt, erhöhtes Parathormon, erhöhte Kalzium-Phosphat-Produkte und Hyperphosphatämie tragen aber wahrscheinlich dazu bei. Verschiedene Studien konnten bei erhöhten Phosphaten und Kalzium-Phosphat-Produkten eine gesteigerte Mortalität feststellen<sup>102</sup>. In einer Studie von Ganesh S.K. et al. konnte beispielsweise bei Hyperphosphatämie ein um 41% erhöhtes Risiko für kardiovaskulären Tod und ein um 20% erhöhtes Risiko für plötzlichen Tod („Sudden Death“) ermittelt werden<sup>114</sup>.

### **1.3.3.7 Männliches Geschlecht**

Zugehörigkeit zum männlichen Geschlecht zählt zu den so genannten „klassischen“ bzw. „traditionellen“ kardiovaskulären Risikofaktoren. Bei Bestehen des Merkmals männliches Geschlecht konnte in verschiedenen uni-<sup>3</sup> und multivariaten Analysen<sup>73</sup> eine rascher voranschreitende Einschränkung der GFR gefunden werden. Andere Studien gelangten indes zu keinen eindeutigen Ergebnissen<sup>5,72</sup>. Für Männer mit leichter chronischer Niereninsuffizienz konnte, verglichen mit Frauen mit leichter chronischer Niereninsuffizienz, ein leicht erhöhtes Risiko ermittelt werden, den Endpunkt Gesamt-Mortalität zu erreichen<sup>94</sup>. In der „Framingham Heart Study“ erwies sich bei Männern ein erhöhtes Serum-Kreatinin von 1,5 – 3,0 mg/dL als Prädiktor für den Endpunkt Mortalität, nicht aber ein erhöhtes Serum-Kreatinin von 1,4 – 3,0 mg/dL bei Frauen. Für den Endpunkt kardiovaskuläre Ereignisse konnte ein signifikantes Ergebnis bei keinem der beiden Geschlechter gefunden werden<sup>94</sup>.

### **1.3.3.8 Erhöhtes Alter**

Die GFR nimmt mit jedem Lebensjahrzehnt um etwa 7 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> ab. Deshalb besteht im höheren Alter, wenn es zu einer chronischen Niereninsuffizienz kommt, in der Regel eine geringere Ausgangsnierenfunktion („Low Baseline Kidney Funktion“). Sowohl eine geringere Ausgangsnierenfunktion als auch ein höheres Lebensalter sind assoziiert mit einer schnelleren Reduktion der GFR, was in uni- und multivariaten

Analysen für die Gesamtheit aller CKD-Patienten<sup>5</sup>, CKD-Patienten mit Diabetes mellitus<sup>72</sup>, CKD-Patienten ohne Diabetes mellitus<sup>72</sup> und CKD-Patienten mit Hypertonie<sup>73</sup>, ermittelt werden konnte. Andere Studien konnten keinen Zusammenhang zwischen erhöhtem Alter und einer GFR-Einschränkung ermitteln oder fanden, beispielsweise bei Patienten ohne Diabetes mellitus, sogar eine statistisch signifikante Assoziation zwischen erhöhtem Alter und verlangsamt fortschreitender Einschränkung der GFR<sup>3</sup>. Bei den besseren Studien überwiegen zahlenmäßig aber diejenigen, welche einen Zusammenhang zwischen erhöhtem Alter und zunehmender Einschränkung der GFR ermitteln konnten. Eine leichte chronische Niereninsuffizienz findet sich bei 5 – 10% der Erwachsenen, besonders häufig bei erhöhtem Alter<sup>9</sup> und Patienten mit bekannter Arteriosklerose<sup>91</sup>. In verschiedenen Studien wurde erhöhtes Alter als ein Risikofaktor für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen identifiziert<sup>88</sup>. Doch auch wenn Alter einen Risikofaktor bedeutet, weisen zugleich bestimmte jüngere Personen-Gruppen, so zum Beispiel Jugendliche mit terminaler Niereninsuffizienz, ebenfalls ein hohes Risiko auf, kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden<sup>101</sup>.

#### **1.3.3.9 Schwarze (afrikanische) Rasse**

Die weiße bzw. kaukasische Rasse zählt zu den „klassischen“ Risikofaktoren für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen bei Personen ohne Einschränkung der Nierenfunktion. Ist jedoch eine eingeschränkte Nierenfunktion vorhanden, weisen Personen der schwarzen bzw. afrikanischen Rasse ein erhöhtes Risiko auf. Denn bei ihnen besteht eine signifikant schneller voranschreitende GFR-Einschränkung, was in uni- und multivariaten Analysen für Patienten ohne Diabetes mellitus<sup>3</sup> und mit Diabetes mellitus<sup>72</sup> gezeigt werden konnte. Die „III National Health and Nutrition Examination Survey“ (NHANES III) stellte fest, dass bei Angehörigen der farbigen Rasse die Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz erhöht ist, was sowohl für Fälle mit leichter<sup>90</sup> als auch für Fälle mit schwerer chronischer Niereninsuffizienz gilt<sup>115</sup>. Eine andere Analyse der NHANES III gelangte zu dem Resultat, dass die interrassischen Unterschiede nicht an der höheren Prävalenz von leichter und schwerer chronischer Niereninsuffizienz bei Farbigen liegen, sondern an der schnelleren Progression der Nierenfunktionseinschränkung bei Farbigen<sup>116</sup>. Ferner spielt eine Rolle, dass der starke „klassische“ Risikofaktor arterielle Hypertonie bei Farbigen weiter verbreitet ist als bei



Weißer, häufiger in jüngeren Lebensjahren auftritt und sie höhere durchschnittliche systolische und diastolische Blutdruckwerte aufweisen<sup>117</sup>. Weiterhin haben Farbige bei gleicher Kreatinin-Konzentration eine höhere GFR als Weiße, was zu Verfälschungen der Ergebnisse führen kann<sup>118</sup>. Es wird vermutet, dass Farbige häufiger und stärker ausgeprägt an subklinischen arteriosklerotischen Gefäßveränderungen, Hypertonie und Diabetes mellitus leiden – und diese Erkrankungen auch häufiger unentdeckt bleiben. Eine umfangreiche Studie, die Daten und Patienten aus der „Atherosclerosis Risk in Communities Study“ (ARIC), der „Cardiovascular Health Study“ (CHS), der „Framingham Heart Study“ (FHS) und der „Framingham Offspring Study“ (Offspring) zusammenfasste, fand einen signifikanten Zusammenhang zwischen Rasse und chronischer Niereninsuffizienz. Deutlich mehr Farbige (38,4%) als Weiße (29,2%) erreichten den kombinierten Endpunkt aus Gesamt-Mortalität, Myokardinfarkt, schwerer koronarer Ischämie und cerebralem ischämischen Insult ( $p = 0,002$ )<sup>90</sup>.

#### **1.3.3.10 Proteinurie**

Eine Proteinurie liegt bei einem Eiweißverlust von mehr als 500 mg pro Tag vor. Die Menge an normal mit dem Urin ausgeschiedenen Protein (Total- bzw. Gesamtprotein) beträgt ungefähr 50 mg pro Tag. Eine Proteinurie konnte als starker und unabhängiger Prädiktor einer GFR-Einschränkung bei chronischer Niereninsuffizienz unterschiedlicher Ursache bestimmt werden<sup>119</sup>. Für die Proteinurie wurde eine positive Korrelation mit dem Alter, der Schwere einer arteriellen Hypertonie, den Blut-Konzentrationen von Cholesterin und Triglyzeriden<sup>120</sup> sowie eine negative Korrelation mit der Konzentration von HDL gefunden<sup>121</sup>. Bei Vorliegen von Hypoproteinämie, Hyperlipidämie und Ödemen besteht ein nephrotisches Syndrom. Die täglich in den Nieren filtrierte Menge des Plasma-Eiweiß Albumin (Molekulargewicht 68 kDa) beträgt etwa 1 – 2 Gramm, die Menge des mit dem Urin ausgeschiedenen Albumins ungefähr 10 mg pro Tag und kann beispielsweise bei Fieber oder Gravidität erhöht sein. Eine Albuminurie kann bei bestimmten Patienten-Gruppen bzw. Erkrankungen der Nieren ein sensitiverer Marker sein als Gesamtprotein, so beispielsweise bei Kindern und Patienten mit Diabetes mellitus oder arterieller Hypertonie. Proteinurie wie Albuminurie sind, so konnte in uni- und multivariaten Analysen nachgewiesen werden, signifikant mit einer schnelleren Reduktion der GFR assoziiert<sup>3,5</sup>. Der Albumin-Spiegel fällt, wenn die GFR auf  $<60$

mL/min/1,73 m<sup>2</sup> sinkt, wobei die Höhe der GFR als Indikator des Verlusts der Nierenfunktion signifikant mit der abnehmenden Konzentration von Plasma-Eiweiß und Plasma-Albumin in Beziehung steht <sup>3,122</sup>. Eine Proteinurie zeigt nicht nur eine Nierenerkrankung an, sondern spiegelt auch eine schlechte renale wie kardiovaskuläre Prognose wider <sup>123</sup>. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass Proteinurie und Albuminurie mit einer erhöhten Rate von kardiovaskulären Erkrankungen <sup>124</sup>, kardiovaskulärer Mortalität <sup>124</sup> und Gesamt-Mortalität <sup>124</sup> signifikant assoziiert sind.

### 1.3.3.11 Malnutrition

Mangelernährung wird bei Erkrankungen der Nieren einerseits durch den erniedrigten Appetit hervorgerufen, verursacht durch die ablaufenden metabolischen und hormonellen Umstellungen, andererseits durch die spezielle Diät, welche Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz einhalten müssen. Geht Albumin über die Niere verloren oder wird es vermindert gebildet, sinkt der kolloidosmotische Druck. Flüssigkeit und Salz werden in den interstitiellen Raum verschoben – es resultiert eine Hypovolämie und es treten hypalbuminämische Ödeme auf. Reaktiv kommt es zu einer verstärkten Synthese von prä-Beta- und Beta-Lipoprotein, Erhöhung des Antidiuretischen Hormons (ADH) und sekundären Hyperaldosteronismus (siehe Kapitel 1.3.3.12). In uni- und multivariaten Analysen konnte vermindertes Serum-Albumin (<4,0 g/dL) als ein Prädiktor der Progression der Nierenfunktionseinschränkung bestimmt werden, was insbesondere für Patienten mit Diabetes mellitus gilt <sup>3</sup>. Albumin reflektiert den verminderten Ernährungsstatus und ist ein unabhängiger Prädiktor für erhöhte Mortalität (siehe auch Kapitel 1.3.3.10). Besteht zusätzlich zum durch die chronische Niereninsuffizienz verursachten Mangel an Albumin noch eine Malnutrition, ist die Konzentration von Albumin im Plasma noch stärker erniedrigt. Die Höhe der GFR ist signifikant assoziiert mit der täglichen Aufnahme an Kilokalorien (kcal) und Protein, ebenso wie mit der Konzentration von Gesamtcholesterin und Transferrin – in der Praxis übliche Blutmarker zur Einschätzung des Ernährungszustandes <sup>122</sup>. Stenvinkel P. et al. konnten die enge Interaktion zwischen Malnutrition, Entzündung und Auftreten der Arteriosklerose bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zeigen <sup>105</sup>.

### **1.3.3.12 Extrazelluläre Volumenüberlastung/aktiviertes Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)**

Bei chronischer Niereninsuffizienz kann, abhängig von Ursache und Stadium, sowohl Retention von Wasser und Salz, oft als isotone Hyperhydratation, als auch Verlust von Wasser und Salz, oft als hypotone Dehydratation, gefunden werden. Hypovolämie und/oder Natriummangel führen zu einer Aktivierung des juxtaglomerulären Apparates der Niere. Dadurch kommt es zur Ausschüttung von Renin, das Angiotensinogen in Angiotensin I umwandelt, nach Einwirken durch das Converting-Enzym zu Angiotensin II gespalten wird und Aldosteron freisetzt. Angiotensin II und Aldosteron erhöhen den Blutdruck und führen zur Retention von Flüssigkeit und Salz – es resultiert eine Volumenbelastung des Herz-Kreislauf-Systems, besonders des linken Ventrikels <sup>125</sup>. Eine reduzierte Nierenfunktion ist assoziiert mit dem erhöhten Auftreten von links ventrikulärer Hypertrophie <sup>125</sup>, welche wie auch hypervolämisches Herzversagen (CHF; „Congestive Heart Failure“) ein starker Prädiktor für das Erreichen des Endpunkts Mortalität ist. Mann J.F. et al. konnten zeigen, dass speziell bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz die Hemmung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems die Häufigkeit des Erreichens der Endpunkte Myokardinfarkt, cerebraler ischämischer Insult und kardiovaskulärer Tod herabzusetzen vermag <sup>91</sup>.

### **1.3.3.13 Entzündung und oxidativer Stress**

Zentralen Anteil an der Pathogenese der Arteriosklerose besitzen die bekannte Entzündungsreaktion und oxidativer Stress <sup>19</sup>. Ausgelöst wird der oxidative Stress durch hoch reaktive Sauerstoffradikale („Reactive Oxygen Radicals“; ROS; z.B. Sauerstoffsuperoxid, Hydroxylradikale, Hydroxylperoxide oder Peroxynitrate), welche aber nicht notwendigerweise pathologisch wirken müssen. Das tun sie erst, wenn es zu einer Unausgewogenheit zwischen den die Sauerstoffradikale bildenden und den antioxidativ wirkenden Mechanismen kommt, was eine Anhäufung von Sauerstoffradikalen zur Folge hat. Eine chronische Niereninsuffizienz führt zu einer Verminderung der Erythrozyten, welche die Sauerstoffradikale aus dem Blut-Plasma entfernen können. Infolgedessen sind die Blutmarker von systemischer Entzündungsreaktion und oxidativem Stress mit großer individueller Schwankungsbreite erhöht, wobei ein direkter Zusammenhang zwischen der Höhe verschiedener Entzündungsmarker und dem Fortschreiten der

Nierenfunktionseinschränkung gefunden werden konnte<sup>13,105,126</sup>. Mutmaßlich besitzt die Entzündung, genauer ihre arteriosklerotische Potenz, einen wesentlichen Anteil am vermehrten Auftreten kardialer Komplikationen<sup>105,127</sup>. Die meisten Veröffentlichungen beschäftigen sich dabei mit C-reaktivem Protein<sup>105,128</sup>, was als ein fähiger Prädiktor für Gesamt-Mortalität und kardiovaskuläre Mortalität in der Allgemeinbevölkerung<sup>104</sup> wie auch bei Patienten mit renaler Insuffizienz<sup>127</sup> bestimmt werden konnte (siehe Kapitel 1.3.4.3). Aber auch andere Entzündungsmediatoren sind Gegenstand aktueller Forschungen<sup>58,129</sup>. So sind in diesem Zusammenhang unter anderem die proinflammatorischen bzw. proentzündlichen Marker von Interesse, insbesondere Vertreter aus der Gruppe der Zytokine, die in arteriosklerotischen Läsionen nachgewiesen werden konnten<sup>130</sup>. Verschiedene Zytokine, beispielsweise Interleukin 6, sind bei renaler Insuffizienz erhöht und mit einem deutlich gesteigerten Risiko verbunden, kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden<sup>130,131</sup>.

#### **1.3.3.14 Gesteigerte Koagulation**

Die Kaskaden der Aktivierung und Hemmung von Koagulation und Fibrinolyse, welche auch im gesunden Organismus permanent nebeneinander ablaufen, werden von zahlreichen Faktoren getragen, die zu einem wesentlichen Teil in der Leber gebildet werden und sich in einer komplexen Balance befinden. Bei chronischer Niereninsuffizienz ist dieses Gleichgewicht auf mehreren Ebenen gestört. So werden aufgrund des Proteinverlusts (siehe Kapitel 1.3.3.10 und 1.3.3.11) die Gerinnungsfaktoren I, V, VII und X reaktiv verstärkt synthetisiert, ebenso bestimmte Lipoproteine, welche gewöhnlich auch noch in der Zusammensetzung pathologisch verändert sind<sup>84</sup>. Verschiedenste erhöhte proinflammatorische und prothrombotische Blutwerte können gefunden werden, was unter anderem deshalb von Interesse ist, weil sie enge Beziehungen zu den Entzündungsmediatoren besitzen, so zum Beispiel über die ebenfalls in diesem Zusammenhang Aufmerksamkeit erfahrenden Interleukine, die bei der Aktivierung und Hemmung von Koagulation und Fibrinolyse eine Rolle spielen<sup>126</sup>. Veränderte Blutzusammensetzung und Einschränkung des Plasma-Volumens bei chronischer Niereninsuffizienz scheinen die Neigung zu Gerinnungsstörungen und Thromboembolien deutlich zu verstärken<sup>126</sup>.

### 1.3.3.15 Anämie

Nach Definition der „World Health Organization“ (WHO) liegt eine Anämie bei einer Hämoglobin-Konzentration von weniger als 13 g/dL beim erwachsenen Mann und weniger als 12 g/dL bei einer erwachsenen Frau vor. Nach den „Clinical Practice Guidelines for Anemia of Chronic Kidney Disease“ der „Kidney Disease Outcome Quality Initiative Guidelines“ (K/DOQI) sollte bei Patienten mit einer Einschränkung der GFR auf  $<60 \text{ mL/min/1,73 m}^2$  überprüft werden, ob eine Anämie vorliegt. Bei nahezu jedem Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz besteht eine Anämie<sup>132</sup>, meist dadurch verursacht, dass Erythropoietin vermindert gebildet wird, was zu einer herabgesetzten Synthese von Hämoglobin führt<sup>133</sup>. Die Schwere der Anämie korreliert dabei mit Dauer und Schwere der chronischen Niereninsuffizienz. Es besteht eine inverse signifikante Beziehung zwischen Höhe der GFR und einer Anämie, sowie eine positive signifikante Beziehung zwischen Höhe der GFR und dem Hämatokrit<sup>133</sup> und Höhe der GFR und der Hämoglobin-Konzentration<sup>125</sup>. Ob das Vorliegen einer Anämie die Prognose der chronischen Niereninsuffizienz direkt verschlechtert oder nur Ausdruck der Schwere der Nierenerkrankung ist, muss noch abschließend geklärt werden. In diesem Sinne konnte bei Vorliegen einer Anämie eine Beschleunigung der Reduktion der GFR gefunden werden<sup>134</sup>, ebenso eine Assoziation mit einer erhöhten Anzahl an Krankenhausaufenthalten, kardiovaskulären Erkrankungen und dem Erreichen des Endpunkts Mortalität<sup>135,136</sup>.

### 1.3.4 Biochemische Risikomarker für kardiovaskuläre Ereignisse bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz

Um den Funktionszustand der Nieren ungefähr abzuschätzen, bestimmt man die Konzentration von Kreatinin im Blut, welche durch Retention ab einer bestimmten Einschränkung der Nierenfunktion erhöht ist (siehe Kapitel **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.**). Die Troponine sind der gegenwärtig bevorzugte Marker beim Verdacht eines kardialen ischämischen Ereignisses. Einen dem Kreatinin und den Troponinen in der Wertigkeit ebenbürtigen Marker, der unter Berücksichtigung der Einschränkung der Nierenfunktion Aussagen über das Eintreten kardialer Ereignisse ermöglicht, gibt es derzeit nicht. Die in diesem Kapitel aufgeführten Substanzen sind auch keine Marker im klassischen Sinn und nicht klar von den

Risikofaktoren abzugrenzen (siehe Kapitel 1.3.2 und 1.3.3). Die meisten Studien beschäftigen sich mit nur einem einzelnen Marker, vergleichen Markersubstanzen der gleichen Gruppe (z.B. cTnT und cTnI) oder gleichen Wirkungsweise bzw. des gleichen Wirkungsortes (z.B. CK-MB, Myoglobin und Troponin). In letzter Zeit wurden vermehrt auch Arbeiten veröffentlicht, welche sich mit Markersubstanzen aus verschiedenen Klassen, mit unterschiedlichen Funktionen und Wirkungsorten befassten – und die Vorteile ihrer gemeinsamen Verwendung zur Findung der Diagnose und zum Treffen prognostischer Aussagen zeigen konnten<sup>137,138</sup>. In der Studie von Apple F.S. et al. welche an Patienten mit ESRD – definiert als GFR <10,0 mL/min pro 1,73 m<sup>2</sup> – den prädiktiven Wert verschiedener gegenwärtig diskutierter Biomarker (NT-proBNP, hsCRP, cTnT, cTnI) für den Endpunkt Gesamt-Mortalität unter Verwendung der von den Herstellerfirmen angegebenen „Cutoff’s“ über einen Beobachtungszeitraum von 2 Jahren untersuchte, konnte der Vorteil des Einsatzes mehrerer verschiedener Biomarker in Kombination demonstriert werden<sup>137</sup>. Für die Marker hsCRP, cTnT und cTnI gelang dies bei Verwendung der vom Hersteller der Tests empfohlenen „Cutoff’s“ zur kardialen Diagnostik, für NT-proBNP, welches bei 99% der Patienten über den „Cutoff“ erhöht war, nach Anwendung von Tertilen. Der prädiktive Wert der einzelnen Marker unterschied sich dabei deutlich und unter Verwendung von „Receiver-Operating Characteristic“- (ROC)-Kurven konnte kein Risikomarker bzw. keine Cutoff-Konzentration bestimmt werden, die optimal zur Risikostratifizierung gewesen wäre<sup>137</sup>. Die meisten Studien, welche Marker aus verschiedenen Klassen untersuchen, beschäftigen sich mit Troponin und CRP – zwei Markersubstanzen, die auf unterschiedlichen Synthesewegen gebildet werden, getrennt im Körper vorkommen und durch unterschiedliche Mechanismen ins Blut freigesetzt werden – also unabhängig voneinander sind. In der Untersuchung von deFilippi C. et al. an ESRD-Patienten ohne Symptome einer Ischämie konnte demonstriert werden, dass die Kombination von cTnT und CRP eine größere prognostische Aussagekraft schaffen kann als die Verwendung nur eines der Marker allein. Bei nahezu der Hälfte aller kardialen Todesfälle lag eine hohe Konzentration von cTnT und CRP vor. Waren bei den Patienten stark erhöhte Konzentrationen von cTnT und CRP vorhanden, bestand im Vergleich zu Patienten mit gering erhöhtem cTnT und CRP ein zweieinhalbfach erhöhtes Risiko zu versterben. Bei Patienten mit nur einem stark erhöhten Marker (cTnT oder CRP) lag das ermittelte Risiko zu versterben zwischen dem Risiko für beide stark erhöhten Marker und dem

Risiko für beide nur leicht erhöhten Marker<sup>139</sup>. Die Studie von deFilippi C. et al. ergänzt damit den Erkenntnisstand anderer Arbeiten, die bereits zeigen konnten, dass bei Hämodialyse-Patienten erhöhte Entzündungsmediatoren bzw. eine Erhöhung von CRP in ungefähr 70% der Fälle gefunden werden kann<sup>140,141</sup>, erhöhtes cTnT in ungefähr 30% bis 75%<sup>142,143</sup>. Sind cTnT und CRP erhöht, konnte in mehreren Studien eine deutlich erhöhte Zahl von kardialen Ereignissen, eine erhöhte kardiale Mortalität und Gesamt-Mortalität gefunden werden<sup>140,142</sup>. Pauschal lässt sich sagen, dass die Verwendung verschiedener Marker gemeinsam wegen der erhöhten prädiktiven Aussagekraft Vorteile besitzt, ihr Vergleich gegenwärtig aber nicht unproblematisch ist, da es an notwendigen Standardisierungen mangelt und die verschiedenen Biomarker nicht „gleich“ mit einer Einschränkung der Nierenfunktion ansteigen. Die verschiedenen „Cutoff's“ sollten bei Vorliegen einer Nierenfunktionseinschränkung in Abhängigkeit von der Stärke der Nierenfunktionseinschränkung individuell festgelegt werden, da sonst beispielsweise „Cutoff's“, welche in der Normalbevölkerung signifikant zu „richtig positiven“ Ergebnissen führen, bei CKD-Patienten vermehrt falsche Bestimmungen, vor allem „falsch positive“ Ergebnisse, zur Folge haben können<sup>137,138,144</sup>.

#### 1.3.4.1 Troponin

Die Troponine sind Aktin-Myosin-ATPase-hemmende Regulatorproteine und als Troponin I (cTnI), Troponin C (cTnT) und Troponin T (cTnT) Bestandteil des kardialen Troponin-Komplexes. Die kardialen Troponine besitzen bei intakter Nierenfunktion eine hohe Sensitivität und Spezifität dafür, ischämische myokardiale Schädigungen zu detektieren. Als Kurz- wie auch Langzeitrisikomarker genießen die Troponine breite Akzeptanz und finden deshalb in der klinischen kardialen Diagnostik alltäglich vielfache Anwendung. In den Guidelines der „European Society of Cardiology“ (ESC), dem „American College of Cardiology“ (ACC) und der „American Heart Association“ (AHA) wurde festgelegt, dass cTnI, mehr aber noch cTnT die bevorzugten Biomarker zur Bestimmung einer myokardialen Schädigung und zur Diagnose eines Myokardinfarktes sein sollten<sup>56,145</sup>. Die Bedeutung der Troponine ist dadurch noch weiter gestiegen, dass nach Neudefinition der ESC/ACC im Jahre 2000 Troponin positive Patienten mit ACS nicht mehr als instabile Angina Pectoris, sondern als Myokardinfarkt klassifiziert werden<sup>146</sup>. Troponine besitzen den größten prädiktiven Vorhersagewert bei Patienten mit ACS.

Gleichfalls korreliert die Sterblichkeit besser als bei jedem anderen Marker mit der Höhe der im Blut bestimmten Konzentration, unabhängig von der Art der kardialen Schädigung und davon, ob eine renale Funktionseinschränkung besteht<sup>147</sup>. Dass es bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu einer Erhöhung von cTnT und cTnI kommt, haben in den letzten Jahren zahlreiche Studien belegt<sup>142,148</sup> und weiterhin zeigen können, dass erhöhte Troponine mit einem erhöhten Risiko einhergehen, kardiovaskuläre Schädigungen zu erleiden<sup>143,156</sup>. Einige Untersuchungen gelangten aber auch zu gegenteiligen Ergebnissen. So die Studie von Möckel M. et al., in der für erhöhtes cTnT und cTnI bei Patienten mit Niereninsuffizienz kein signifikant erhöhtes kardiales Risiko ermittelt werden konnte<sup>157</sup>.

Apple F.S. et al. fanden für erhöhtes cTnT bei ESRD-Patienten ein zwei- bis fünffach gesteigertes Risiko, den Endpunkt Mortalität innerhalb der nächsten beiden Jahre zu erreichen. Für erhöhtes cTnI wurde hingegen nur ein zweifach höheres Risiko bestimmt, wobei cTnT sowohl bei einer größeren Anzahl von Patienten als auch in höherer Konzentration als cTnI bestimmt werden konnte<sup>143</sup>. Verschiedene andere Studien fanden im Vergleich von cTnT und cTnI ebenfalls die „besseren“ Resultate für cTnT. Ein scheinbarer Widerspruch, da alle Troponine vom verletzten Myokard als Troponin-Komplex freigesetzt werden und deshalb äquimolar im Blut zu finden sein müssten, welcher sich durch Induktion metabolischer Prozesse und analytische Ursachen wie unterschiedliche Antikörper-Spezifität und -Bindung erklärt. Weitere Erklärungen sind die erhöhte Masse des linken Ventrikels bei ESRD-Patienten, was zu einem veränderten Freisetzungsmuster führt<sup>149</sup> sowie eine stärkere Retention bzw. längere Halbwertszeit von cTnT<sup>150</sup>. Besonders bei Dialysepflichtigkeit besteht eine Tendenz zur Anreicherung von cTnT, wohingegen das labilere cTnI, welches durch die Dialyse-Prozedur stärker als cTnT verändert wird, vermehrt mit der Dialyse verloren geht<sup>151</sup>. Schon für geringe Erhöhungen von cTnT bei ESRD-Patienten ohne Zeichen einer Ischämie konnte ein deutlich erhöhtes Risiko ermittelt werden, innerhalb der nächsten beiden Jahre eine koronare Erkrankung zu entwickeln<sup>139</sup>. In derselben Patienten-Population konnte das Risiko einer koronaren Mehrgefäßerkrankung für Patienten mit starker Erhöhung von cTnT, gegenüber Patienten mit leichter Erhöhung von cTnT, als um den Faktor 3,7 erhöht bestimmt werden<sup>139</sup>. Zwischen erhöhten Troponinen (cTnT, cTnI) und koronarangiographischen Befunden konnte bei ESRD-Patienten ein signifikanter Zusammenhang ermittelt werden<sup>139</sup>. Ebenfalls konnte an



ESRD-Patienten gezeigt werden, dass cTnT nicht nur als Kurzzeitriskomarker Wertigkeit besitzt, sondern auch bei einem längeren Beobachtungszeitraum ein guter Prädiktor für die Endpunkte Gesamt-Mortalität und kardiovaskuläre Mortalität ist <sup>142,152</sup>. Einige Unklarheit herrscht gegenwärtig noch über die Ursache der Erhöhung der Troponine bei Patienten mit renaler Funktionseinschränkung, aber ohne erkennbare kardiovaskuläre Schädigung. In der Vergangenheit wurde die Aussagekraft der Troponine bei Dialyse-Patienten mit Verdacht eines ACS eher kritisch beurteilt und die Erhöhung oft als „falsch positiv“ gewertet, obwohl de facto eine Erhöhung der Troponine bestand. Bisher noch unentdeckte Mechanismen müssen neben denen des ACS existieren, die bei einer Nierenschädigung zu einer Erhöhung der Troponine führen. Verschiedene – teilweise inzwischen wieder verworfene – Hypothesen wie fetale Expression von cTnT in der Skelettmuskulatur oder Antikörperkreuzreaktionen wurden zur Erklärung dieser als „falsch positiv“ vermuteten Werte aufgestellt <sup>153</sup>. Diris J.H. et al. gelang es kürzlich nachzuweisen, dass die Konzentration von cTnT im Verhältnis zur Länge der Zeit der Dialyse ansteigt <sup>154</sup>. Zusammen mit dem beobachteten Auftreten von cTnT-Fragmenten bei Dialyse-Patienten führte das zu der Hypothese, dass es zu einer in-vivo-Fragmentation und Akkumulation von cTnT bei Dialyse-Patienten kommen könnte. Weiterhin wird vermutet, dass diese „falsch positiven“ Tests klinisch signifikante, aber asymptomatische, kardiale Schädigungen repräsentieren könnten <sup>155</sup>.

#### **1.3.4.2 B-Typ natriuretisches Peptid**

Die B-Typ natriuretischen Peptide („Brain Natriuretic Peptide“; BNP; B = Brain), benannt nach dem Bildungsort im Gehirn – neben dem im Myokard –, hemmen wie auch die atrialen natriuretischen Peptide (ANP; A = Atrium) die zentralen Wirkungen von Angiotensin II in den hypothalamusnahen zirkumventrikulären Organen. BNP und sein Prohormon NT-proBNP sind maßgeblich an der Regulation des Blutdrucks sowie der Elektrolyt- und Volumen-Homöostase beteiligt <sup>158</sup>. Als funktionale Antagonisten von Angiotensin II unterdrücken sie die ADH-Freisetzung, mindern den Blutdruckanstieg und wirken gesteigertem Durst entgegen <sup>159</sup>. Die Konzentration der B-Typ natriuretischen Peptide steigt mit dem Lebensalter an und ist bei Frauen höher als bei Männern <sup>144</sup>. Bei erhöhter Wandspannung der Herzventrikel werden BNP und NT-proBNP freigesetzt <sup>160</sup>, was, wie verschiedene Studien zeigen konnten, die B-Typ

natriuretischen Peptide zu geeigneten Prädiktoren für das Überleben von Patienten mit hypervolämischem Herzversagen („Congestive Heart Failure“; CHF) macht <sup>159,161</sup>. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz besitzen einen höheren peripheren Gefäßwiderstand als Personen der Normalbevölkerung und weisen außerdem meist Volumenabnormalitäten auf. Sie haben folglich eine chronisch erhöhte ventrikuläre Nachlast, weshalb bei ihnen regelmäßig signifikant erhöhte Konzentrationen der natriuretischen Peptide gefunden werden. Die Konzentration scheint dabei vom Grad der renalen Insuffizienz abhängig zu sein, weshalb die höchsten Konzentrationen bei Dialyse-Patienten gefunden werden <sup>162</sup>. NT-proBNP und BNP sind nützliche Biomarker der sich verändernden myokardialen Funktion bei Patienten mit akutem Herzversagen, können bei der Diagnosefindung des ACS hilfreich sein und besitzen prädiktiven Wert für die Endpunkte Myokardinfarkt und Mortalität <sup>159,163</sup>. BNP und NT-proBNP weisen aber auch Defizite auf. So bestimmten Untersuchungen von Clerico A. et al. den prognostischen Nutzen von NT-proBNP als begrenzt, da es ungeeignet ist, akute Änderungen der Vorlast während der Dialyse zu detektieren, und weniger tauglich als BNP, Marker von links ventrikulärer Hypertrophie und kardialen Schädigungen bei ESRD-Patienten zu sein <sup>161</sup>. In einer Studie von Leowattana W. et al. erwies sich NT-proBNP als ein geeigneter Marker von kardialer Ischämie und Herzversagen in der Normalbevölkerung, war bei Verwendung der normalen „Cutoff’s“ bei CKD-Patienten aber in 100% der Fälle positiv <sup>144</sup>. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangte eine Studie von Apple F.S et al., in welcher in 99% der Fälle über den vom Hersteller der Essays empfohlenen „Cutoff“ erhöhte Werte von NT-proBNP bei den untersuchten ESRD-Patienten gefunden wurden <sup>137</sup> (siehe auch Kapitel 1.3.4).

#### **1.3.4.3 C-reaktives Protein**

C-reaktives Protein („C-Reactive Protein“; CRP) ist wie Fibrinogen und Haptoglobin ein akute Phase Protein. Es ist maßgeblich an der humoralen Entzündungsreaktion beteiligt, hat die Fähigkeit zur Aktivierung von Komplement und fördert Präzipitation, Oponisation und Phagozytose von Bakterien. Ausgelöst wird die gesteigerte Synthese von CRP in der Leber bei Entzündungsreaktionen durch das proinflammatorische Monokin Interleukin 6 <sup>141</sup>, welches bei chronischer Niereninsuffizienz erhöht ist und selbst als Marker kardialer Ereignisse diskutiert wird (siehe Kapitel 1.3.3.13). CRP ist

der gegenwärtig robusteste nichtinvasive Marker der Entzündungsreaktion. Es ist bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen erhöht<sup>129</sup> und steigt nach ischämischen Ereignissen schnell an, weshalb CRP, obwohl nicht herzspezifisch, in der Frühphase des ACS diagnostische Wertigkeit besitzt und prognostische Aussagen zulässt<sup>164</sup>. Auch als Langzeitmarker kardialer Ereignisse scheint CRP dem Troponin T zumindest zum Teil überlegen zu sein, so beispielsweise bei Patienten nach erfolgreicher Revaskularisation<sup>165</sup>. Ein Nachteil des CRP ist seine fehlende Spezifität, denn es ist bei einer Vielzahl von entzündlichen Prozessen erhöht. Zahlreiche Untersuchungen fanden das CRP bei chronischer Niereninsuffizienz – sowohl bei noch nicht dialysepflichtigen<sup>128</sup> als auch dialysepflichtigen Patienten<sup>140</sup> – signifikant erhöht. Andere Arbeiten konnten keinen Zusammenhang zwischen sinkender GFR und Anstieg des CRP ermitteln<sup>129</sup>. Sind bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz die „traditionellen“ Risikofaktoren Diabetes mellitus und/oder Hypercholesterinämie vorhanden, können besonders ausgeprägte Erhöhungen der Konzentrationen von CRP gefunden werden<sup>129</sup>. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass CRP und hoch sensitives C-reaktives Protein („High-sensitivity C-Reactive Protein“; hsCRP) unabhängige Prädiktoren für Gesamt-Mortalität<sup>137</sup> und kardiovaskuläre Mortalität<sup>127</sup> in der Allgemeinbevölkerung<sup>104</sup> wie auch bei Patienten mit renaler Insuffizienz<sup>127</sup> sind, dabei aber wie viele Entzündungsmarker von Person zu Person ausgeprägte Schwankungen in den gemessenen Konzentrationen aufweisen. Besonders ausgeprägt sind diese interindividuellen Unterschiede bei Hämodialyse-Patienten. In der bereits bekannten Studie von Apple F.S. et al., die hsCRP mit cTnT, cTnI und NT-proBNP bei Patienten mit ESRD verglich, erwies sich hsCRP als der geeignetste Marker für den Endpunkt Gesamt-Mortalität<sup>137</sup>.

#### **1.3.4.4 Weitere Marker**

Neben den oben aufgeführten Substanzen befinden sich noch eine Reihe weiterer Marker im aktuellen Interesse der Wissenschaft. Entzündungs- und Retentionsparameter scheinen in diesem Zusammenhang vielversprechend zu sein, sind gleichzeitig aber auch Risikofaktoren für das Auftreten einer kardialen Schädigung. In der „Cardiovascular Health Study“ wurden bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz Erhöhungen diverser proinflammatorischer und prothrombotischer

Blutwerte gefunden <sup>126</sup>, welche in Zukunft vielleicht Bedeutung erlangen könnten. Namentlich sei hier das Zytokin Interleukin 6 genannt <sup>131,130</sup>. Ganz allgemein ist in diesem Zusammenhang noch vieles unklar und fügt sich nicht in das traditionelle Bild. So fand eine Studie von Oh J. et al. bei jungen Patienten mit ESRD Hyperparathyroidismus, Hyperphosphatämie, Hyperhomocysteinämie und deutlich erhöhte Entzündungsmarker – allesamt diskutierte „nichttraditionelle“ bzw. „CKD-verwandte“ Prädiktoren für das Auftreten einer kardialen Schädigung –, konnte andererseits aber keine der „traditionellen“ Risikofaktoren ermitteln <sup>67</sup>. Neben neuen sind auch einige altbekannte Substanzen im wissenschaftlichen Fokus, so zum Beispiel die herzspezifische Kreatinkinase (CK-MB). Nach alter Definition gilt die Diagnose Herzinfarkt bei einer CK-MB-Aktivität von über 6% der Gesamt-CK-Aktivität als gesichert. Nach den Richtlinien der AHA/ACC ist die CK-MB-Aktivität gegenüber den Troponinen bei einem kardialen ischämischen Ereignis nur noch zweite Wahl, vor allem wegen der langsamen Freisetzungskinetik. Bei CKD-Patienten hat die CK-MB als prognostischer Marker aber weiterhin Wertigkeit <sup>167</sup>, trotzdem sie eine geringere Sensitivität als die Troponine besitzt <sup>166</sup>. Interessant sind auch klinisch nicht symptomatische Dialyse-Patienten mit unauffälligem EKG, denn bei ihnen wird regelmäßig ein erhöhtes CK-MB gefunden. Es ist nicht sicher zu differenzieren, ob diese Erhöhungen von CK-MB „falsch positive“ Werte sind und durch eine reduzierte renale „Clearance“ von CK-MB verursacht werden oder tatsächlich eine myokardiale Schädigung anzeigen.

### **1.3.5 Kardiovaskuläre Ereignisse bei verschiedenen Schweregraden chronischer Nierenfunktionseinschränkungen und deren Marker**

In zahlreichen Studien konnte gezeigt werden, dass eine chronisch reduzierte Nierenfunktion mit einem erhöhten Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen verbunden ist <sup>66,88,108</sup>. Chronische Nierenerkrankungen sind starke und unabhängige Prädiktoren für kardiovaskuläre Mortalität <sup>83,99,100</sup>, die den größten Anteil an der Gesamt-Mortalität bei diesen Patienten besitzt. Der prognostische Vorhersagewert chronischer Nierenerkrankungen für kardiovaskuläre Mortalität und Gesamt-Mortalität wurde in manchen Studien dabei sogar als höher wie der von den „klassischen“ Risikofaktoren Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie bestimmt <sup>100</sup>. Verschiedene

epidemiologische Untersuchungen konnten zeigen, dass schon eine leichte Niereninsuffizienz mit einem beträchtlichen kardiovaskulären Risiko verbunden ist<sup>62,63</sup>. Mann J. et al. ermittelten für eine leichte Niereninsuffizienz eine Verdoppelung des kardiovaskulären Risikos, für welches die „klassischen“ kardiovaskulären Risikofaktoren nicht allein als Erklärung herangezogen werden können<sup>64</sup>. In uni- und multivariaten Analysen konnte bereits eine beginnende Niereninsuffizienz als ein ähnlich starker und unabhängiger Prädiktor für das Erleiden eines kardialen Ereignisses wie Diabetes mellitus oder eine bekannte koronare Herzkrankheit bestimmt werden<sup>83,91</sup>. Das höchste Risiko, ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden, besitzen erwartungsgemäß Patienten mit schwerer chronischer Niereninsuffizienz. Die Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen beträgt bei Dialyse-Patienten ungefähr 40%, die jährliche Mortalität etwa 9%<sup>169</sup>. Kardiovaskuläre Erkrankungen sind damit der Hauptgrund der Mortalität bei diesem Klientel, verantwortlich für annähernd 50% der Todesfälle<sup>63,65</sup>. Zu Beginn der Dialyse kann bei knapp der Hälfte der Patienten bereits eine fortgeschrittene Arteriosklerose gefunden werden. Verglichen mit gesunden Personen besitzen Dialyse-Patienten ein zehn- bis dreißigfach erhöhtes Risiko, an einer kardiovaskulären Ursache zu versterben, unabhängig von den Faktoren Alter, Geschlecht, Rasse und Vorhandensein eines Diabetes mellitus<sup>108</sup>. Diverse Studien konnten zeigen, dass zwischen chronischen Nierenfunktionseinschränkungen unterschiedlichen Schweregrades und der Häufigkeit des Eintretens kardiovaskulärer Ereignisse ein eindeutiger Zusammenhang besteht – es mit zunehmender Einschränkung der Nierenfunktion zum Ansteigen kardialer Ereignisse kommt. So betrug in einer Studie von Wright R.S. et al. an Patienten mit akutem Myokardinfarkt die Krankenhaus-Mortalität bei Patienten mit normaler Nierenfunktion 2%, bei Patienten mit leichter chronischer Niereninsuffizienz 6%, bei mittlerer 14%, bei schwerer 21% und bei Dialyse-Patienten 30% ( $p = <0,001$ ). Ein entsprechender Trend bei den Häufigkeiten wurde auch in der Langzeitbeobachtung gefunden<sup>106</sup>. Zu ähnlichen Ergebnissen kam auch eine Studie von Shlipak M.G. et al. an Patienten mit Myokardinfarkt, in der die 1-Jahres-Mortalität für Patienten ohne chronische Niereninsuffizienz 24%, mit leichter Niereninsuffizienz 46% und mit mittlerer Niereninsuffizienz 66% betrug ( $p = <0,001$ )<sup>107</sup>. Inwieweit die Schwere einer Nierenfunktionseinschränkung oder die Konzentration bestimmter Marker bzw. Risikofaktoren, welche den Grad der Einschränkung der Nierenfunktion anzeigen, mit der Wahrscheinlichkeit des Eintretens eines kardialen

Ereignisses zusammenhängen, ist in vielen Zusammenhängen noch nicht ausreichend geklärt. Eine Erschwernis der Entschlüsselung dieses Zusammenhanges ist der Umstand, dass viele Parameter, welche den Grad der Nierenfunktionseinschränkung anzeigen, teilweise selbst auf die Nierenfunktion Einfluss nehmen und sich nicht linear zum Verlust der Nierenfunktion verhalten. So sind bei nur leicht verminderter GFR verschiedene Werte der Retention und Anämie oft nicht oder nur geringfügig verändert, kommt es erst ab einer stärkeren Einschränkung der Nierenfunktion bei den Blutkonzentrationen zu auffälligen Abweichungen, die für verschiedene Markersubstanzen bzw. Risikofaktoren allerdings bei einer unterschiedlichen GFR-Verringerung beginnen und auch von Person zu Person variieren können<sup>7</sup>. Zur Abschätzung der Nierenfunktion in Gesundheit wie Krankheit ist die Bestimmung der GFR eine geeignete Methode<sup>3,4,5,6,86</sup>. Da dies aber vergleichsweise aufwendig ist, wird in der Klinik meist die Kreatinin-Konzentration im Blutserum bestimmt<sup>73,98</sup>. Dementsprechend liegen über den Zusammenhang von GFR bzw. Kreatinin-Konzentration und dem Eintreten bestimmter kardiovaskulärer Ereignisse die meisten Arbeiten vor. Dass eine reduzierte GFR signifikant mit dem erhöhten Erreichen der Endpunkte pAVK<sup>95</sup>, KHK<sup>95</sup>, Myokardinfarkt<sup>91</sup>, Gesamt-Mortalität<sup>73</sup>, kardiovaskuläre Mortalität<sup>91</sup>, cerebrovaskuläre Insuffizienz<sup>95</sup> und cerebraler ischämischer Insult<sup>91</sup> assoziiert ist, konnte in zahlreichen Studien bereits gezeigt werden. Die meisten Studien, welche dabei zu signifikanten Ergebnissen gelangten, nahmen ihre Untersuchungen an ESRD-Patienten vor, der Hochrisiko-Gruppe (K/DOQI V) mit der höchsten Wahrscheinlichkeit des Eintretens von Komplikationen jeglicher Art. An guten Studien, die Patienten-Populationen in verschiedenen Stadien der chronischen Nierenfunktionseinschränkung hinsichtlich des Auftretens kardialer Ereignisse vergleichen, besteht hingegen Mangel. Beddhu S. et al. ermittelten für eine Senkung der GFR um je 10 mL/min ein jeweils höheres Risiko für das Erreichen der Endpunkte Tod und Myokardinfarkt<sup>7</sup>. Anavekar N.S. et al. gelangten bei den Endpunkten Tod und nichttödliche kardiovaskuläre Ereignisse zu vergleichbaren Ergebnissen<sup>92</sup>. Die „II National Health and Nutrition Examination Survey“ (NHANES II) ermittelte für Patienten mit einer GFR <70 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, verglichen mit Patienten mit einer GFR von <90 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, ein um 68% höheres Risiko für Gesamt-Mortalität und ein um 51% höheres Risiko für kardiovaskuläre Mortalität<sup>100</sup>. Die „Atherosclerosis Risk in Communities Study“ (ARIC) fand für Patienten mit einer GFR von 15 – 59 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, verglichen mit Patienten mit einer

GFR von 90 – 150 mL/min/1,73 m<sup>2</sup>, ein um 38% höheres Risiko für eine kardiovaskuläre Erkrankung<sup>83</sup>. Zwischen einer sich verringernden GFR und einer erhöhten Wahrscheinlichkeit des Eintretens von kardialen Ereignissen konnte in verschiedenen Studien eine annähernd lineare Beziehung ermittelt werden<sup>62,73,91</sup>. Der Zusammenhang ist dabei aber nicht völlig linear, vielmehr scheint es so etwas wie einen „biologischen Schwelleneffekt“ zu geben, bei dem sicherlich eine Rolle spielt, dass es zu einem Anstieg der Retentionsparameter – teilweise selbst diskutierte Risikofaktoren für das Eintreten kardialer Ereignisse – erst ab einer Einschränkung der GFR auf ungefähr 60 mL/min/1,73 m<sup>2</sup> kommt<sup>7</sup> (siehe auch Kapitel **Fehler! Verweisquelle konnte nicht gefunden werden.** und 1.3.3.1). Vergleichbar verhält es sich mit Kreatinin, was in manchen Studien, vornehmlich älteren Datums, anstatt der GFR zur Einschätzung der Nierenfunktion Anwendung fand. Die Eignung von Serum-Kreatinin als Marker einer Reduktion der renalen Funktion steht im Vergleich zur GFR allerdings zurück, unter anderem deshalb, weil es sich nicht direkt umgekehrt proportional zur GFR verhält, sondern erst ab einer bestimmten Einschränkung dieser ansteigt. Außerdem wird die Kreatinin-Konzentration von zusätzlichen Faktoren, beispielsweise Alter, Geschlecht, Rasse und „Body-Mass-Index“, beeinflusst<sup>170</sup>. Dass ein Zusammenhang zwischen hohen Kreatinin-Konzentrationen und dem Auftreten kardialer Schädigungen sowie dem Erreichen des Endpunkts Tod besteht, gilt als gesichert. Bei geringeren Kreatinin-Konzentrationen ist die Datenlage weniger eindeutig. So konnte in Untersuchungen von Patienten mit geringer Einschränkung der Nierenfunktion aus der „Framingham Heart Study“ (FHS) und der „Framingham Offspring Study“ (Offspring; Serum-Kreatinin 1,5 – 3,0 mg/dL bzw. 1,4 – 3,0 mg/dL) kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer Nierenerkrankung und einer koronaren Erkrankung gefunden werden<sup>94</sup>. Shulman N.B. et al. konnten hingegen eine erhöhte Mortalität ab einem Serum-Kreatinin >1,7 mg/dL bestimmen<sup>73</sup>. Pinkau T. et al. fanden bereits ab einem Serum-Kreatinin >1,4 mg/dL (normal: 0,57 – 1,24 mg/dL) eine Verdopplung des Risikos für kardiovaskulären Tod, Myokardinfarkt und cerebralen ischämischen Insult<sup>62</sup> (siehe auch Kapitel 1.3.3.2). Neben GFR und Kreatinin können auch andere Parameter in Abhängigkeit von der reduzierten Nierenfunktion zur Abschätzung des Risikos, ein kardiales Ereignis zu erleiden, herangezogen werden, stehen bis dato im Stellenwert aber deutlich zurück. In einer Studie von Levin A. et al. beispielsweise konnte echokardiographisch ein

---

Zusammenhang zwischen links ventrikulärer Hypertrophie, die ein starker Prädiktor für das Auftreten kardialer Ereignisse ist (siehe Kapitel 1.3.3.12), und der Kreatinin-Clearance ermittelt werden. Die zu den Patientengruppen mit einer „Clearance“ von >50, 25 – 50 und <25 mL/min gehörenden echokardiographisch ermittelten Werte der links ventrikulären Hypertrophie betragen 27%, 31% und 45% und standen zum Grad der Nierenfunktionseinschränkung in umgekehrtem Verhältnis<sup>69</sup>. Oh J. et al. stellen mit „Electron Beam Computer-Tomographie“ Kalzifikationen an den Koronararterien fest, die in der Schwere mit dem Grad der Niereninsuffizienz übereinstimmen<sup>67</sup>.

Alternativen wie die aufgeführten können bei Diagnostik und Risikoabschätzung kardialer Ereignisse sicherlich hilfreich sein. In Zukunft kommt ihnen vielleicht eine größere Bedeutung zu. Die in der Klinik gegenwärtig gebräuchlichste Methode zur Beurteilung des Risikos von Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz, ein kardiales Ereignis zu erleiden, bleibt vorerst aber weiterhin die Abschätzung der GFR.



## 2 FRAGESTELLUNG

Die Zielsetzung dieser prospektiven klinisch-experimentellen Studie mit dem Titel

„Untersuchungen zur Prädiktion kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und akuten kardiovaskulären Erkrankungen durch Messung von Vollblut-Cholin mittels Hochleistungsflüssigchromatographie Massenspektrometrie“

war es zu untersuchen, ob Cholin, ein enzymatisches Produkt der Phospholipase D, bei Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion (GFR <90 mL/min [K/DOQI II – V]) Eignung als Marker kardiovaskulärer Komplikationen besitzt. Cholin wurde im Vollblut („Whole Blood Choline“; WBCHO) gemessen. Besondere Beachtung lag auf Schwere und Ursache der chronischen Niereninsuffizienz.

### **3 MATERIAL UND METHODIK**

#### **3.1 Studien-Protokoll**

##### **3.1.1 Genehmigung der Ethikkommission**

Von der Ethikkommission der Charité wurden die vorgesehenen Untersuchungen mit der Antragsnummer „87/2002“, als unbedenklich eingeschätzt und genehmigt. Alle beteiligten Probanden wurden mündlich und schriftlich über die Ziele der Studie, ihren zu erbringenden Beitrag sowie die daraus für sie resultierenden Belastungen aufgeklärt und ihre Einwilligung wurde eingeholt.

##### **3.1.2 Auswahl der Patienten**

Im Rahmen dieser prospektiven klinischen Studie wurden insgesamt 232 Patienten der Notaufnahme untersucht, die im Zeitraum zwischen August 1999 und März 2003 in der Charité, Standort Virchow Klinikum, stationär behandelt worden waren und sich nach Aufklärung durch uns zur Mitarbeit bereit erklärt hatten. Die Einschlusskriterien waren ein Verdacht auf ein Nicht-ST-Hebungs-(Non-ST-Elevation-)-ACS oder andere akute kardiovaskuläre oder renale Symptome, die zu einer Aufnahme ins Krankenhaus führten. Weiterhin musste eine renale Dysfunktion (GFR 60 – 89 mL/min) oder eine chronische Niereninsuffizienz (GFR <60 mL/min) bestehen. Eine Ablehnung bzw. ein Ausschluss von Patienten erfolgte bei schwerer Anämie (Hämoglobin [HB] <7 g/dL), akutem Nierenversagen und/oder einem nach Redefinition durch die ESC/ACC im Jahre 2000 typischen akuten ST-Hebungs-(-ST-Elevation-)-Myokardinfarkt (ST-Hebung  $\geq 1$  mm in mindestens zwei Ableitungen mit Troponin-Erhöhung)<sup>146</sup>. Ein- und Ausschlusskriterien, Festlegung der Patienten-Population und Gruppenauswahl der Studien-Patienten sowie Behandlung und Messung der Blutproben wurden im Studien-Protokoll festgelegt. Anhand der Krankenakten der Patienten wurden die endgültigen Diagnosen nach sechs Wochen gestellt. Weiterhin wurde ein „Follow-up“ durchgeführt, wofür mit den Patienten persönlich Kontakt aufgenommen wurde. In der Regel geschah dies telefonisch, war das nicht möglich, wurde der Patient in seiner Häuslichkeit aufgesucht und/oder angeschrieben. Bestanden danach noch Unklarheiten, wurde mit dem Hausarzt und/oder anderen behandelnden Ärzten das Gespräch gesucht. Von den 232 ins Studien-Protokoll aufgenommenen Patienten erhielt unsere Forschungsgruppe

auf diese Weise von 227 Patienten (97,8%) eine Analyse von Vollblut-Cholin und von 229 Patienten (98,7%) ein komplettes „Follow-up“. Bei allen 232 Patienten wurde eine körperliche Untersuchung durchgeführt und die in Tabelle 4 aufgeführten Daten erhoben.

Tabelle 4: Bei Aufnahme ins Krankenhaus bzw. Einschluss in die Studie erhobene Patienten-Daten.

allgemeine Patienten-Charakteristika	Name, Vorname, Geburtsdatum, Geschlecht Größe, Gewicht, Adresse, Telefonnummer Beruf, aktuelle Medikation, Hausarzt
aktuelle Klinik	Brustschmerz, Herzfrequenz, Blutdruck, Dyspnoe, Orthopnoe weitere vegetative Symptome
Risikofaktoren	Übergewicht, Fettstoffwechselstörungen Alkoholkonsum, Nikotinkonsum, Familienanamnese
EKG	signifikante ST-Hebungen oder Senkungen, R-Verlust, R-Zacke, Q-Zacke T-Überhöhung, -Verlust oder -Inversion
Labor	
Standardlabor	Bestimmung von Chlorid-, Kalium- und Natrium-Ionen, Kreatinin, Harnstoff, Harnsäure, Hämoglobin, Glukose, Leukozyten, Thrombozyten, Gerinnungsfaktoren (PTT, Fibrinogen), Cholesterin, LDL, HDL, C-reaktives Protein
kardiales Labor	Troponin, Myoglobin, herzspezifische Kreatinkinase
spezielles Labor	Vollblut für Cholin-Bestimmung

### 3.1.3 Probengewinnung

Die Blutentnahme für die HPLC-Untersuchung erfolgte lege artis aus der Vene. Bei den dialysepflichtigen Patienten fand die Blutentnahme zwischen zwei Dialyse-Terminen statt, da es mit dem Dialysat zu einem Verlust von freiem Cholin und Abfall der Konzentration von Cholin im Blut kommt<sup>41,47</sup>. Nach einer Dialyse dauert es ungefähr sechs Stunden, bis Cholin wieder die Konzentration hat, die es vor der Dialyse besaß. Während dieser Zeit sollte die Blutentnahme nicht erfolgen und war in dieser Studie auch nicht erfolgt<sup>48</sup>. Auf diese Weise wurden 227 x 9 mL Vollblut abgenommen (Kalium-Fluorid/Lithium-Heparin Monovetten; 9 mL, Sarstedt) und bis zur Weiterverarbeitung tiefgefroren gelagert.

### 3.1.4 Probenvorbereitung

Zur Verfügung bei der Cholin-Analytik standen die Kalium-Fluorid/Lithium-Heparin-Monovetten (9 mL Sarstedt), die bis zur Weiterverwendung bei  $-80\text{ °C}$  gefroren gelagert worden waren. Da die Verwendung von Vollblut ohne Probenvorbereitung bei einer HPLC-Trennung nicht möglich ist, da dies die HPLC-Säule schädigen würde, wurde das Vollblut über ein spezielles Filter filtriert und so ein für das HPLC-Verfahren taugliches Vollblut-Ultrafiltrat hergestellt. Alle Bestandteile mit einer Masse höher als 10000 Dalton wurden dazu abgetrennt. Dafür wurden die Ultrafilter (Millipore, UFV4BGC00, Cutoff 10 kDa) mit 2 mL Wasser (Aqua Braun) über 3 Minuten bei 3645 g gewaschen. Das Auffanggefäß mit dem filtrierten Wasser wurde verworfen und die Filter in ein neues Auffanggefäß (14 mL Falkontube) gesteckt. Pro Blutprobe wurden 3 Ultrafilter und zugehörige „Tubes“ vorbereitet und zur eindeutigen Identifizierung beschriftet. Die Proben aus der mit  $-80\text{ °C}$  geführten Tiefkühltruhe wurden entnommen und standardisiert bei  $37\text{ °C}$  im Wasserbad für 20 Minuten unter Verwendung eines „Schüttlers“ („Waring Blendor“) bei 60 U/min kontrolliert aufgetaut. Um ungewollte Enzymreaktionen zu vermeiden bzw. zu minimieren, wurden die Proben danach bis zur Weiterverwendung auf Eis gelagert. Alle Proben bestanden aus 6 – 8 mL Vollblut, die nach der Homogenisation in drei Teile aufgeteilt wurden. Ein Teil zu je 1 mL wurde als Rückstellprobe in einem Vial (2 mL) bei  $-80\text{ °C}$  wieder eingefroren. Der Rest der Probe wurde in Abhängigkeit davon, wie viel noch vorhanden war, auf 2 oder 3 Ultrafilter aufgeteilt, die dann alle zwischen 2 und 3 mL enthielten. Folglich entsprachen 9 Blutproben maximal 27 gefüllten Ultrafiltern. Diese wurden anschließend in einer Kühlzentrifuge bei  $15\text{ °C}$  und 3645 g für 120 Minuten zentrifugiert, was je 0,4 – 0,7 mL Ultrafiltrat ergab. Die Ultrafiltrate einer Blutprobe wurden anschließend in einem beschrifteten Vial (2 mL) vereinigt und nach Homogenisation 300  $\mu\text{L}$  für die Analyse in ein „Autosamplervial“ (Supelco, Nr. 27087, 1 mL; mit PTFE Silikon Septum) abgefüllt. Die tiefgekühlten Vials (2 mL) mit den Ultrafiltraten wurden als Rückstellprobe bei  $-80\text{ °C}$  eingefroren. Auch die Autosamplerproben wurden bis zur Messung bei  $-20\text{ °C}$  tiefgekühlt. Der Prozess der Ultrafiltration wurde validiert. Die Wiederfindungsrate von Cholin nach der Ultrafiltration betrug im Durchschnitt 100%.

## 3.2 Trenn- und Analyseverfahren

### 3.2.1 Hochleistungsflüssigchromatographie (HPLC)

Eine weit verbreitete Methode zur Trennung von Stoffgemischen ist die Hochleistungsflüssigchromatographie („High Performance Liquid Chromatography“; HPLC; Abbildung 4). Abhängig von der individuellen Trennleistung der verwendeten Apparatur lässt sich mit der HPLC für viele Gemische eine Auftrennung in ihre Einzelsubstanzen erreichen. Bei der HPLC wird das zu untersuchende bzw. zu trennende Stoffgemisch nach eventueller Vorbehandlung durch Extraktionsverfahren, mit denen Bestandteile, welche die Messung beeinflussen, entfernt werden, auf eine Chromatographiesäule eingebracht, in welcher genau definierte Bedingungen anliegen. Abhängig von diesen Bedingungen kommt es zu Wechselwirkungen zwischen dem Säuleninhalt und den jeweiligen Analyten, welche in Abhängigkeit von ihren individuellen Eigenschaften (Verteilungskoeffizient, Molekulargewicht, Polarität) mit dem Säuleninhalt wechselwirken. Das führt zu einer verlangsamten oder beschleunigten Säulenpassage bzw. verkürzten oder verlängerten Retentionszeit der Einzelsubstanzen. Infolge dieser unterschiedlichen Retentions- bzw. Durchflusszeiten verlassen die Einzelsubstanzen die Säule im Idealfall vollständig getrennt und können mittels des angeschlossenen Detektorsystems identifiziert werden. Die eigentliche Schwierigkeit dieser Methodik ist es, die Eigenschaften des Systems vorher so präzise zu optimieren, dass eine klare Trennung bzw. Auflösung der Einzelsubstanzen in möglichst kurzer, also praktikabler, Analysezeit möglich ist. Dies wird durch Veränderungen der an der Säule anliegenden Bedingungen erreicht. In der Praxis bedeutet dies, dass die an der Säule anliegenden Bedingungen (Temperatur, Flussgeschwindigkeit, Druck) und die Parameter des Säuleninhaltes (Polarität, Partikelgröße, Porengröße, Hydrophobizität, pH-Wert) so verändert bzw. angepasst werden, dass sie für die Trennung so optimal wie möglich sind. Die am häufigsten zum Einsatz kommenden Säulen sind zwischen 50 und 320 mm lang und haben einen Innendurchmesser von 2 – 6 mm. Der anliegende Druck liegt in der Regel zwischen  $5 \cdot 10^5$  und  $20 \cdot 10^6$  Pascal. Die Temperatur wird meist mit einem thermostatierten Säulenofen konstant gehalten und entspricht oft der Zimmertemperatur. Neben der heute nur noch bei bestimmten Ausnahmen angewandten Normalphasen-HPLC („normal phase“; NP-HPLC), bei der als stationäre Phase vor allem Kieselgel und

Aluminiumoxid zur Anwendung kommen, gibt es die gegenwärtig dominierende Umkehrphasen-HPLC („reversed phase“; RP-HPLC), bei der die Polaritäten von stationärer und mobiler Phase im Vergleich zur NP-HPLC vertauscht sind. Dies wird meist durch Anbindung von funktionellen Gruppen an die stationäre Phase erreicht, wobei es sich gewöhnlich um hydrophobe Verbindungen handelt, beispielsweise Alkylgruppen. Bei der RP-HPLC ist die stationäre Phase apolar und die mobile Phase polar, während bei der Normalphasen-HPLC die stationäre Phase polar und die mobile Phase apolar ist. Entsprechend sind auch die Wechselwirkungen mit den zu untersuchenden Stoffgemischen verändert, was zu unterschiedlichen Eigenschaften und ganz unterschiedlichen Anwendungsbereichen führt. Die meisten Umkehrphasen-Trennsäulen verwenden als stationäre Phase poröse Mikropartikel von 3 – 5 µm aus C-18-Material (ODS- bzw. OCD-Säulen), einem mit Octadecylsilylresten modifizierten Kieselgel, welches gute Trennergebnisse liefert, relativ störunanfällig ist und sich als Standard durchgesetzt hat. Die mobile Phase besteht meist aus einem Gemisch aus polaren Lösungsmitteln, oft kommen dabei Acetonitril, Methanol, Triethylamin, Wasser und wässrige Puffersysteme zur Anwendung. Um die mittels HPLC über die verschiedenen Retentionszeiten getrennten Einzelsubstanzen quantitativ messen zu können, stehen verschiedene Detektorsysteme zur Verfügung. Früher waren vor allem billige, aber unspezifische Leitfähigkeitsdetektoren vorherrschend und als UV-Detektoren kamen monochromatische Detektoren zum Einsatz, die nur in einer Wellenlänge messen konnten. Seit ungefähr zwei Jahrzehnten finden polychromatische UV-Detektoren („Dioden Array Detektor“; DAD) Verwendung, welche in der Lage sind, über eine ganze Bandbreite von Wellenlängen zu messen. Diese sind allerdings nutzlos bei den wenigen existierenden Stoffen, die kein Absorptionsspektrum im Messbereich des DAD (spektrale Bandbreite meist zwischen 190 – 950 nm) haben und wozu auch Cholin zählt. In dieser Arbeit wurde ein DAD zur Qualitätskontrolle eingesetzt.

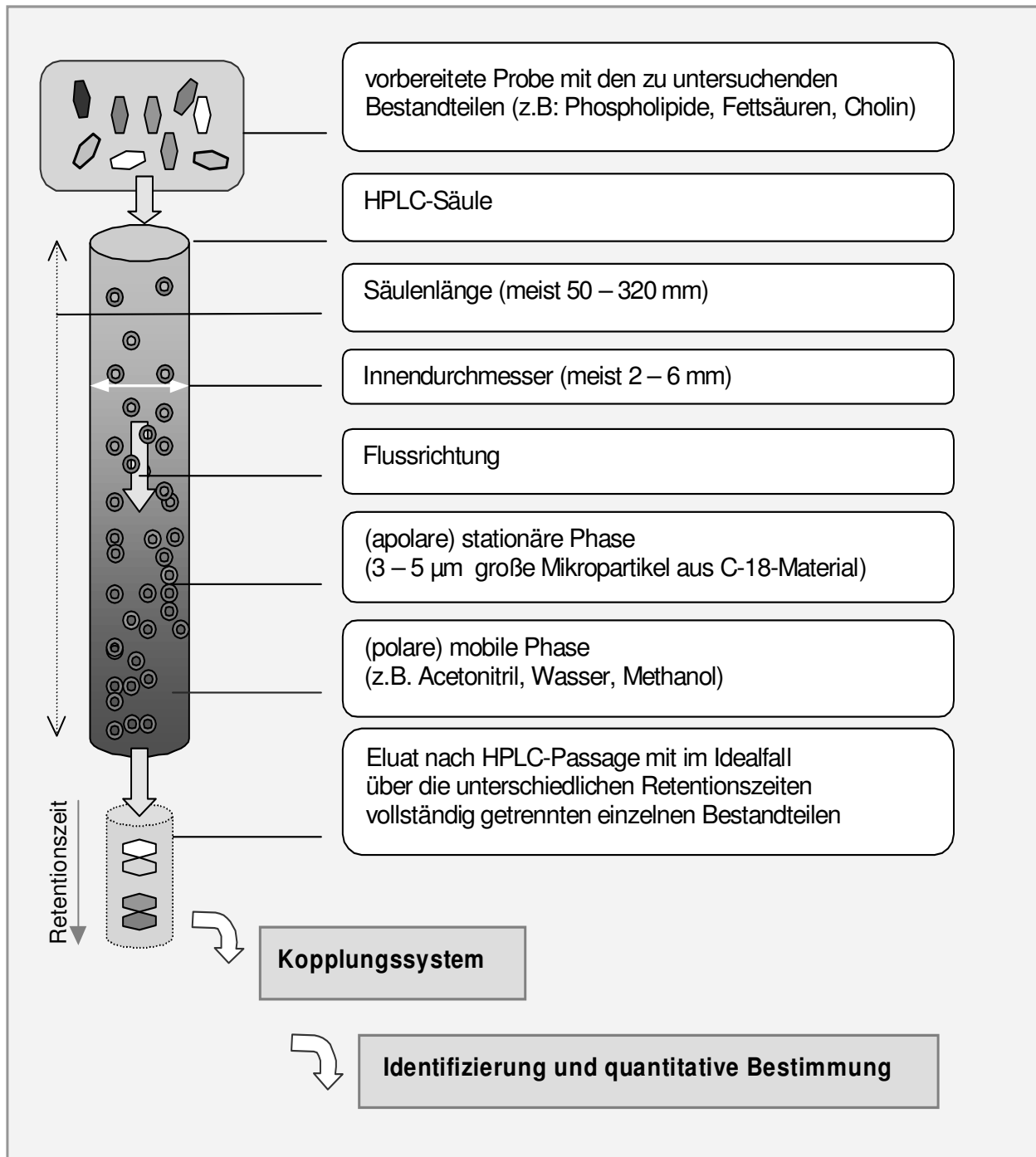


Abbildung 4: Umkehrphasenhochleistungsflüssigchromatographie (RP-HPLC). gepunkteter Zylinder = Eluat; Polygon = Einzelsubstanz. Die einzelnen Bestandteile der in die Chromatographiesäule eingebrachten Proben wechselwirken infolge ihrer speziellen Eigenschaften (Verteilungskoeffizient, Molekulargewicht, Polarität) mit der Säule, an der die Retentionszeit beeinflussende Bedingungen anliegen (Temperatur, Flussgeschwindigkeit, Druck). Ebenso bestehen Wechselwirkungen zwischen den einzelnen Bestandteilen und dem Säuleninhalt (Polarität, Partikelgröße, Porengröße, Hydrophobizität, pH-Wert). Abhängig von diesen Wechselwirkungen und den sich daraus ergebenden unterschiedlichen Retentionszeiten verlassen die einzelnen Bestandteile der Proben die Chromatographiesäule im Idealfall vollständig getrennt (nähere Erläuterungen im Text, Kapitel 3.2.1).

### **3.2.2 Massenspektrometrie (MS) mit dem Kopplungssystem Elektrospray-Ionisation (ESI)**

Ein relativ neues Detektorsystem zur Online-Analyse des Eluates aus der HPLC ist das Massenspektrometer in Kopplung zur HPLC, was in dieser Arbeit zur Anwendung gelangte („High Performance Liquid Chromatography Mass-Spectrometry“; HPLC-MS; Abbildung 5). Mittels Massenspektrometrie können Einzelsubstanzen bis in den nanomolaren Bereich nachgewiesen werden und oftmals ist es auch möglich, chromatographisch unvollständig getrennte Stoffgemische massenspektrometrisch aufzulösen und zu messen. Bei bestimmten Substanzgemischen kann wegen der hohen Selektivität der Massenspektrometrie sogar auf eine vorherige Trennung mittels HPLC verzichtet werden. Wegen möglicher Konkurrenzreaktionen zwischen Analyt- und Matrixmolekülen in der Ionenquelle, die zu Entladungen führen und somit die Signalintensität der Analyte beeinflussen, ist zumeist eine vorherige chromatographische Trennung – zumindest jedoch die Abtrennung der Matrix – notwendig, vor allem, wenn mit so komplexen Stoffen wie Blut gearbeitet wird. Ein grundsätzliches Problem, das in der Vergangenheit große Schwierigkeiten bereitete, sind die fundamentalen Unterschiede in den Arbeitsbedingungen, die für die optimale Online-Kopplung von HPLC und Massenspektrometer notwendig sind. Denn diese sind in mehreren individuell jeweils erforderlichen Arbeitsbedingungen vollkommen verschieden. So sind für die Durchführung der HPLC verhältnismäßig niedrige Temperaturen, hohe Drücke und eine möglichst hohe Flussrate notwendig, während das Massenspektrometer im Vakuum arbeitet, niedrige Flussraten und hohe Temperaturen benötigt. Um die HPLC und die Massenspektrometrie gemeinsam einsetzen zu können, müssen diese „Unvereinbarkeiten“ in den Arbeitsbedingungen mittels einer geeigneten Kopplungstechnik überbrückt bzw. verbunden werden. Gebräuchlich als Kopplungstechnik beim gemeinsamen Betrieb von HPLC und MS sind gegenwärtig vor allem die „Electrospray Ionization“ (ESI) und die „Atmospheric Pressure Chemical Ionization“ (APCI).



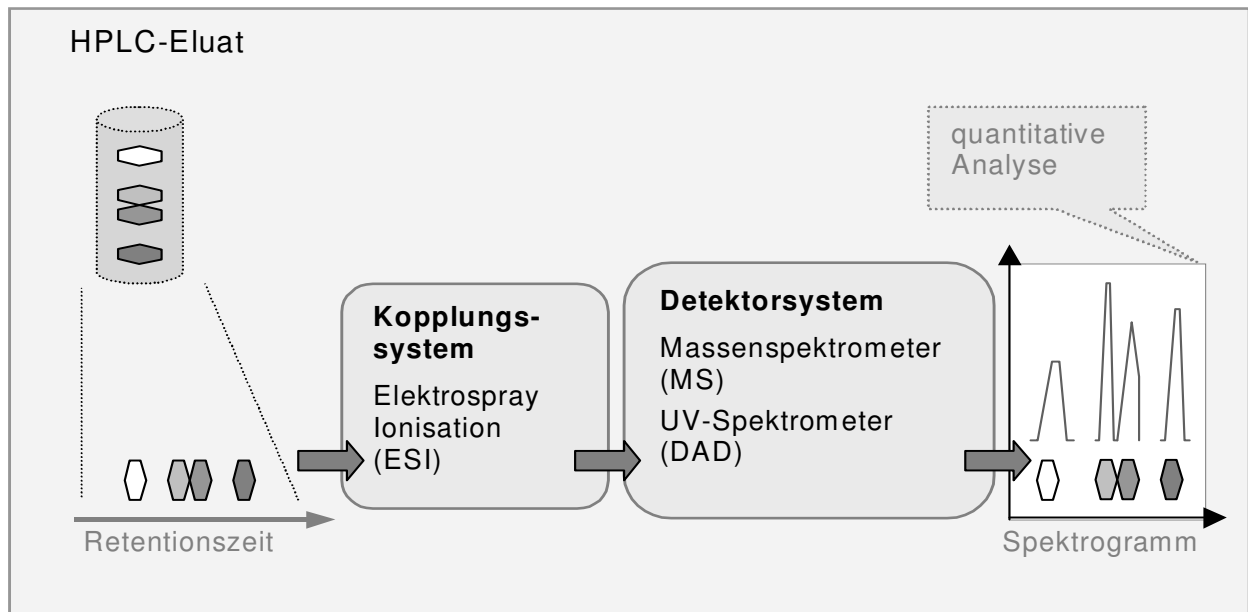


Abbildung 5: Schematische Schaltfolge der Trenn- und Analyseapparatur. Legende, siehe Abbildung 4. Nach Passage der HPLC-Säule und darin erfolgter Auftrennung wird das Eluat bzw. werden Bestandteile davon über das Kopplungssystem dem Detektorsystem zugeführt und quantitativ analysiert.

Die „Electrospray Ionization“, welche auch in dieser Arbeit als Kopplungstechnik Anwendung fand, ist eine ebenso empfindliche wie selektive Methode, die bei der Ermittlung vieler unterschiedlicher Stoffklassen, insbesondere auch thermolabiler, benutzt werden kann und es ermöglicht, die hohe Trennleistung der HPLC mit der hochauflösenden Detektion der Massenspektrometrie zu kombinieren (HPLC-ESI-MS; Abbildung 6). Die „Electrospray Ionization“ ist wie die „Atmospheric Pressure Chemical Ionization“ (APCI) eine Unterform der „Atmospheric Pressure Ionization“ (API). Bei beiden Ionisationsverfahren erfolgt die Ionisation unter Atmosphärendruck. Auch der Transfer der Ionen in den Massenspektrometer ist prinzipiell gleich. Der Unterschied zwischen ESI und APCI besteht darin, dass bei der APCI eine Nadel für eine Coronaentladung zur Anwendung kommt, an der nach dem Prinzip der chemischen Ionisation ein Reaktions-Plasma gebildet wird, welches die Ionisation der Analyte bewirkt. Bei der APCI sind die Ionisationsbedingungen härter als bei der ESI, weshalb auch die Ionisation weniger polarer Verbindungen gelingt. Die Ionisierungstechnik der ESI ist dagegen vergleichsweise schonend und zerstörungsarm, weshalb die aus der HPLC kommenden Analyte überwiegend als unfragmentierte geladene Molekülonen detektiert werden können, neben denen nur wenige Fragmentionen oder Addukte mit

Kalium- und Natrium-Ionen entstehen. Da die Ionen bei der ESI bereits in der flüssigen Phase der HPLC-Säule vorgebildet werden, ist die ESI für polare und ionische Substanzen gut geeignet. Ein Nachteil der API-Techniken ist ihre Anfälligkeit gegenüber salzhaltigen Puffern, da es oft zu „Verstopfungen“ bzw. „Verklebungen“ der zuführenden Kapillare des Massenspektrometers kommt. Mit herkömmlichen linearen Spraysystemen ist es deshalb oft nicht möglich, polare und geladene Substanzen wie Cholin zu detektieren, da diese meist nur mit Puffersystemen aufgetrennt werden können. In dieser Arbeit kam eine Orthogonalsprayionenquelle („Off-Axis-System“) zur Anwendung, welche als besonders robust gilt und massenspektrometrische Analysen mit hochkonzentrierten salzhaltigen Puffersystemen erlaubt.

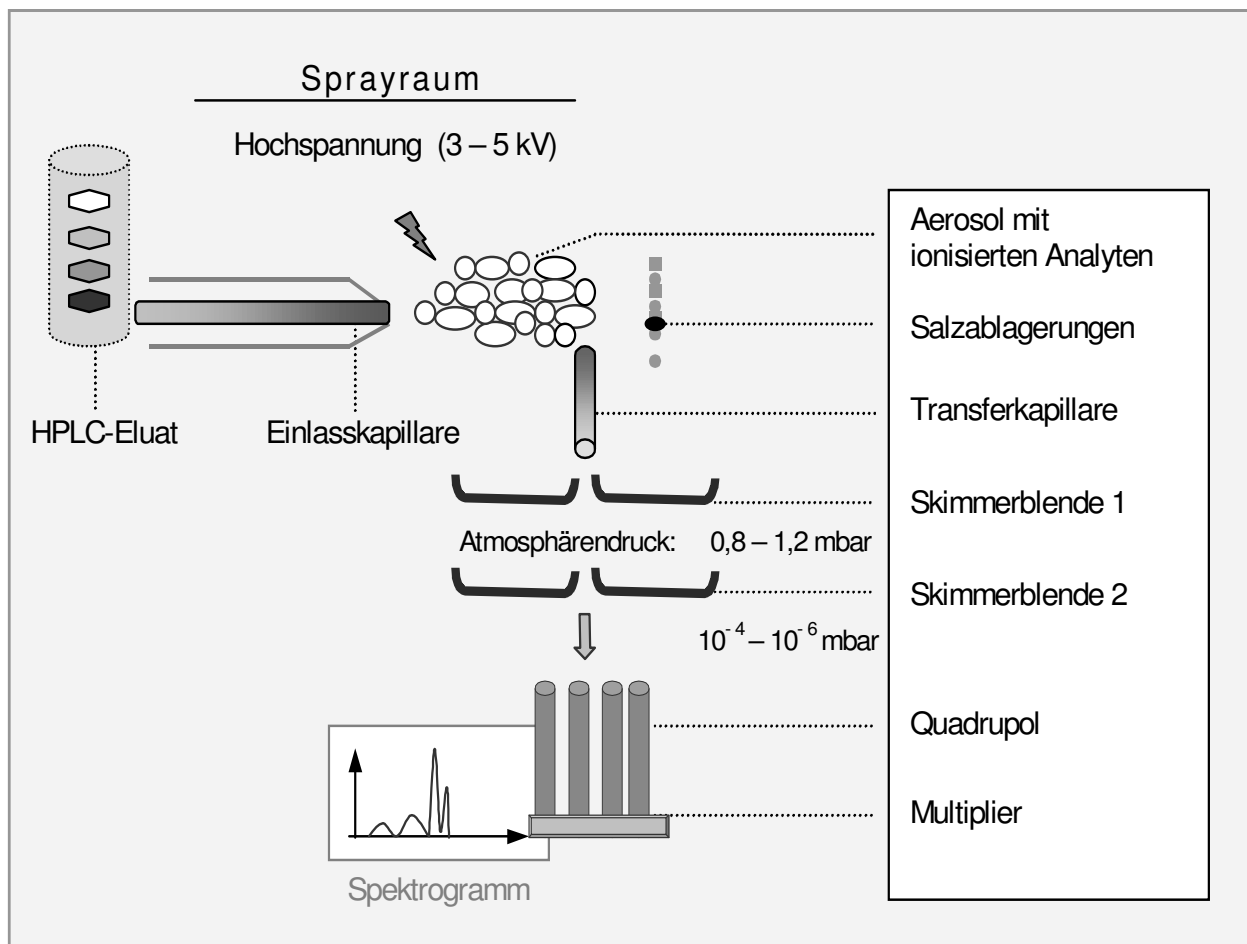


Abbildung 6: Elektrospray-Ionisation (ESI) und Massenspektrometrie (MS). Legende, siehe Abbildung 4. Im Sprayraum wird das HPLC-Eluat zu einem Aerosol versprüht. Die ionisierten Analyte werden durch elektrostatische Anziehung orthogonal aus der Flussrichtung abgelenkt und in die Transferkapillare überführt, wonach sie in den Massenspektrometer gelangen. In diesem Schema ist die Anordnung von Transferkapillare zu Skimmerblenden um  $90^\circ$  zueinander versetzt („Off-Axis-System“). Alternativ gibt es auch eine lineare Anordnung, welche bei Substanzen wie Cholin wegen der erfolgenden Salzbildung und störenden Ablagerung im System aber nachteilig ist (nähere Erläuterungen im Text, Kapitel 3.2.2).

Das in der HPLC-Säule ionisierte Cholin gelangt direkt in das Kopplungssystem, welches in dieser Arbeit die ESI war. Dazu wird das Eluat orthogonal durch eine dünne Spraynadel geleitet, an deren Ende eine Hochspannung anliegt. Diese Hochspannung und ein ebenfalls an der Nadel anliegender Gasfluss, der in den meisten Apparaturen durch Stickstoff erzeugt wird, bilden feine geladene Tröpfchen, die zu einem Aerosol versprüht werden. Durch das Verdampfen des Lösungsmittels verkleinert sich der Tropfenradius, während sich die Ladungsdichte auf dem Tropfen erhöht. Schließlich platzen die Tropfen (Coulombexplosion) und der Übergang in die Gasphase erfolgt. Bei neutralen bzw. ungeladenen Stoffen entstehen hier die Ionen. Zu einer Fragmentierung kommt es wegen der sanften Ionisierung selten. Durch die elektrostatische Anziehung werden die Analyte orthogonal aus der Flussrichtung abgelenkt und in die Transferkapillare überführt, von wo aus sie in den Vorvakuumbereich des Massenspektrometers gelangen. Lösungsmittelfracht und eventuell sich bildende Salzkristalle fließen dagegen in Sprayrichtung ab. An den Skimmerblenden, welche den Ionenstrom der schweren Moleküle durch elektromagnetische Fokussierung optimieren, werden Lösungsmittelreste, letzte Flüssigkeits- und Salzurückstände abgeschieden. Die mittels ESI ionisierten Substanzen gelangen nach Passage der Skimmerblenden ins unter Hochvakuum stehende Innere des Massenspektrometers, wo sie detektiert werden. Das anliegende Vakuum muss hier sehr hoch sein, um das „Grundrauschen“ des Massenspektrometers gering zu halten und Entladungen der Analyte durch Kollisionen mit Restluftmolekülen zu verhindern. Die ionisierten Moleküle werden im Quadrupol des Massenspektrometers, bestehend aus vier parallelen und stabförmigen Metallelektroden, an denen ein Wechsel- und ein Gleichspannungsfeld anliegen, entsprechend ihres Masse-/Ladungsverhältnisses ( $m/z$ ) selektiv getrennt und danach mit einem Multiplier, ein Verstärker, der Ionenkontakte in ein elektronisches Signal umsetzt, detektiert. Die massenspektrometrische Bestimmung kann im „Full Scan Modus“ und/oder im „Single Ion Monitoring Modus“ (SIM) erfolgen. Im „Full Scan Modus“, der relativ viel Zeit pro Spektrum benötigt, wird für jeden Datenpunkt des Chromatogramms ein komplettes Spektrum eines definierten Massenbereiches aufgenommen, was dann sinnvoll ist, wenn man den Überblick über ein unbekanntes Substanzgemisches haben möchte. Über die Spektreninformationen, eventuell mit zusätzlicher Beurteilung der Retentionszeit, kann man dann im Idealfall die „Peaks“ der bekannten Substanzen identifizieren. Diese können danach durch „Single Ion

Monitoring“, was gegenüber dem „Full Scan Modus“ eine um den Faktor 10 höhere Nachweisempfindlichkeit besitzt und die Detektion nur auf eine oder wenige Einzelmassen beschränkt, ganz gezielt analysiert werden. Durch die Fokussierung auf einen sehr kleinen Massebereich lässt sich in der Zeiteinheit, welche ein Full Scan gewöhnlich benötigt, im „Single Ion Monitoring Modus“ ein Vielfaches an Datenpunkten gewinnen, was eine deutlich verbesserte Auflösung bedeutet. In der Cholin-Analytik wurde der „Single Ion Monitoring Modus“ angewendet.

### 3.2.3 Systemaufbau

In diese Studie stand eine RP-18-Polymersäule (Inertsil ODS-3 Säule; VSD Optilab, Deutschland; 250 mm x 3 mm) mit Partikeln von 5 µm Porengröße als stationäre Phase zur Verfügung, die mit EDTA vorbehandelt war. Das EDTA führt zu einer Verbesserung der Trennleistung, denn die vorhandenen Reste an Schwermetallionen werden reduziert, welche bei einigen Substanzen zu einer Verbreiterung des „Peaks“ durch so genanntes „Tailing“ führen. Als mobile Phase kam wegen der Polarität des Cholin ein Puffergemisch zum Einsatz, welches speziell für die Cholin-Analytik entwickelt worden war. Dieses Puffergemisch setzt sich zusammen aus einer wässrigen Lösung von 10 mmol/L monobasischem Natriumphosphat ( $\text{NaH}_2\text{PO}_4$ ), 10 mmol/L dibasischem Natriumphosphat ( $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ), 5% (v/v) Acetonitril und 50 mg/L Natriumoctylsulfat. Das HPLC-System wurde mit einer Flussrate von 650 µL/min unter einem Druck von 90 – 120 bar und 45 °C geführt. Die Probenvolumina betragen je 5 µL. Als Kopplungstechnik kam die der „Atmospheric Pressure Ionization“ zugehörige „Electrospray Ionization“ zur Anwendung, die mit einer Fragmentorspannung von 100 V, einer Trockengastemperatur von 350 °C und einem Vernebelungsdruck von 20 psig betrieben wurde. Die ESI-MS wurde im positiven Modus mit selektivem Ionen-Monitoring von positiv geladenen Cholin-Ionen ( $m/z = 104 \text{ M}^+$ , Retentionszeit 4,96 min) betrieben. Die Apparatur wurde für die Cholin-Analytik optimiert. Als Trocken- und Nebulizer-Gas wurde 99%iger Stickstoff verwendet, der über einem Filter gereinigt wurde. Das HPLC-ESI-MS-Verfahren wurde für einen Konzentrationsbereich des WBCHO von 0,5 – 1000 µmol/L gemäß der laborinternen Standardarbeitsanweisung (StAA Nr. 2, 1999 1. Fassung, „Bestimmung von Cholin in Blutproben mit HPLC/MS“, Abteilung für Innere Medizin mit Schwerpunkt Nephrologie und Intensivmedizin, MS-

Labor, CVK, Charité Berlin) und des Validierungsprotokolls optimiert. Präzision und Genauigkeit wurden bei 10  $\mu\text{mol/L}$  und 100  $\mu\text{mol/L}$  gemessen. Für die niedrigste Konzentration (10  $\mu\text{mol/L}$ ) ergab sich dabei eine Genauigkeit (Abweichung der Ist- von der Sollkonzentration) von  $-3,4\%$  und eine Präzision (mittlere Standardabweichung) von  $2,2\%$ . Bei der um den Faktor 10 höheren Konzentration (100  $\mu\text{mol/L}$ ) betrug die Genauigkeit  $2,6\%$  und die Präzision  $1,8\%$ . Die Massenspektrometrie detektierte nur freie ungebundene Cholin-Ionen, ohne dass Interferenzen mit den ebenfalls Cholin enthaltenden Phosphorylcholinen, Phosphatidylcholinen oder anderen verwandten Spezies aus der Phospholipidfamilie auftraten. Eine Beeinflussung der Analyse durch verabreichte Medikamente, wie zum Beispiel Aspirin, Heparin und Glyceroltrinitrat, konnte ausgeschlossen werden. Zur Qualitätskontrolle wurde neben dem Massenspektrometer online ein „Dioden Array Detektor“ (DAD) betrieben (Bandbreite 190 – 950 nm; Wellenlängen: 200, 254 und 280 nm) Die technische Modellbezeichnung des Herstellers für die verwendeten HPLC-Apparatur lautet: „Agilent Technologies LC/MSD-System/Hewlett Packard“, bestehend aus „Degeasser G1322A“, „binäre Hochdruckpumpe G1312A“, „Autosampler G1313A“, „Säulenthermostat G1316A“ und „Dioden Array Detektor G1315A“. Das System ist über ein Elektrosprayinterface an ein „Massenspektrometer G1946B“ gekoppelt. Zur Verarbeitung und Analyse der Daten wurde ein Computer „Hewlett Packard Kajak XA“ mit „LC/MSD ChemStation-Software Version-8.03“ eingesetzt.

### 3.2.4 Probenmessung

Die Messungen wurden in Gruppen durchgeführt, die als Sequenz zusammengefasst waren. Die Erstellung von externen Kalibrierkurven erfolgte zu Beginn der Sequenz für verschiedene Konzentrationen. Die Kontrolle der ermittelten Ergebnisse erfolgte durch unabhängig hergestellte Qualitätskontrollproben (QC-Proben) in verschiedenen Verdünnungen (12,5, 125, 200  $\mu\text{mol/L}$ ). Nach vier Realproben wurde eine Qualitätskontrollmessung durchgeführt und eine neue Kalibrierkurve erstellt. Die Kalibrationsstandards wurden zur Quantifizierung der Ergebnisse verwendet. Ausgehend von der niedrigsten Konzentration war eine Dreipunkt-Kalibration durchgeführt worden. Nach einer Realprobe war aus Gründen der Praktikabilität und um so genannte Memoryeffekte zu vermeiden, immer eine Leeranalyse gemacht worden.

---

Der Wert für den Korrelationskoeffizienten der Kalibrierkurve war immer größer als 0,999 und der QC-Wert („Quality Control“) lag innerhalb der Toleranz von +/-10%. Als Lösungsmittel für die Verdünnungsreihe wurde 0,9%ige NaCl-Lösung zur Matrix-Nachstellung der Ultrafiltrate benutzt. Die Nachweisgrenze für Cholin beträgt 150 nmol/L, was einer Bestimmungsgrenze von 300 nmol/L entspricht. Die computergestützte Auswertung der Ergebnisse mit dem „Hewlett Packard Kajak XA“ mit der „LC/MSD ChemStation Software Version 8.03“ umfasste Peak-Erkennung, Integration, Kalibrierung und Quantifizierung. Der Reportausdruck liefert neben dem quantitativen Cholin-Gehalt der Analyseprobe auch die aktuelle Kalibration. Die massenspektrometrische Bestimmung von Cholin in Realproben erfolgte mit positiver Ionisation im „Single Ion Monitoring Modus“ mit  $m/z = 104 M^+$ .

### 3.3 Statistische Analysen

Bei den Ergebnissen, für die quantitative Werte vorlagen, wurden wichtige Indizes wie Mittelwert, Standardabweichung und Konfidenzintervall bestimmt. Der Vergleich der Konzentrationen von WBCHO erfolgte bei den unpaarigen Patienten-Gruppen mit dem Wilcoxon-Test und dem U-Test nach Mann und Whitney, wenn Normalverteilung und Varianzhomogenität vorlagen mit dem Student- bzw. T-Test. Mit der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse („Kaplan-Maier Survival-Analysis“) wurden die primären Endpunkte Tod (unabhängig von dessen Ursache), Myokardinfarkt (definiert nach ESC/ACC) und Revaskularisation sowie der aus den einzelnen Endpunkten zusammengesetzte primäre Endpunkt (Tod, Myokardinfarkt oder Revaskularisation; PEP) untersucht. Mit dem „Log-Rank Test“ wurde nachgeprüft, ob zwischen den Kaplan-Maier-Kurven ein signifikanter Unterschied bestand. Mit der Cox-Risiko-Verhältnisanalyse („Cox Proportional Hazard Analysis“) wurden die „Hazard Ratio's“ (HR) bestimmt. Weiterhin wurde eine „Multiple Logistische Regressionsanalyse“ („Multiple Logistic Regression Analysis“) durchgeführt, in der neben WBCHO die Variablen Alter, weibliches Geschlecht, Stadium (K/DOQI II versus K/DOQI III – IV) und Ursache (diabetisch versus nichtdiabetisch) der Niereninsuffizienz berücksichtigt wurden. Für die „Hazard“ und „Odds Ratio's“ wurden die 95% Konfidenzintervalle (95%CI) bestimmt. Alle statistischen Berechnungen wurden mit der „SPSS Statistical Software“ (Version 12.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois) durchgeführt.

## 4 ERGEBNISSE

### 4.1 Patienten-Charakteristika

In dieser klinisch-experimentellen Studie wurden insgesamt 232 Patienten gemäß dem Studien-Protokoll untersucht. Von 227 Patienten (97,8%) wurde die Konzentration von Vollblut-Cholin („Whole Blood Choline“; WBCHO) bestimmt und von 229 Patienten (98,7%) ein vollständiges „Follow-up“ über einen Zeitraum von 42 Tagen (6 Wochen) erhoben (siehe auch Kapitel 3.1).

Von der Notaufnahme erfolgte die stationäre Aufnahme der Patienten mit Verdacht auf ein Nicht-ST-Hebungs-(Non-ST-Elevation-)-ACS oder anderen akuten kardiovaskulären oder renalen Symptomen sowie einer GFR <90 mL/min am häufigsten unter dem Leitsymptom „Brustschmerz oder anamnestische AP“ (123 Fälle; 53%), gefolgt von „Symptomen, die durch das Nierenversagen verursacht sind“ (29 Fälle; 12,5%), „Dyspnoe“ und „andere Gründe“ (je 24 Fälle; 10,3%), „Hypertonie“ (17 Fälle; 7,3%) und „Herzrhythmusstörungen“ (12 Fälle; 5,2%).

Die untersuchten Patienten wurden anhand der glomerulären Filtrationsrate und der Ursache der chronischen Nierenfunktionsstörung in Gruppen geteilt. Die Patienten unterschieden sich nach dem Grad der Einschränkung der Nierenfunktion in Patienten mit leichter Reduktion der GFR (GFR 60 – 89 mL/min; 49,3%) und mittlerer bis starker Reduktion der GFR (GFR <60 mL/min; 50,7%) und der Ursache der gestörten Nierenfunktion in Patienten mit diabetischer (35,4%) und nichtdiabetischer Nephropathie (63,8%).

Die wichtigsten demographischen und klinischen Charakteristika der untersuchten Patienten-Population sind in Tabelle 5 aufgeführt.



Tabelle 5: Demographische und klinische Charakteristika der 229 Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz.

Patienten-Variable	Einheit	absolute Häufigkeit (n = 229)	relative Häufigkeit (n = 229)	95% Konfidenzintervall (95%CI)
Alter	Jahre	67,97* 11,53**		66,47 – 69,47
Geschlecht (weiblich)	ja/nein	98	42,8%	0,36 – 0,49
aktiver Raucher („Current Smoker“)	ja/nein	51 (n = 216)+	22,3%	0,18 – 0,29
arterielle Hypertonie	ja/nein	176 (n = 223)+	76,9%	0,74 – 0,84
Hyperlipoproteinämie (unabhängig vom Typ)	ja/nein	150 (n = 219)+	65,5%	0,62 – 0,75
KHK oder AP in Anamnese	ja/nein	177	77,3%	0,72 – 0,83
Dialysepflichtigkeit	ja/nein	24	10,5%	0,65 – 0,15
GFR 60 – 89 mL/min (K/DOQI II)	mL/min	113	49,3%	0,43 – 0,56
GFR <60 mL/min (K/DOQI III – IV)	mL/min	116 (III: n = 71)+ (IV: n = 45)+	50,7%	0,44 – 0,57
Nephropathie (diabetisch)	ja/nein	81	35,4%	0,29 – 0,42
Nephropathie (nichtdiabetisch)	ja/nein	146	63,8%	0,58 – 0,7

WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); GFR = glomeruläre Filtrationsrate; KHK = Koronare Herzkrankheit; AP = Angina Pectoris; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“; 95%CI = 95% Konfidenzintervall; n = Fallzahl; \* = Mittelwert; \*\* = Standardabweichung; + = Daten nur von n Patienten bekannt.

## 4.2 Vollblut-Cholin und glomeruläre Filtrationsrate

Weder bei Vollblut-Cholin (WBCHO; Abbildung 7), noch der glomerulären Filtrationsrate (GFR; Abbildung 7) lagen für die eingetretenen Häufigkeiten Normalverteilungen vor. Zwischen WBCHO und der GFR bestand eine schwache und inverse Korrelation (Lineare Regression: Regressionskoeffizient =  $-0,24$ ; Ordinatenabschnitt =  $38,84$ ;  $R^2 = 0,105$ ;  $p = <0,001$ ; Abbildung 8). Die mittlere Konzentration von WBCHO war signifikant höher bei den Patienten mit mittlerer und starker Einschränkung der GFR ( $28,92 \pm 21,06 \mu\text{mol/L}$  wenn  $\text{GFR} < 60 \text{ mL/min}$  [K/DOQI III – V];  $n = 115$ ), verglichen mit den Patienten mit leichter Einschränkung der GFR ( $21,91 \pm 14,02 \mu\text{mol/L}$  wenn  $\text{GFR} 60 - 89 \text{ mL/min}$  [K/DOQI II];  $n = 112$ ;  $p = 0,01$ ).

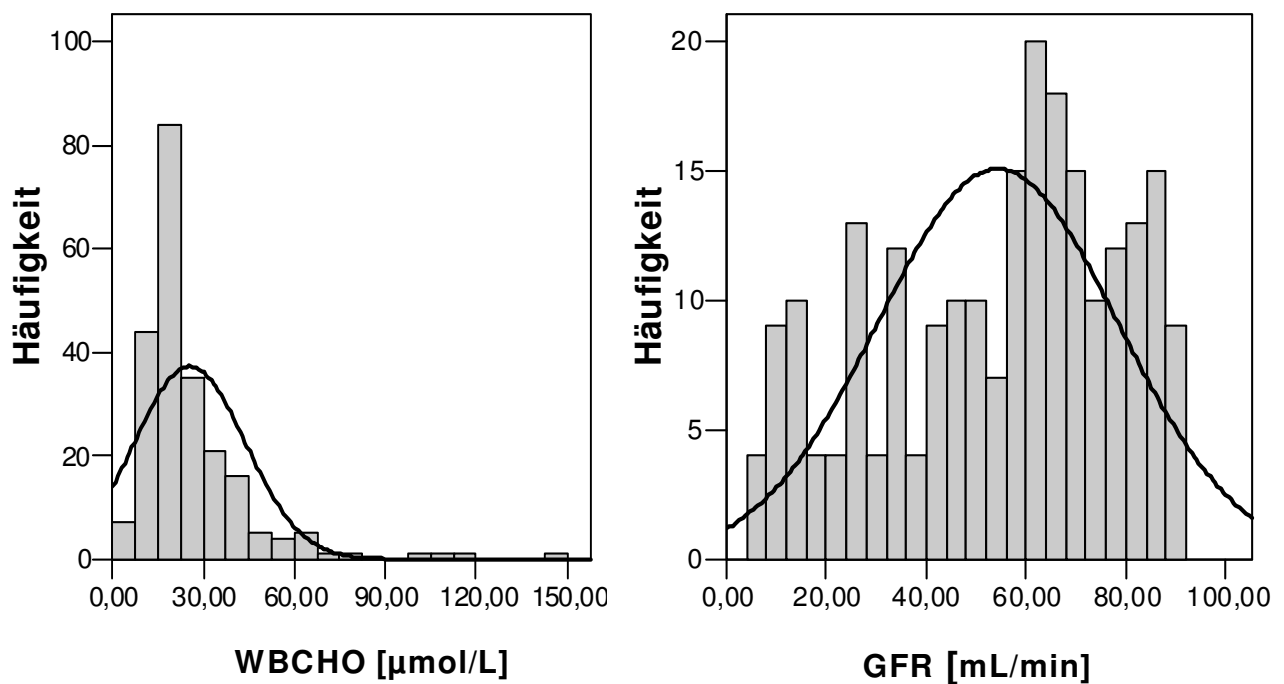


Abbildung 7: Histogramme der Häufigkeitsverteilungen von WBCHO und GFR aller Studien-Patienten, von denen beide Werte vorlagen ( $n = 227$ ). Schwarze Linie = Normalverteilungskurve; WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); GFR = glomeruläre Filtrationsrate; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“. WBCHO-Häufigkeitsverteilung: Mittelwert =  $25,46$ ; Standardabweichung =  $18,24$ ; Konfidenzintervall =  $23,08 - 27,85$ ; GFR-Häufigkeitsverteilung: Mittelwert =  $54,35$ ; Standardabweichung =  $24,04$ ; Konfidenzintervall =  $51,2 - 57,49$ .

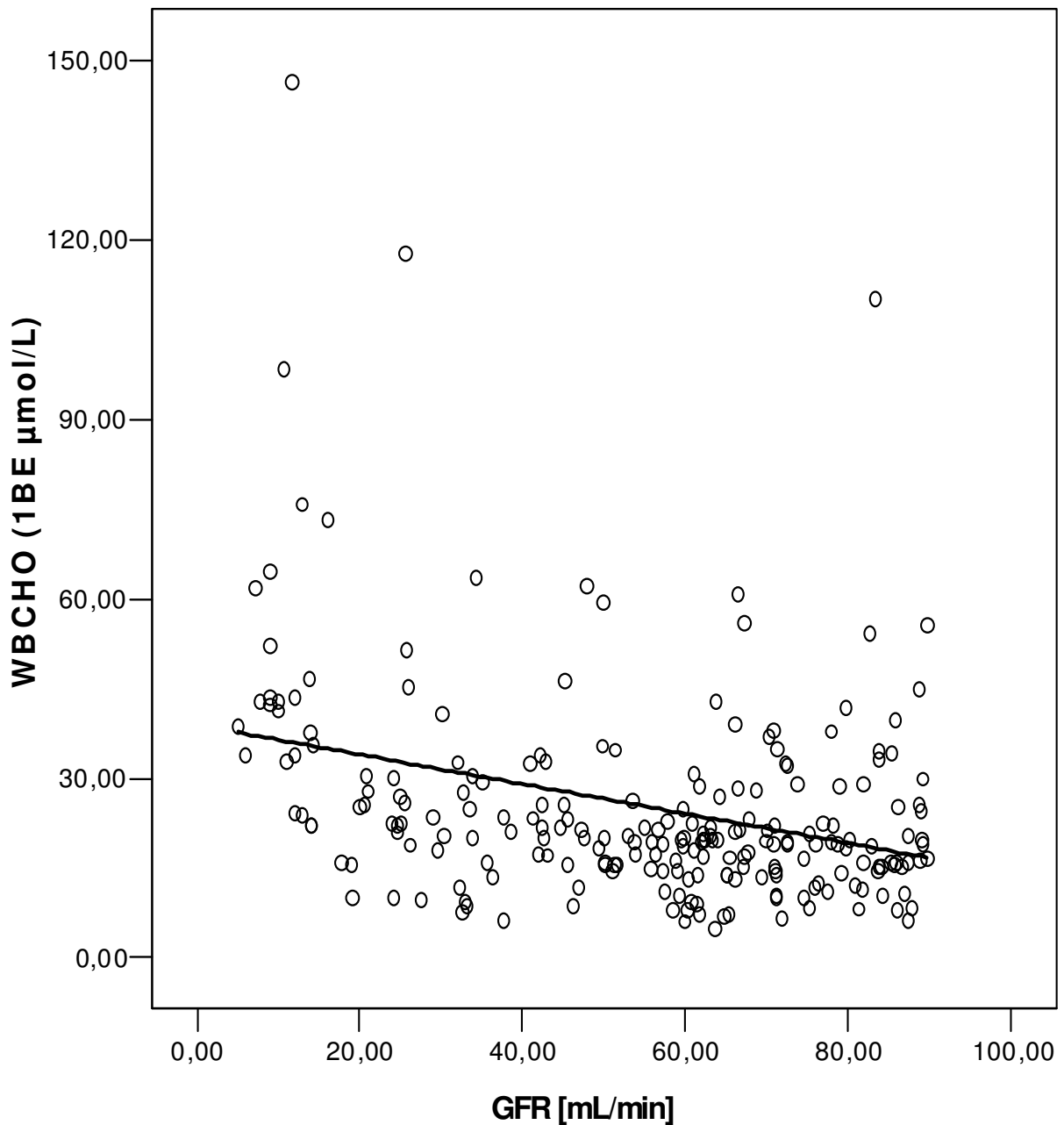


Abbildung 8: Streudiagramm von WBCHO gegen GFR aller eingeschlossenen Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion (GFR <90 mL/min [K/DOQI II – V]). Linie = Regressionsgerade; restliche Legende, siehe Tabelle 5. Eine abnehmende GFR ist verbunden mit einem Anstieg der WBCHO-Konzentration. Die signifikante Korrelation ist schwach und invers. Regressionskoeffizient =  $-0,24$ ; Ordinatenabschnitt =  $38,84$ ;  $R^2 = 0,105$ ;  $p = <0,001$ .

### 4.3 Vollblut-Cholin bei ausgewählten Patienten-Charakteristika

Die mittlere Konzentration von WBCHO war in der Gruppe der Patienten mit Dialysepflicht ( $47,43 \pm 27,48 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 24$ ) hoch signifikant erhöht, verglichen mit der mittleren Konzentration von WBCHO in der Gruppe der Patienten ohne Dialysepflicht, aber Einschränkung der Nierenfunktion ( $22,87 \pm 14,91 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 203$ ;  $p = <0,001$ ). Für die Kollektive der Patienten mit Hyperlipoproteinämie ( $26,97 \pm 19,28 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 148$ ;  $21,61 \pm 15,93 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 69$ ;  $p = 0,003$ ) und der aktiven Raucher ( $28,0 \pm 15,15 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 51$ ;  $24,3 \pm 19,39 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 163$ ;  $p = 0,002$ ) wurden signifikant erhöhte Werte von WBCHO bei Vorhandensein der Risikofaktoren gefunden. Bei den Unterscheidungskriterien Alter, Geschlecht, Hypertonie und kardiale Anamnese fanden sich keine signifikanten Unterschiede in den WBCHO-Konzentrationen (Tabelle 6).

Tabelle 6: WBCHO-Konzentrationen bei Vorhandensein/Nichtvorhandensein ausgewählter Patienten-Charakteristika.

Patienten-Charakteristika	Charakteristika vorhanden			Charakteristika nicht vorhanden			p-Wert
	n	Statistik	95%CI	n	Statistik	95%CI	
Alter (unterschieden nach Mittelwert)	111	25,98* 19,16** 15,46 / 32,3*** ( $\leq 67,97$ Jahre)	22,38-29,59	116	24,97* 17,38** 15,49 / 29,85*** ( $> 67,97$ Jahre)	21,77-28,16	n.s.
Geschlecht (weiblich)	98	25,16* 18,96** 14,59 / 30,26***	21,35-28,96	129	25,7* 17,74** 15,98 / 30,2***	22,6-28,78	n.s.
aktive Raucher („Current Smoker“)	51	28,0* 15,15** 19,17 / 34,84***	24,74-33,23	163	24,3* 19,39** 14,52 / 28,77***	21,3-27,29	0,002
arterielle Hypertonie	174	26,08* 18,71** 15,45 / 32,5***	23,28-28,88	47	22,72* 16,33** 15,66 / 22,02***	17,93-27,52	n.s.
Hyperlipoproteinämie	148	26,97* 19,28** 15,97 / 32,73***	23,83-30,1	69	21,61* 15,93** 12,8 / 22,96***	17,78-25,43	0,003
anamnestisch bekannte KHK oder AP	175	25,77* 17,31** 15,81 / 30,15***	23,19-28,35	52	24,43* 21,22** 13,71 / 29,59***	18,52-30,34	n.s.
Dialysepflicht	24	47,43* 27,48* 33,19 / 50,82***	35,82-59,03	203	22,87* 14,91** 14,73 / 26,08***	20,8-24,03	<0,001

WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); GFR = glomeruläre Filtrationsrate; KHK = Koronare Herzkrankheit; AP = Angina Pectoris; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“; 95%CI = 95% Konfidenzintervall; n = Fallzahl; \* = Mittelwert; \*\* = Standardabweichung; \*\*\* = Perzentile (25/75); + = Daten nur von n Patienten bekannt.

#### 4.4 Vollblut-Cholin und kardiovaskuläre Ereignisse

Der primäre Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) wurde von den Patienten, von welchen eine WBCHO-Konzentration vorlag, in knapp einem Drittel der Fälle erreicht (30,39%; n = 69). Die absoluten Zahlen und die relativen Häufigkeiten über die erreichten bzw. nicht erreichten Endpunkte sind in Tabelle 7 aufgelistet. Von den eingeschlossenen Patienten hatten 28,2% (n = 64) eine Konzentration von WBCHO  $\geq 28,2$   $\mu\text{mol/L}$ , dem „Cutoff“, welcher ein geeigneter „Cutoff“ bei Patienten mit Verdacht auf ein ACS ist <sup>28</sup> und der 90% Perzentile der gesunden Bevölkerung entspricht. Bei 13,2% (n = 30) aller Patienten lag WBCHO  $\geq 40,0$   $\mu\text{mol/L}$ , bei 7,5% (n = 17) lag WBCHO  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$ , gleichfalls Cutoff-Konzentrationen, die sich bei Patienten ohne Nierenfunktionseinschränkung zur Risikoeinschätzung kardialer Ereignisse bereits als geeignet erwiesen. In der folgenden Cox-Risiko-Verhältnisanalyse erwies sich ein „Cutoff“ von  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ , verglichen mit niedrigeren und höheren „Cutoff's“, als am geeignetsten, Aussagen über den Zusammenhang von WBCHO-Konzentration und Erreichen der Endpunkte zu treffen (WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$  HR: 2,66; 95%CI: 1,55 – 4,55; p = <0,001; WBCHO  $\geq 28,2$   $\mu\text{mol/L}$  HR: 2,03; 95%CI: 1,26 – 3,27; p = 0,004; WBCHO  $\geq 50$   $\mu\text{mol/L}$  HR: 2,09; 95%CI: 1,04 – 4,21; p = 0,04; Abbildung 9). Für die weiteren Auswertungen war deshalb ein „Cutoff“ für WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$  verwendet worden. Eine WBCHO-Konzentration  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$  war ein starker Prädiktor für den primären Endpunkt (27,9% wenn WBCHO <40  $\mu\text{mol/L}$  und 60,0% wenn WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ ). Für alle einzelnen untersuchten Endpunkte (Tod, AMI und Revaskularisation) besaß WBCHO positiven Vorhersagewert. In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse war der prädiktive Wert für den einzelnen Endpunkt Myokardinfarkt signifikant (3,0% wenn WBCHO <40  $\mu\text{mol/L}$  und 20,0% wenn WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ ; HR: 6,76; 95%CI: 2,18 – 20,98; p = 0,001). Für die Endpunkte Revaskularisation (22,8% wenn WBCHO <40  $\mu\text{mol/L}$  und 46,7% wenn WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ ; HR: 2,27; 95%CI: 1,25 – 4,14; p = n.s.) und Tod (3,6% wenn WBCHO <40  $\mu\text{mol/L}$  und 10,0% wenn WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ ; HR: 2,9; 95%CI: 0,75 – 11,2; p = n.s.) konnten keine signifikanten p-Werte gefunden werden (Abbildung 10). In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse für den primären Endpunkt lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40  $\mu\text{mol/L}$  mit 33,44 Tagen (95%CI: 31,10 – 35,77; n = 51) hoch signifikant über der mittleren Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$  mit 23,90 Tagen (95%CI: 17,41 – 30,39; n = 18; Log-Rank: 14,46; p = 0,0001). Bei den Endpunkten Myokardinfarkt und

Revaskularisation bestand ein signifikanter Unterschied zwischen den mittleren Zeiten bis zum Eintreten der Endpunkte. Bei dem Endpunkt Myokardinfarkt und einem WBCHO <40 µmol/L lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte bei 41,83 Tagen (95%CI: 40,88 – 42,75; n = 6), für WBCHO ≥40 µmol/L bei 38,07 Tagen (95%CI: 34,30 – 41,84; n = 6; Log-Rank: 14,73; p = 0,001). Bei dem Endpunkt Revaskularisation und einem WBCHO <40 µmol/L lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte bei 34,27 Tagen (95%CI: 31,99 – 36,55; n = 45), für WBCHO ≥40 µmol/L bei 26,87 Tagen (95%CI: 20,06 – 33,67; n = 14; Log-Rank: 8,02; p = 0,005). Bei dem Endpunkt Tod lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L bei 42,16 Tagen (95%CI: 41,42 – 42,90; n = 7) und zeigte keinen signifikanten Unterschied zur mittleren Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO ≥40 µmol/L mit 40,57 Tagen (95%CI: 37,46 – 43,67; n = 3; Log-Rank: 2,61; p = n.s.; Abbildung 11).

Tabelle 7: Erreichte und nicht erreichte Endpunkte der 227 Studien-Patienten mit WBCHO-Wert und „Follow-up“ über 42 Tage.

Endpunkt	Endpunkt	absolute Häufigkeit (n)	relative Häufigkeit (in %)	GFR <60 mL/min (K/DOQI III – IV)	relative Häufigkeit (in %)	GFR 60 – 89 mL/min (K/DOQI II)	relative Häufigkeit (in %)	Nephropathie (diabetisch)	relative Häufigkeit (in %)	Nephropathie (nichtdiabetisch)	relative Häufigkeit (in %)
Patienten		227	100	115	100	112	100	80	100	145	100
Tod	e.	10	4,4	5	4,4	5	4,6	7	8,8	3	2,1
	n.e.	219	96,5	110	95,7	107	95,6	73	91,3	142	97,0
Myokardinfarkt (AMI)	e.	12	5,3	7	6,1	5	4,5	6	7,5	6	4,1
	n.e.	217	95,6	108	93,9	107	95,5	74	92,5	139	95,9
Revaskularisation	e.	61	26,9	28	24,4	30	26,8	27	33,8	30	20,7
	n.e.	168	74,0	87	75,7	82	73,2	53	66,3	115	79,3
Primärer Endpunkt	e.	69	30,4	35	30,4	34	30,4	32	40,0	36	24,8
	n.e.	158	69,6	80	69,6	78	69,6	48	60,0	109	75,2

GFR = glomeruläre Filtrationsrate; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“; e. = Endpunkt wurde erreicht; n.e. = Endpunkt wurde nicht erreicht.

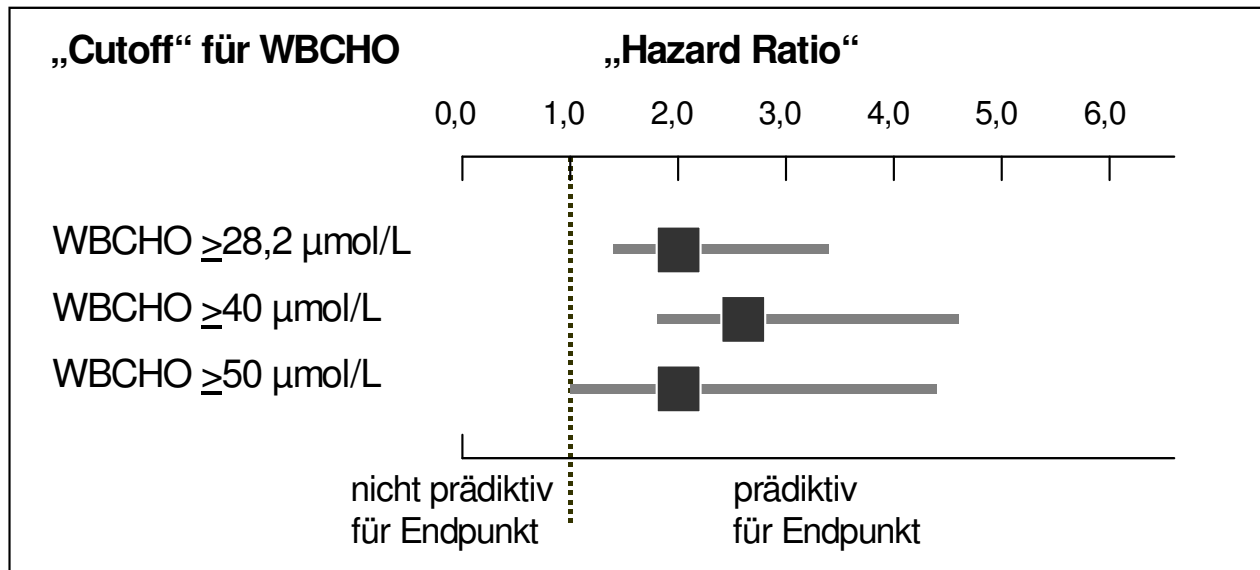


Abbildung 9: „Hazard Ratio's“ für den primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) der Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz bei verschiedenen Cutoff-Konzentrationen von WBCHO. WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin). Alle drei untersuchten „Cutoff's“ waren geeignet, Vorhersagen über das Erreichen der Endpunkte zu treffen. Ein „Cutoff“ für WBCHO  $\geq 40,0 \mu\text{mol/L}$  (HR: 2,66; 95%CI: 1,55 – 4,55;  $p = <0,001$ ) erwies sich, verglichen mit den „Cutoff's“ für WBCHO  $\geq 28,2 \mu\text{mol/L}$  (HR: 2,03; 95%CI: 1,26 – 3,27;  $p = 0,004$ ) und  $\geq 50,0 \mu\text{mol/L}$  (HR: 2,09; 95%CI: 1,04 – 4,21;  $p = 0,04$ ), als am geeignetsten.

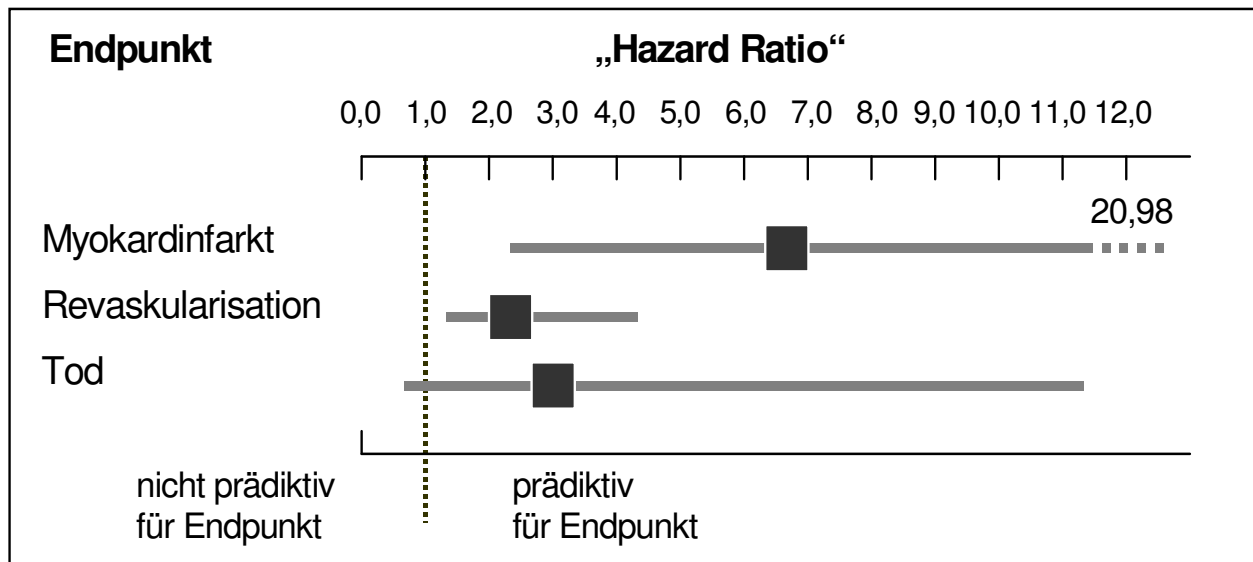


Abbildung 10: „Hazard Ratio's“ für die einzelnen Endpunkte (Tod, AMI oder Revaskularisation) bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz und einer Cutoff-Konzentration für WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ . WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin). Ein „Cutoff“ für WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  erwies sich als geeignet, Aussagen über das Erreichen der einzelnen Endpunkte zu treffen. In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse besaß WBCHO für den Endpunkt Myokardinfarkt signifikanten prädiktiven Vorhersagewert (HR: 6,76; 95%CI: 2,18 – 20,98;  $p = 0,001$ ), nicht aber für den Endpunkt Revaskularisation (HR: 2,27; 95%CI: 1,25 – 4,14;  $p = \text{n.s.}$ ) und den Endpunkt Tod (HR: 2,9; 95%CI: 0,75 – 11,2;  $p = \text{n.s.}$ ).

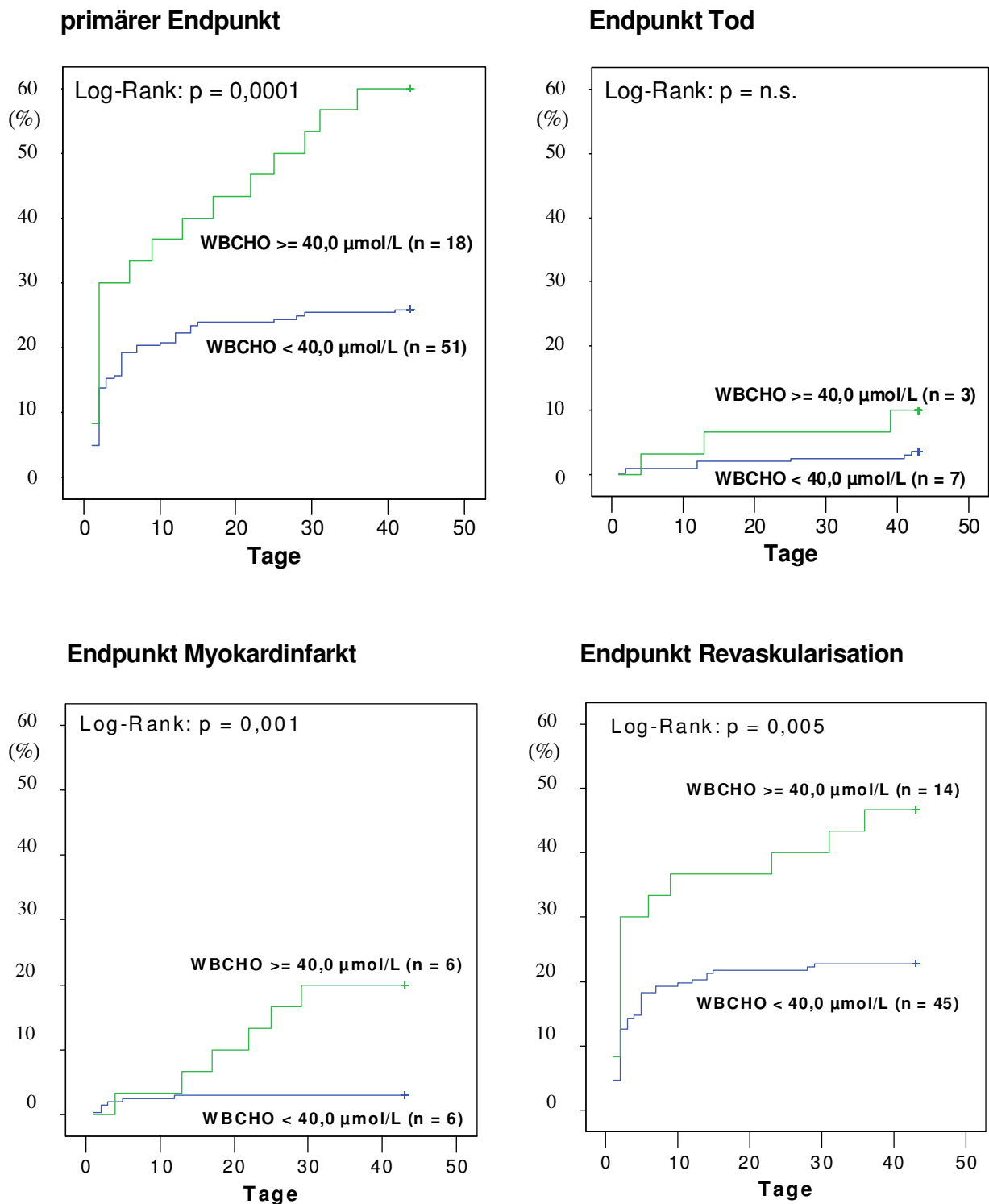


Abbildung 11: Kaplan-Maier-Kurven für die Inzidenz der Endpunkte primärer Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation), Tod, AMI und Revaskularisation bei einem WBCHO-Cutoff  $\geq 40,0 \mu\text{mol/L}$  und einem Beobachtungszeitraum von 42 Tagen. WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); n = Fallzahl; Kreuz = Ende des Beobachtungszeitraums. In allen Diagrammen liegt die Inzidenz der Endpunkte für WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  über der für WBCHO  $< 40,0 \mu\text{mol/L}$ . Außer für den Endpunkt Tod ( $p = \text{n.s.}$ ) besteht zwischen den jeweiligen beiden zugehörigen Überlebenskurven ein signifikanter Unterschied, der für den primären Endpunkt ( $p = 0,0001$ ) hoch signifikant, für AMI ( $p = 0,001$ ) und Revaskularisation ( $p = 0,005$ ) signifikant ist.



#### 4.5 Vollblut-Cholin bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz

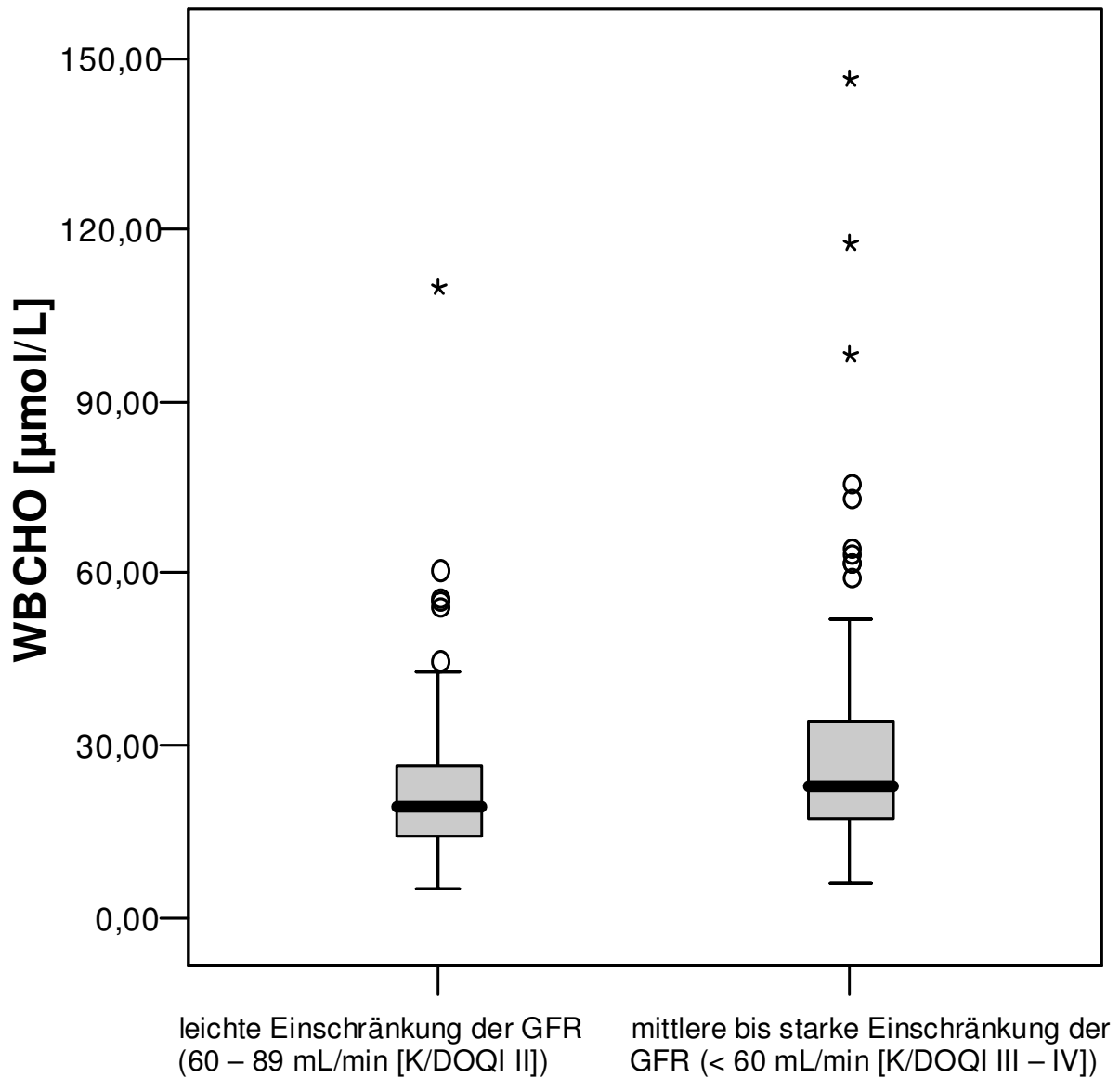
Zwischen den Mittelwerten der WBCHO-Konzentrationen bei leichter Reduktion der GFR und mittlerer bis starker Reduktion der GFR bestand ein signifikanter Unterschied ( $21,91 \pm 14,02 \mu\text{mol/L}$  [K/DOQI II];  $n = 112$ ;  $28,92 \pm 21,06 \mu\text{mol/L}$  [K/DOQI III – V];  $n = 115$ ;  $p = 0,01$ ). In ausgewählten Risikogruppen, unterschieden nach dem Grad der Nierenfunktionseinschränkung, fanden sich ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den mittleren WBCHO-Konzentrationen (Hyperlipoproteinämie:  $p = 0,006$ , Hypertonie:  $p = 0,002$ , positive Anamnese:  $p = 0,05$ , aktive Raucher:  $p = \text{n.s.}$ ). Die „Boxplots“ der WBCHO-Werte der beiden Gruppen sind in Abbildung 12 dargestellt, die WBCHO-Werte ausgewählter Risikogruppen in Tabelle 8 aufgeführt. Während des Follow-up-Zeitraums trat ein Myokardinfarkt bei den Patienten mit mittlerer bis starker Reduktion der GFR etwas häufiger auf (6,1% wenn  $\text{GFR} < 60 \text{ mL/min}$  [K/DOQI III – IV]) als bei den Patienten mit leichter Reduktion der GFR (4,5% wenn  $\text{GFR} 60 - 89 \text{ mL/min}$  [K/DOQI II]). Bei den anderen beiden untersuchten Endpunkten, unterschieden nach der Einschränkung der GFR, fanden sich in den beiden Patienten-Gruppen nur geringe Differenzen (Tod: 4,4% versus 4,5%; Revaskularisation: 24,4% versus 26,8%). Auch der primäre Endpunkt wurde von Patienten beider Gruppen gleich häufig erreicht (30,4% versus 30,4%). Unabhängig vom Grad der Nierenfunktionseinschränkung besaß WBCHO Vorhersagewert dafür, kardiovaskuläre Komplikationen zu entwickeln. Bei Patienten mit leichter Reduktion der GFR ( $60 - 89 \text{ mL/min}$  [K/DOQI II]) besaß eine WBCHO-Konzentration  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  positiven Vorhersagewert für den primären Endpunkt (26,9% wenn  $\text{WBCHO} < 40 \mu\text{mol/L}$  und 75,0% wenn  $\text{WBCHO} \geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 4,22; 95%CI: 1,73 – 10,29;  $p = 0,002$ ). Bei Patienten mit mittlerer oder starker Reduktion der GFR ( $< 60 \text{ mL/min}$  [K/DOQI III – IV]) besaß eine WBCHO-Konzentration von  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  ebenfalls Vorhersagewert für den primären Endpunkt (24,7% wenn  $\text{WBCHO} < 40 \mu\text{mol/L}$  und 54,5% wenn  $\text{WBCHO} > 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 2,33; 95%CI: 1,16 – 4,69;  $p = 0,02$ ; Abbildung 13). Bei leichter Einschränkung der GFR ( $60 - 89 \text{ mL/min}$  [K/DOQI II]) besaß WBCHO Vorhersagewert für den Endpunkt Revaskularisation (23,1% wenn  $\text{WBCHO} < 40 \mu\text{mol/L}$  und 75,0% wenn  $\text{WBCHO} \geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 4,67; 95%CI: 1,89 – 11,55;  $p = 0,001$ ) ebenso für den Endpunkt Tod (2,9% wenn  $\text{WBCHO} < 40 \mu\text{mol/L}$  und 25,0% wenn  $\text{WBCHO} \geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 9,84; 95%CI: 1,64 – 59,0;  $p = 0,01$ ) und den Endpunkt Myokardinfarkt (2,9% wenn  $\text{WBCHO} < 40 \mu\text{mol/L}$  und 25,0% wenn  $\text{WBCHO} \geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 9,26; 95%CI: 1,55 – 55,46;  $p = 0,01$ ). Bei Patienten mit

mittlerer oder starker Reduktion der Nierenfunktion (GFR <60 mL/min [K/DOQI III – IV]) besaß WBCHO positiven Vorhersagewert für den Endpunkt Myokardinfarkt (3,2% wenn WBCHO <40 µmol/L und 18,2% wenn WBCHO ≥40 µmol/L; HR: 5,75; 95%CI: 1,29 – 25,69; p = 0,02), aber keinen für die Endpunkte Revaskularisation (21,5% wenn WBCHO <40 µmol/L und 36,4% wenn WBCHO ≥40 µmol/L; HR: 1,74; 95%CI: 0,77 – 3,9; p = n.s.) und Tod (4,3% wenn WBCHO <40 µmol/L und 4,6% wenn WBCHO ≥40 µmol/L; HR: 1,05; 95%CI: 0,12 – 9,36; p = n.s.). In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse für eine leichte Einschränkung der GFR (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]) lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L mit 33,32 Tagen (95%CI: 30,11 – 36,53; n = 28) hoch signifikant über der mittleren Zeit für WBCHO ≥40 µmol/L mit 14,38 Tagen (95%CI: 2,03 – 26,72; n = 6; Log-Rank: 12,69; p = 0,0004). Bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]) lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L mit 33,57 Tagen (95%CI: 30,16 – 36,98; n = 23) signifikant über der mittleren Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO ≥40 µmol/L mit 27,36 Tagen (95%CI: 20,28 – 34,45; n = 12; Log-Rank: 6,28; p = 0,01; Abbildung 14).

Tabelle 8: Patienten-Charakteristika der Kollektive mit leichter (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]) und mittlerer bis starker (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]) Einschränkung der GFR.

Patienten-Charakteristika	GFR 60 – 89 mL/min (K/DOQI II)		GFR <60 mL/min (K/DOQI III – IV)		p-Wert
	n	Statistik	n	Statistik	
WBCHO	112	21,91* 14,02** 13,97 / 26,68***	115	28,92* 21,06** 17,25 / 33,87***	0,01
aktive Raucher („Current Smoker“)	25	24,87* 11,58** 18,34 / 27,78***	26	32,97* 17,23** 21,66 / 43,62***	n.s.
Hyperlipoproteinämie	67	22,56* 12,47** 15,34 / 28,73***	81	30,61* 22,91** 17,79 / 34,38***	0,006
arterielle Hypertonie	77	21,2* 11,33** 12,71 / 28,75***	97	29,95* 22,25** 17,34 / 43,71***	0,002
anamnestisch bekannte KHK oder AP	83	23,42* 15,42** 14,8 / 28,77***	92	27,89* 18,69** 16,56 / 32,9***	0,05

WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); GFR = glomeruläre Filtrationsrate; KHK = Koronare Herzkrankheit; AP = Angina Pectoris; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“; 95%CI = 95% Konfidenzintervall; n = Fallzahl; \* = Mittelwert; \*\* = Standardabweichung; \*\*\* = Perzentile (25/75); n.s. = nicht signifikant.



### Stadium der Niereninsuffizienz

Abbildung 12: „Box-and-Whiskers-Plot“ für WBCHO der Gruppe der Patienten mit leichter Einschränkung der GFR (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]; n = 112) und der Gruppe der Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]; n = 115). Graue Box = Kasten, begrenzt vom ersten und dritten Quartil bzw. den Perzentilen (25/75); dicker Querbalken = Median; dünne Querbalken = kleinster und größter Wert (ohne Ausreißer und Extremwerte); Kreis = Werte, die um mehr als anderthalb Kastenlängen außerhalb liegen (Extremwerte); restliche Legende, siehe Tabelle 5. Bei den Patienten im Stadium III – IV nach K/DOQI wurden signifikant höhere Konzentration von WBCHO gefunden als bei den Patienten im Stadium II ( $p = 0,01$ ). Bei den Patienten im Stadium II lag der Mittelwert von WBCHO bei 21,91, der Median bei 19,21, die Standardabweichung war 14,01 und die Perzentilen betragen 13,97 (25) und 26,68 (75). Bei den Patienten im Stadium III – IV lag der Mittelwert bei 28,92, der Median bei 22,61, die Standardabweichung war 21,06 und die Perzentilen betragen 17,25 (25) und 33,87 (75).

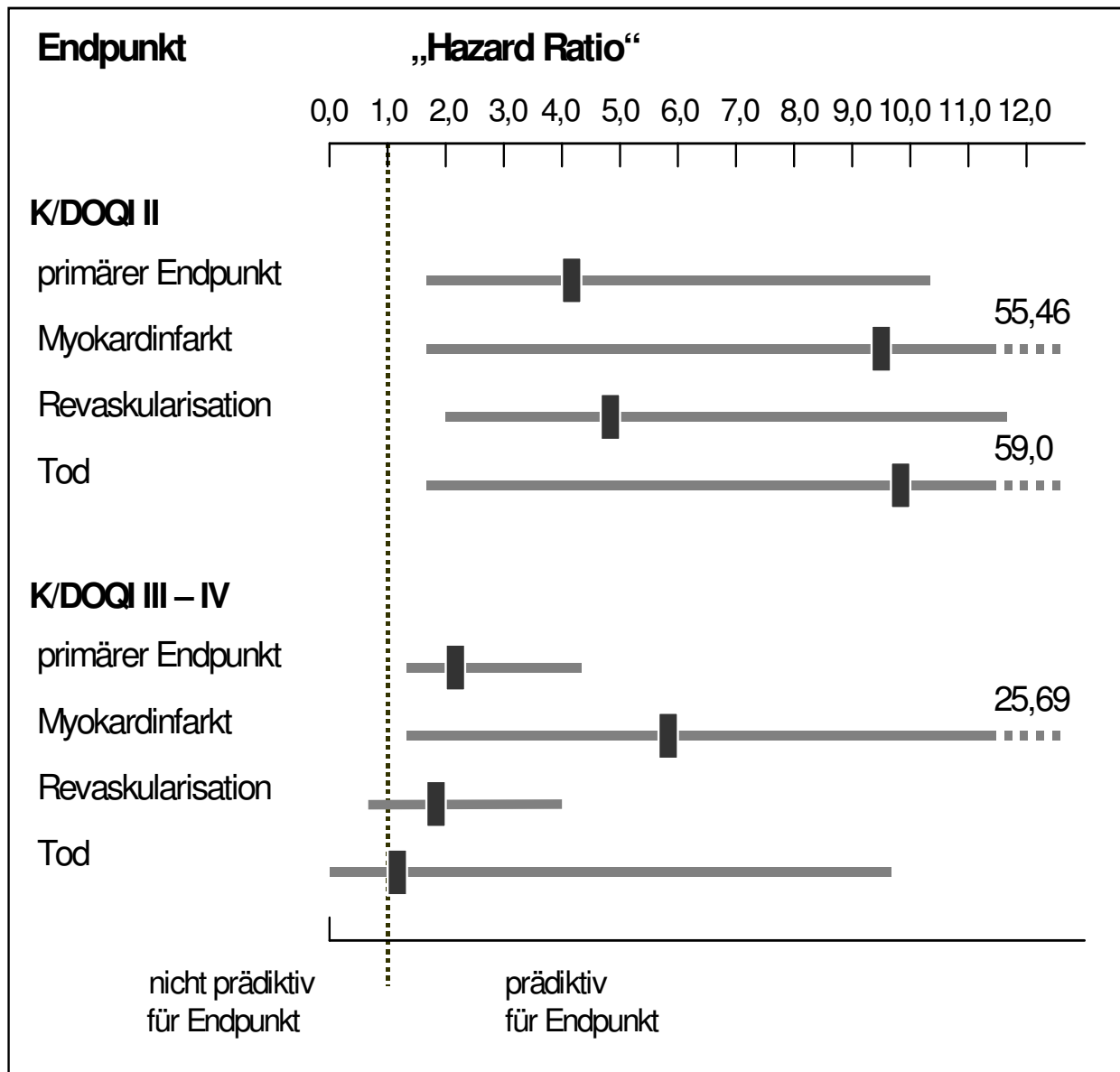
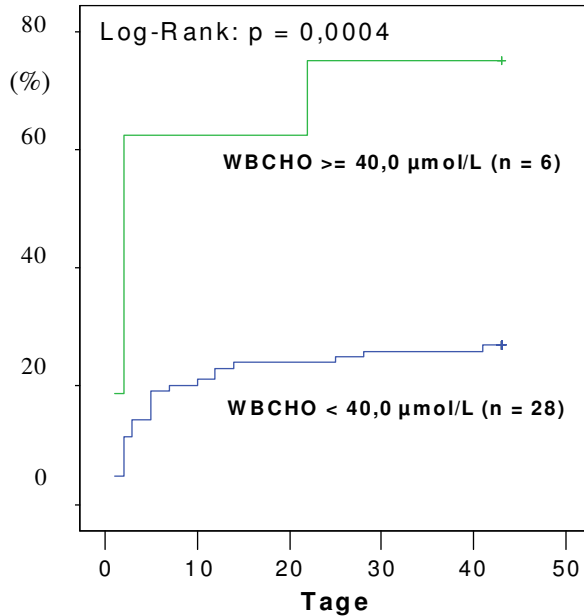


Abbildung 13: „Hazard Ratio's“ für den kombinierten primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) und die einzelnen Endpunkte bei unterschiedlichen Schweregraden der Nierenfunktionseinschränkung nach K/DOQI und einer Cutoff-Konzentration für WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ . Legende, siehe Tabelle 5. Sowohl bei leichter als auch bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR besaß WBCHO prädiktiven Vorhersagewert. Bei leichter Einschränkung der GFR (K/DOQI II) besaß WBCHO in der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse prädiktiven Vorhersagewert für den primären Endpunkt (HR: 4,22; 95%CI: 1,73 – 10,29;  $p = 0,002$ ) ebenso wie für die Endpunkte Revaskularisation (HR: 4,67; 95%CI: 1,89 – 11,55;  $p = 0,001$ ), Tod (HR: 9,84; 95%CI: 1,64 – 59,0;  $p = 0,01$ ) und Myokardinfarkt (HR: 9,26; 95%CI: 1,55 – 55,46;  $p = 0,01$ ). Bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR (K/DOQI III – IV) besaß WBCHO in der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse prädiktiven Vorhersagewert für den primären Endpunkt (HR: 2,33; 95%CI: 1,16 – 4,69;  $p = 0,02$ ) ebenso wie für den Endpunkt Myokardinfarkt (HR: 5,75; 95%CI: 1,29 – 25,69;  $p = 0,02$ ). Bei den Endpunkten Revaskularisation (HR: 1,74; 95%CI: 0,77 – 3,9;  $p = \text{n.s.}$ ) und Tod (HR: 1,05; 95%CI: 0,12 – 9,36;  $p = \text{n.s.}$ ) konnten keine signifikanten p-Werte gefunden werden.

**primärer Endpunkt bei leichter  
Einschränkung der GFR**



**primärer Endpunkt bei mittlerer  
bis starker Einschränkung der GFR**

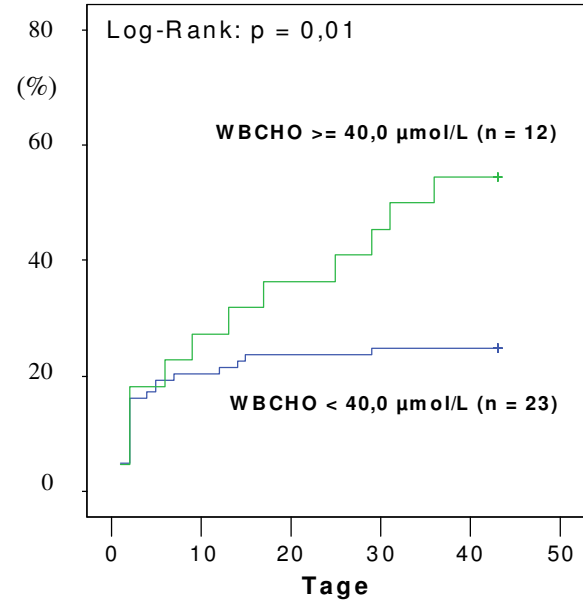


Abbildung 14: Kaplan-Maier-Kurven für die Inzidenz der primären Endpunkte (Tod, AMI oder Revaskularisation) bei leichter (60 – 89 mL/min [K/DOQI II]) und mittlerer bis starker (<60 mL/min [K/DOQI III – IV]) Einschränkung der GFR, einem WBCHO-Cutoff  $\geq 40,0 \mu\text{mol/L}$  und einem Beobachtungszeitraum von 42 Tagen. WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); n = Fallzahl; Kreuz = Ende des Beobachtungszeitraums. Die Inzidenz der erreichten primären Endpunkte liegt in der Abbildung für WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  bei leichter Einschränkung der GFR hoch signifikant ( $p = 0,0004$ ) und bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR signifikant ( $p = 0,01$ ) über der für WBCHO  $< 40,0 \mu\text{mol/L}$ .

#### 4.6 Vollblut-Cholin bei unterschiedlichen Ursachen von renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz

Zwischen den Mittelwerten der WBCHO-Konzentrationen bei diabetischer und nichtdiabetischer Ursache der Niereninsuffizienz bestand kein signifikanter Unterschied ( $27,55 \pm 19,82 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 80$ ;  $23,98 \pm 17,05 \mu\text{mol/L}$ ;  $n = 145$ ;  $p = \text{n.s.}$ ). In den ausgewählten Risikogruppen, unterschieden nach der Ursache der Niereninsuffizienz, fanden sich ebenfalls keine signifikanten Unterschiede zwischen den Mittelwerten der WBCHO-Konzentrationen. Die „Boxplots“ der WBCHO-Werte der beiden Gruppen sind in Abbildung 15 dargestellt, die WBCHO-Werte ausgewählter Risikogruppen in Tabelle 9 aufgeführt. Während des Follow-up-Zeitraums wurden alle untersuchten Endpunkte von Patienten mit diabetischer Nephropathie häufiger erreicht als von Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie (Tod: 8,8% versus 2,1%; Myokardinfarkt: 7,5% versus 4,1%; Revaskularisation: 33,8% versus 20,7%; primärer Endpunkt: 40 versus 24,8%). WBCHO besaß bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie Vorhersagewert für den primären Endpunkt, nicht aber bei Patienten mit diabetischer Nephropathie. WBCHO besaß bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie prädiktiven Wert für den primären Endpunkt (20,5% wenn WBCHO  $<40 \mu\text{mol/L}$  und 55,6% wenn WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 3,02; 95%CI: 1,46 – 6,28;  $p = 0,003$ ). Bei Patienten mit diabetischer Nephropathie besaß WBCHO keinen signifikanten Vorhersagewert für den primären Endpunkt (36,2% wenn WBCHO  $<40 \mu\text{mol/L}$  und 63,6% wenn WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 2,17; 95%CI: 0,94 – 5,04;  $p = \text{n.s.}$ ; Abbildung 16). Bei den einzelnen Endpunkten besaß WBCHO nur für den Endpunkt Myokardinfarkt bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie prädiktiven Vorhersagewert (1,6% wenn WBCHO  $<40 \mu\text{mol/L}$  und 22,2% wenn WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 14,81; 95%CI: 2,71 – 80,93;  $p = 0,002$ ). Bei allen anderen einzelnen Endpunkten, sowohl bei diabetischer als auch nichtdiabetischer Nephropathie, konnten in der Cox-Risiko-Verhältnisanalyse keine signifikanten p-Werte gefunden werden. Weder für den Endpunkt Myokardinfarkt bei Patienten mit diabetischer Nephropathie (5,8% wenn WBCHO  $<40 \mu\text{mol/L}$  und 18,2% wenn WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 3,14; 95%CI: 0,58 – 17,16;  $p = \text{n.s.}$ ) noch für die Endpunkte Tod (7,3% wenn WBCHO  $<40 \mu\text{mol/L}$  und 18,2% wenn WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 2,6; 95%CI: 0,5 – 13,4;  $p = \text{n.s.}$ ) und Revaskularisation (30,4% wenn WBCHO  $<40 \mu\text{mol/L}$  und 54,5% wenn WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ ; HR: 2,2; 95%CI: 0,88 – 5,45;  $p = \text{n.s.}$ ) besaß WBCHO prädiktiven Vorhersagewert. Für die verbleibenden beiden Endpunkte der Patienten mit

nichtdiabetischer Nephropathie, Tod (1,6% wenn WBCHO <40 µmol/L und 5,6% wenn WBCHO ≥40 µmol/L; HR: 3,58; 95%CI: 0,32 – 39,45; p = n.s.) und Revaskularisation (18,1% wenn WBCHO <40 µmol/L und 38,9% wenn WBCHO ≥40 µmol/L; HR: 2,28; 95%CI: 0,98 – 5,31; p = 0,06) besaß WBCHO ebenfalls keinen prädiktiven Wert. In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse für die Patienten mit diabetischer Nephropathie lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L bei 29,20 Tagen (95%CI: 24,81 – 33,60; n = 25), die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO ≥40 µmol/L bei 19,27 Tagen (95%CI: 7,97 – 30,58; n = 7; Log-Rank: 3,75; p = 0,05). Bei den Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L bei 35,66 Tagen (95%CI: 33,02 – 38,30; n = 26), die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO ≥40 µmol/L bei 26,06 Tagen (95%CI: 18,08 – 34,03; n = 10; Log-Rank: 10,13; p = 0,01; Abbildung 17).

Tabelle 9: Patienten-Charakteristika der Kollektive mit nichtdiabetischer und diabetischer Nephropathie.

Patienten-Charakteristika	Nephropathie (nichtdiabetisch)		Nephropathie (diabetisch)		p-Wert
	n	Statistik	n	Statistik	
WBCHO	145	23,98* 17,05** 14,78 / 29,36***	80	27,55* 19,82** 16,15 / 30,83***	n.s.
aktive Raucher („Current Smoker“)	28	27,65* 12,19** 19,02 / 40,5***	23	30,64* 18,28** 19,64 / 32,75***	n.s.
Hyperlipoproteinämie	85	26,26* 19,75** 15,64 / 32,88***	61	27,21* 18,41** 16,77 / 30,75***	n.s.
arterielle Hypertonie	105	25,04* 18,72** 14,65 / 32,38***	67	27,01* 18,42** 16,09 / 30,92***	n.s.
anamnestisch bekannte KHK oder AP	104	24,35* 14,62** 15,71 / 30,11***	70	27,32* 20,23** 16,02 / 29,53***	n.s.

WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); KHK = Koronare Herzkrankheit; AP = Angina Pectoris; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“; 95%CI = 95% Konfidenzintervall; n = Fallzahl; \* = Mittelwert; \*\* = Standardabweichung; \*\*\* = Perzentile (25/75); n.s. = nicht signifikant.

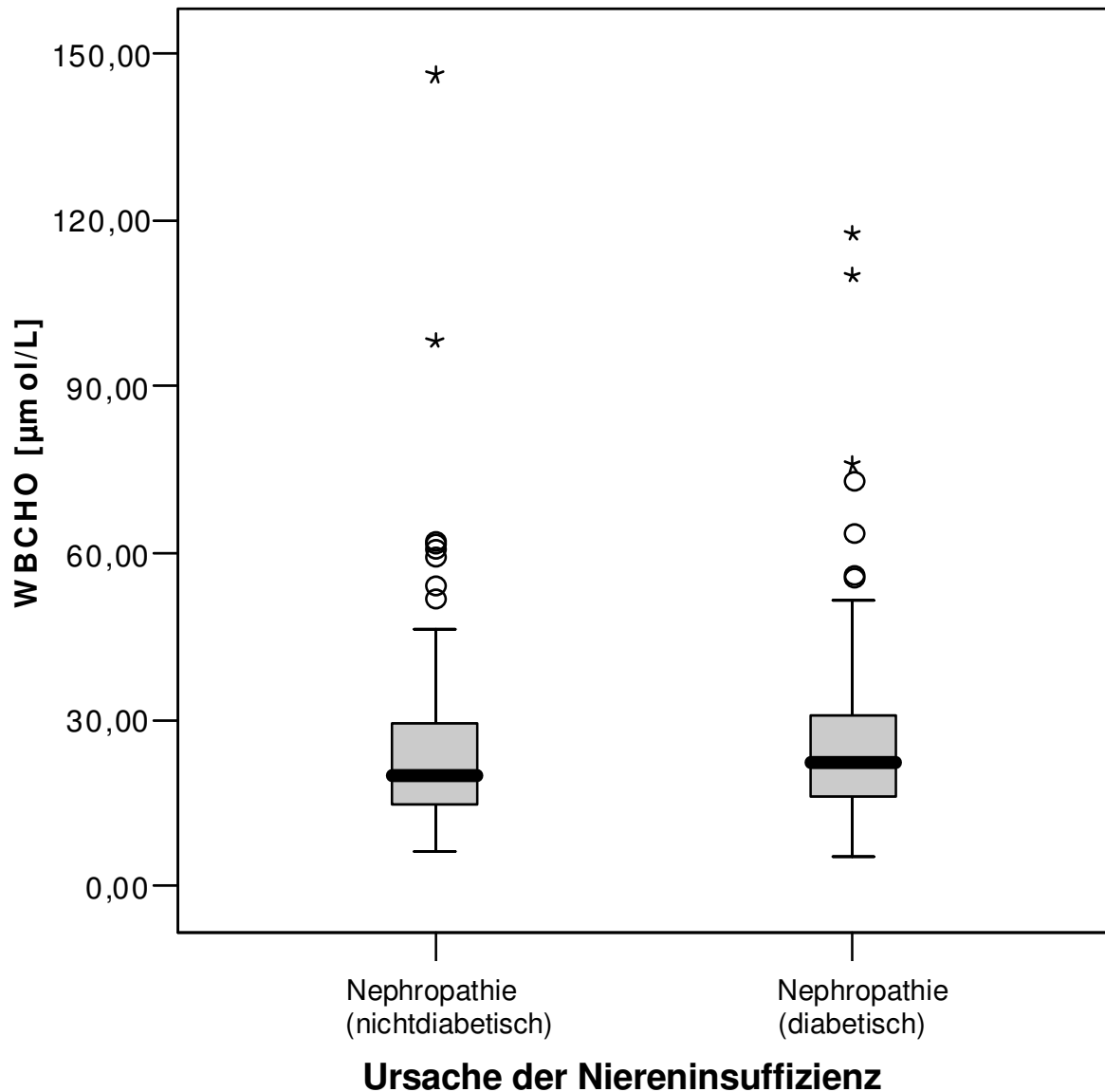


Abbildung 15: „Box-and-Whiskers-Plot“ für WBCO der Gruppe der Patienten mit diabetischer Nephropathie ( $n = 80$ ) und der Gruppe der Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie ( $n = 145$ ). Graue Box = Kasten, begrenzt vom ersten und dritten Quartil bzw. den Perzentilen (25/75); dicker Querbalken = Median; dünne Querbalken = kleinster und größter Wert (ohne Ausreißer und Extremwerte); Kreis = Werte, die um mehr als anderthalb Kastenlängen außerhalb liegen (Ausreißer); Stern = Werte, die um mehr als drei Kastenlängen außerhalb liegen (Extremwerte); restliche Legende, siehe Tabelle 5. Zwischen beiden Patientengruppen im Diagramm besteht kein signifikanter Unterschied. Bei den Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie lag der Mittelwert von WBCO bei 23,98, der Median bei 19,74, die Standardabweichung war 17,05 und die Perzentilen betragen 14,78 (25) und 29,36 (75). Bei den Patienten mit diabetischer Nephropathie lag der Mittelwert bei 27,55, der Median bei 22,20, die Standardabweichung war 19,82 und die Perzentilen betragen 16,15 (25) und 30,83 (75).



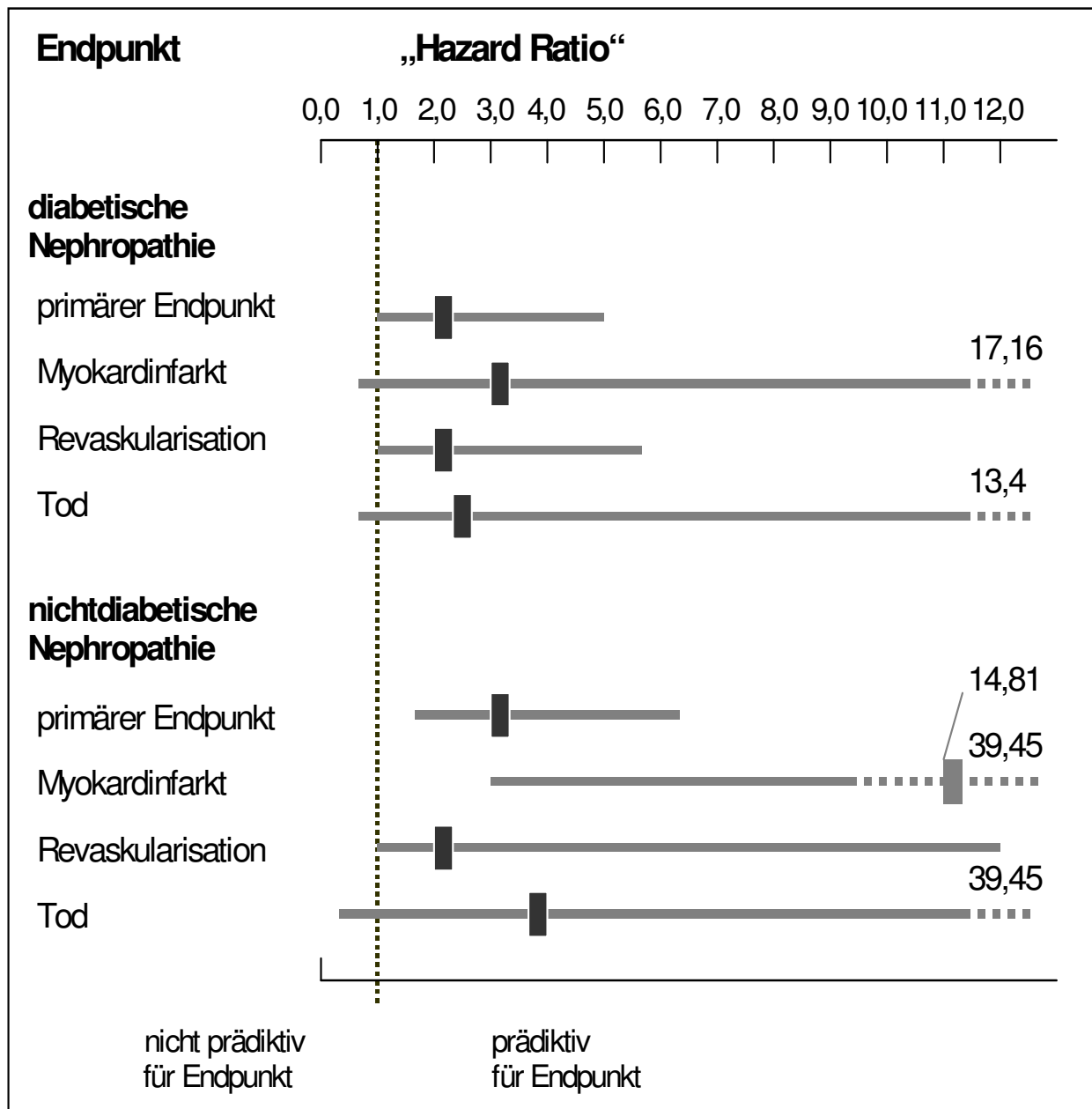
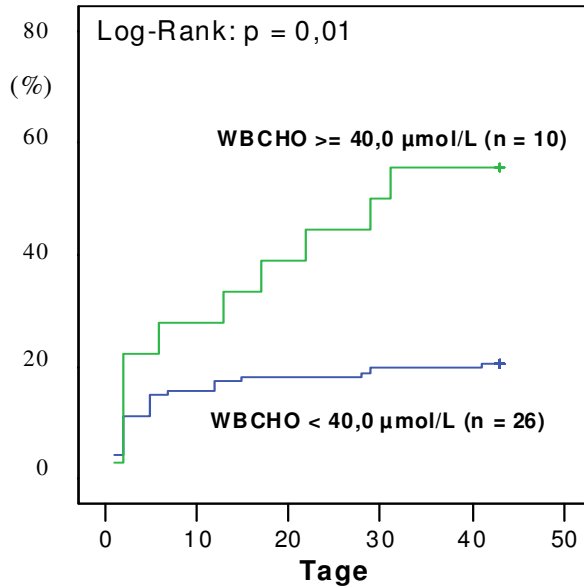


Abbildung 16: „Hazard Ratio's“ für den kombinierten primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) und die einzelnen Endpunkte bei diabetischer und nichtdiabetischer Nephropathie und einer Cutoff-Konzentration für WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$ . Legende, siehe Tabelle 5. Bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie besaß WBCHO prädiktiven Wert für den primären Endpunkt (HR: 3,02; 95%CI: 1,46 – 6,28;  $p = 0,003$ ) und den Endpunkt Myokardinfarkt (HR: 14,81; 95%CI: 2,71 – 80,93;  $p = 0,002$ ). Bei allen anderen Endpunkten der Patienten mit diabetischer und nichtdiabetischer Nephropathie konnten keine signifikanten p-Werte ermittelt werden.

**primärer Endpunkt bei  
nichtdiabetischer Nephropathie**



**primärer Endpunkt bei  
diabetischer Nephropathie**

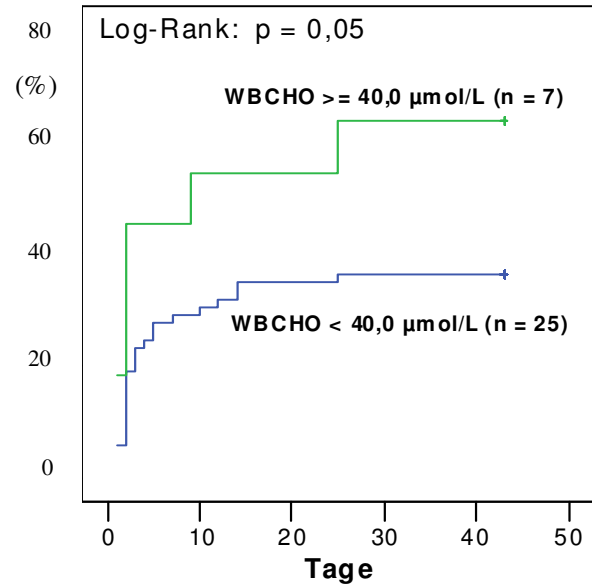


Abbildung 17: Kaplan-Meier-Kurven für die Inzidenz der primären Endpunkte (Tod, AMI oder Revaskularisation) bei nichtdiabetischer und diabetischer Nephropathie, einem WBCHO-Cutoff  $\geq 40,0 \mu\text{mol/L}$  und einem Beobachtungszeitraum von 42 Tagen. WBCHO = Whole Blood Choline (Vollblut-Cholin); n = Fallzahl; Kreuz = Ende des Beobachtungszeitraums. Die Inzidenz der erreichten primären Endpunkte für WBCHO  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  liegt in der Abbildung bei nichtdiabetischer Nephropathie ( $p = 0,01$ ) und diabetischer Nephropathie ( $p = 0,05$ ) signifikant über der für WBCHO  $< 40,0 \mu\text{mol/L}$ .

#### 4.7 Multivariate Analyse von Vollblut-Cholin und anderen Einflussvariablen

In der durchgeführten multivariaten Analyse, welche verschiedene vermutete Einflussvariablen einschloss, erwies sich WBCHO als ein hoch signifikanter und unabhängiger Prädiktor für den primären Endpunkt (OR: 3,05;  $p = <0,001$ ). Für weibliches Geschlecht (OR: 1,11;  $p = 0,007$ ) und Ursache der Niereninsuffizienz (OR: 1,95;  $p = 0,006$ ) fanden sich in dieser multivariaten Analyse signifikante Ergebnisse, während für Alter und Stadium der Niereninsuffizienz keine signifikanten p-Werte gefunden werden konnten (Tabelle 10).

Tabelle 10: Multivariate Analyse verschiedener wichtiger Einflussvariablen auf den primären Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) innerhalb eines Beobachtungszeitraums der Patienten ( $n = 229$ ) von 42 Tagen.

Variable	Odds Ratio	95%CI	p-Wert
WBCHO („Cutoff“ $\geq 40 \mu\text{mol/L}$ )	3,052	1,71 – 5,43	<0,001
Alter ( $\geq 65$ Jahre)	1,11	0,66 – 1,87	n.s.
Geschlecht (weiblich)	0,491	0,29 – 0,83	0,007
Stadium der Niereninsuffizienz (K/DOQI II versus K/DOQI III – IV)	0,74	0,44 – 1,24	n.s.
Ursache der Niereninsuffizienz (diabetisch versus nichtdiabetisch)	1,954	1,21 – 3,16	0,006

WBCHO = Whole Blood Choline; K/DOQI = „Kidney Disease Outcome Quality Initiative“; 95%CI = 95% Konfidenzintervall; n.s. = nicht signifikant.

## 5 DISKUSSION

Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz haben deutlich häufiger kardiovaskuläre Probleme als Personen mit normaler Nierenfunktion. Ihre Lebenserwartung ist stark reduziert. In dieser Arbeit wurde untersucht, ob Cholin im Vollblut („Whole Blood Choline“; WBCHO) Eignung als prognostischer Marker für das Eintreten kardialer Ereignisse bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz besitzt, die mit Verdacht auf ein Nicht-ST-Hebungs-(Non-ST-Elevation-)-ACS oder anderen akuten kardiovaskulären oder renalen Symptomen über die Notaufnahme ins Krankenhaus aufgenommen werden. Besondere Aufmerksamkeit lag auf Schwere und Ursache chronischer Nierenfunktionseinschränkungen, anhand der die Patienten in Gruppen gefasst wurden. Primäre Endpunkte waren Tod, Myokardinfarkt und Revaskularisation.

Die Ergebnisse dieser ersten detaillierten Studie über WBCHO bei 232 Patienten mit Niereninsuffizienz konnten zeigen, dass WBCHO ein starker und unabhängiger Prädiktor für das Eintreten kardialer Ereignisse bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz ist. Zwischen der Höhe der Konzentration von WBCHO und einer Einschränkung der GFR konnte ein signifikanter Zusammenhang ermittelt werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass WBCHO sowohl bei leichter Reduktion der GFR [K/DOQI II] als auch bei mittlerer bis starker Reduktion der GFR [K/DOQI III – IV], ebenso bei diabetischer und nichtdiabetischer Ursache der Niereninsuffizienz, prädiktiven Vorhersagewert für das Eintreten verschiedener kardialer Ereignisse besitzt.

### 5.1 Diskussion der Fragestellung

Dass Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz ein deutlich erhöhtes Risiko besitzen, schwerwiegende kardiovaskuläre Komplikationen zu entwickeln, konnte mit zahlreichen Studien belegt werden<sup>62,63,73,90,91,95,108</sup>. Eine chronische Niereninsuffizienz ist ein starker und unabhängiger Prädiktor für das Eintreten kardiovaskulärer Ereignisse<sup>93</sup>, kardiovaskulärer Mortalität<sup>91</sup> und Gesamt-Mortalität<sup>93,171</sup>. Dabei ist bereits eine milde Niereninsuffizienz mit einem hohen Risiko verbunden, kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden<sup>62,63</sup>, für das die so genannten

„klassischen“ bzw. „traditionellen“ kardiovaskulären Risikofaktoren nicht als alleinige Ursache herangezogen werden können. Neben den bekannten „klassischen“ Risikofaktoren – besonders Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie und Fettstoffwechselstörungen – kommen bei reduzierter Nierenfunktion noch die „nichttraditionellen“ Risikofaktoren hinzu. „Nichttraditionelle“ bzw. „CKD-verwandte“ Risikofaktoren sind beispielsweise Hyperhomocysteinämie<sup>110</sup>, Hyperphosphatämie<sup>114</sup> und erhöhte Entzündungsmediatoren<sup>126</sup>. Weiterhin wird in der chronischen Niereninsuffizienz selbst bzw. dem durch die Niereninsuffizienz verursachten urämischen Milieu eine starke arteriosklerotische Potenz vermutet<sup>83</sup>. Trotz intensiver Forschungen gibt es über die pathogenetischen Zusammenhänge der bei chronischer Niereninsuffizienz vermehrt auftretenden kardiovaskulären Komplikationen noch viele Unklarheiten und bestehen wahrhaftig befriedigende Strategien zur Prävention und Therapie<sup>61,172</sup>. Viele der etablierten Diagnoseverfahren, die in der nierengesunden Bevölkerung bei Verdacht kardiovaskulärer Schädigungen routinemäßig zur Anwendung gelangen, besitzen bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz nur eine eingeschränkte Aussagekraft. So sind Symptome wie Brustschmerz oder Dyspnoe häufig untypisch, und eine vegetative Symptomatik, charakteristisch bestehend aus Übelkeit, Erbrechen und Schweißausbrüchen, die viele Patienten mit intakter Nierenfunktion beim ACS aufweisen, besteht bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz normal schon verstärkt. Gleichfalls ist die Aussagekraft des EKG reduziert, oft ist es pathologisch, finden sich beispielsweise verbreiterte QRS-Komplexe oder ST-T-Wechsel<sup>57</sup>. Und auch die biochemischen Marker sind durch die reduzierte Nierenfunktion, welche zu einem veränderten Metabolismus führt, in ihrer Aussagekraft herabgesetzt (siehe Kapitel 1.3.1).

Infolgedessen ist es wichtig, neue Verfahren und Markersubstanzen dahingehend zu untersuchen, ob sie zuverlässiger als die gegenwärtig zur Verfügung stehenden Methoden in der Lage sind, diagnostische und prognostische Aussagen über kardiovaskuläre Ereignisse bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu treffen bzw. zusammen mit bewährten Methoden eine Verbesserung von Diagnostik und Risikoabschätzung zu erreichen.

Verschiedene im Organismus vorhandene Bestandteile wurden und werden hinsichtlich dieses Zusammenhanges untersucht. Bereits etablierte kardiovaskuläre Markersubstanzen für die nierengesunde Bevölkerung gehören dazu, aber auch –

überwiegend im Blut als Laborwert quantifizierbare – Folgen einer chronischen Nierenfunktionseinschränkung, von denen es gerade bei Niereninsuffizienz zahlreiche gibt. So ist eine chronisch reduzierte Nierenfunktion verbunden mit erhöhten Konzentrationen verschiedener Entzündungsmediatoren<sup>13,126</sup>, erhöhter Konzentration von Homocystein<sup>13</sup>, erhöhter Koagulabilität<sup>126</sup>, Anämie<sup>132</sup>, Auftreten von abnormalem Lipoprotein<sup>13</sup>, links ventrikulärer Hypertrophie<sup>125</sup>, Intima- und Mediaverdickung<sup>17</sup>, arterieller Steifheit<sup>15</sup>, erhöhter arterieller Kalzifikation<sup>16</sup> und endothelialer Dysfunktion<sup>14</sup> – allesamt Folgen einer chronisch reduzierten Nierenfunktion und häufig zugleich auch diskutierte Risikofaktoren für das Eintreten kardiovaskulärer Ereignisse (näheres, siehe auch Kapitel 1.3.3).

Die Troponine sind gegenwärtig die bevorzugten Biomarker zur Bestimmung einer myokardialen Schädigung und zur Diagnose eines Myokardinfarktes<sup>56,145</sup>. Dass es bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zu einer Erhöhung von cTnT und cTnI kommt, haben in den letzten Jahren zahlreiche Studien zeigen können<sup>142,148</sup>. Ferner konnten verschiedene Studien für erhöhte Troponine ein erhöhtes Risiko ermitteln, kardiovaskuläre Schädigungen zu erleiden<sup>143,156</sup>. Es gibt aber auch Studien, welche, wie die von Möckel M. et al., für erhöhte Werte von cTnT und/oder cTnI bei Patienten mit Niereninsuffizienz kein signifikant erhöhtes kardiales Risiko ermitteln konnten<sup>157</sup>. Pathophysiologie und Aussagekraft erhöhter Troponine, Goldstandard der Diagnostik und Risikostratifizierung einer kardialen Schädigung bei Patienten ohne Nierenfunktionseinschränkung bleiben bei eingeschränkter Nierenfunktion umstritten. Es bleibt offen, wie im Einzelfall ein erhöhter Troponinwert genau bewertet werden muss und welche diagnostischen und prognostischen Konsequenzen daraus zu ziehen sind (siehe auch Kapitel 1.3.4.1). Dass C-reaktives Protein und hoch sensitives C-reaktives Protein (hsCRP) Eignung als Prädiktoren für Gesamt-Mortalität<sup>137</sup> und kardiovaskuläre Mortalität<sup>127</sup> bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz besitzen, konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden. Allerdings weisen sie von Person zu Person ausgeprägte Schwankungen bei den gemessenen Konzentrationen auf, besonders bei Hämodialyse-Patienten. Da viele inflammatorische und infektiologische Erkrankungen zu einer Erhöhung von CRP bzw. hsCRP führen, ist außerdem ihre Spezifität gering, was die Interpretation der Ergebnisse zusätzlich erschwert. Die Problematik einer geringen Spezifität und relativ großen interindividuellen Schwankungsbreite bei den Konzentrationen weisen auch verschiedene andere Marker

der Inflammation und Gerinnung auf, so beispielsweise Interleukin 6<sup>129,130,131</sup> und Fibrinogen<sup>126,173</sup>. Weiterhin sind in diesem Zusammenhang die B-Typ natriuretischen Peptide von Interesse, die vergleichsweise stark vom Grad der renalen Insuffizienz abhängig sind und bei Dialyse-Patienten die höchsten Konzentrationen aufweisen<sup>162</sup>. Einige Studien konnten gewisse Vorzüge der B-Typ natriuretischen Peptide ermitteln<sup>137,144</sup>, wohingegen andere Arbeiten zu eher widersprüchlichen Ergebnissen kamen und die Grenzen der B-Typ natriuretischen Peptide aufzeigten<sup>161</sup>. Alles eingerechnet muss festgestellt werden, dass trotz gewisser individueller Vorteile keine der oben aufgeführten Markersubstanzen befriedigend geeignet ist, um für Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion hinsichtlich des Eintretens kardialer Ereignisse diagnostische und prognostische Aussagen zu treffen.

Cholin ist ein enzymatisches Spaltprodukt der Phospholipase D. Es ist ein wichtiger Bestandteil der Phospholipide, welche die Phospholipiddoppelmembran bilden, und ist in verschiedenen Blutzellen reichhaltig vorhanden. Sowohl Cholin im Vollblut („Whole Blood Choline“; WBCHO) als auch Cholin im Plasma (PLCHO) konnten bei Patienten mit Verdacht auf ein ACS als fähige Prädiktoren kardialer Ereignisse bestimmt werden<sup>28,50</sup>. In diesem Sinne haben Danne O. et al. in einer Studie an 327 Patienten mit intakter Nierenfunktion und Verdacht auf ein ACS ermitteln können, dass ein erhöhter Wert von Vollblut-Cholin zum Zeitpunkt der Aufnahme für Troponin negative Patienten ein erhöhtes Risiko bedeutet, den primären Endpunkt (kardialer Tod oder nichttödlicher Herzstillstand) zu erreichen (OR: 6,0; 95%CI: 1,85 – 19,49; p = 0,003). In der multivariaten Analyse erwies sich Vollblut-Cholin als stärkster Prädiktor und war unabhängig von den in die Untersuchung eingeschlossenen klassischen Risikofaktoren und den kardialen Troponinen (OR: 6,05; 95%CI: 1,54 – 23,76; p = 0,01)<sup>28</sup>. In einer anderen Arbeit von Danne O. et al. an 222 Troponin negativen Patienten erwies sich Cholin im Vollblut besonders für den Endpunkt Myokardinfarkt als signifikant prädiktiv<sup>50</sup>. Gerade in der Frühphase nach einem kardialen Ereignis scheint Vollblut-Cholin anderen Markersubstanzen überlegen zu sein, da es früher positiv ist und der Maximalwert der Konzentration meist mit der ersten Blutabnahme bestimmt werden kann<sup>28,51</sup>.

Für Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz sind erhöhte Konzentrationen von Cholin im Plasma, Veränderungen des Transports von Cholin durch die Membranen und Veränderungen der Aufnahme und des Gehalts von Cholin in den Erythrozyten

---

beschrieben worden <sup>41,42,43,44,45</sup>. Cholin im Vollblut wurde bei Patienten mit Niereninsuffizienz noch nicht detailliert untersucht, weshalb nicht bekannt ist, welche Aussagekraft Vollblut-Cholin bezüglich des Risikos besitzt, kardiale Komplikationen zu erleiden. Deshalb wurde in dieser Arbeit die prognostische Aussagekraft von Vollblut-Cholin für das Auftreten kardialer Komplikationen bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz untersucht.



## 5.2 Diskussion der Methodik

**Auswahl der Patienten:** Das Studien-Kollektiv setzt sich aus 232 Patienten der Notaufnahme zusammen, die zwischen August 1999 und März 2003 im Universitätskrankenhaus Charité, Campus Virchow Klinikum, behandelt worden waren und die Einschlusskriterien erfüllten. Einschlusskriterien waren ein Verdacht auf ein Nicht-ST-Hebungs-(Non-ST-Elevation-)-ACS oder andere akute kardiovaskuläre oder renale Symptome. Weiterhin musste eine GFR <90 mL/min bestehen. Eine Ablehnung bzw. ein Ausschluss erfolgte bei schwerer Anämie (Hämoglobin [HB] <7 g/dL), akutem Nierenversagen und/oder einem akuten ST-Hebungs-Myokardinfarkt (siehe auch Kapitel 3.1.2). Die oben aufgeführten Kriterien für den Einschluss in die Studie wurden mit Bedacht „weit“ gewählt, da, bedingt durch die mit einer chronisch reduzierten Nierenfunktion verbundenen Schädigungen – insbesondere der Neuropathie –, sich kardiale Geschehen bei chronischer Niereninsuffizienz nicht selten hinter unspezifischen oder untypischen Symptomen verbergen.

**Trenn- und Analyseverfahren:** Die Hochleistungsflüssigchromatographie und die Massenspektrometrie gelangten zusammen mit dem Kopplungssystem Elektrospray-Ionisation zum Einsatz („High Performance Liquid Chromatography Mass-Spectrometry“; HPLC-MS). Die hoch sensitive und spezifische Massenspektrometrie ist ein relativ neues Detektorsystem zur Online-Analyse des Eluates aus der HPLC. Sie ermöglicht es, Einzelsubstanzen bis in den nanomolaren Bereich nachzuweisen und ist den meisten anderen Arten von Detektoren, die zur Analyse von Cholin nach HPLC-Passage Anwendung finden <sup>174</sup>, in verschiedenen Belangen überlegen <sup>175</sup>. Das Verfahren wurde anhand der laborinternen Standardarbeitsanweisung „Bestimmung von Cholin in Blutproben mit HPLC/MS“ und eines laborinternen Protokolls validiert und optimiert. Durch in die Analysephase integrierte Messungen von Kalibrations- und Qualitätskontrolllösungen bekannter Konzentration (Kalibrationslösungen 5, 50, 500 µmol/L; Qualitätskontrolllösungen 12,5, 125, 200, 400 µmol/L) wurde die Messgenauigkeit überprüft. Die Reproduzierbarkeit der Messungen wurde für die verschiedenen Kontrolllösungen gemäß dem Validierungsprotokoll kontrolliert. Nur freie ungebundene Cholin-Ionen wurden detektiert. Mit den ebenfalls Cholin enthaltenden Phosphorylcholinen, den Phosphatidylcholinen oder einer anderen Spezies aus der Familie der Phospholipide traten keine Interferenzen auf. Zur Quantifizierung der

Spezifität der Ergebnisse wurde eine mögliche Beeinflussung der Analyse durch oft verwendete Medikamente (z.B. Aspirin, Heparin, Glyzeroltrinitrat) untersucht. Eine Einflussnahme dieser Medikamente auf die Messergebnisse konnte ausgeschlossen werden (siehe Kapitel 3.2). Durch die hoch sensitive und spezifische Messung von Cholin mit einer validierten Methode gewährleisten die gefundenen Ergebnisse ein Höchstmaß an Genauigkeit.

### 5.3 Diskussion der Ergebnisse

**Studien-Patienten:** Aus der Notaufnahme erfolgte die stationäre Aufnahme ins Krankenhaus am häufigsten unter dem Leitsymptom „Brustschmerz oder anamnestische AP“ (53%), gefolgt von „Symptomen, die durch das Nierenversagen verursacht sind“ (12,5%), „Dyspnoe“ und „andere Gründe“ (je 10,3%), „Hypertonie“ (7,3%) und „Herzrhythmusstörungen“ (5,2%). Somit waren die Patienten mit renaler Dysfunktion oder chronischer Niereninsuffizienz zu einem hohen Prozentsatz zum Zeitpunkt des Einschlusses akut oder subakut kardial symptomatisch. Infolgedessen sind die gefundenen Ergebnisse bevorzugt mit Studien von Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion und einem zusätzlich auftretenden akuten kardialen Ereignis zu vergleichen

**Vollblut-Cholin und glomeruläre Filtrationsrate:** WBCHO war bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz (GFR <90 mL/min [K/DOQI II – V]) erhöht und zwischen WBCHO und der glomerulären Filtrationsrate bestand eine schwache und inverse Korrelation (Regressionskoeffizient = - 0,24; Ordinatenabschnitt = 38,84;  $R^2 = 0,105$ ;  $p = <0,001$ ). Der signifikante aber schwache Zusammenhang erklärt sich dadurch, dass eine zunehmende Einschränkung der Nierenfunktion zwar mit einer Erhöhung der mittleren Konzentration von WBCHO verbunden ist, dabei aber sehr ausgeprägte interindividuelle Unterschiede zwischen den einzelnen Patienten bestehen. Mutmaßlich werden diese Unterschiede durch die pathophysiologischen Beeinflussungen verursacht, denen Cholin im Körper von niereninsuffizienten Patienten unterliegt, sowie durch Freisetzung von WBCHO nach Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque in unterschiedlicher Stärke.

Cholin wird in den Nieren sowohl an der glomerulären Membran filtriert als auch im Tubulus sekretiert und reabsorbiert<sup>38,39</sup>. Der Transport von Cholin durch die Wandung des Tubulus wird wahrscheinlich von Carriern getragen und ist in beide Richtungen möglich. Überwiegend findet er aber im proximalen Teil und in der Henleschen Schleife statt, wohingegen der distale Tubulus für Cholin relativ undurchlässig zu sein scheint. Bei normalen bzw. niedrigen Plasma-Konzentrationen überwiegt die Reabsorption, und die Ausscheidung von Cholin mit dem Urin ist gering (~1%). Bei hohen Konzentrationen überwiegt die Sekretion gegenüber der Reabsorption und es kommt zu einer erhöhten Ausscheidung von Cholin mit dem Urin<sup>38,39</sup>. Andere Wege der Eliminierung von Cholin

aus dem Plasma sind die metabolische Umwandlung zu Betain und die Aufnahme durch verschiedene organische Gewebe <sup>40</sup>. Im experimentellen Versuch konnte bei erhöhter Plasma-Konzentration, hervorgerufen durch intravenöse Infusion von <sup>11</sup>C-Cholin, sowohl eine Erhöhung von nichtexkretorischer bzw. metabolischer Elimination als auch eine Erhöhung von exkretorischer bzw. renaler Eliminierung, bewirkt durch eine Zunahme der tubulären Sekretion, gefunden werden <sup>39</sup>. Dabei fällt die Konzentration von Cholin nach intravenöser Infusion relativ schnell ab bzw. steigt die Konzentration des Hauptmetaboliten Betain im Blut schnell an, solange bis sich ein Gleichgewicht eingestellt hat, wonach das Verhältnis der Aktivitäten von Cholin zu Betain annähernd konstant bleibt <sup>40</sup>. Da im experimentellen Versuch eine Sättigung der tubulären Sekretion von Cholin erst bei hohen Plasma-Konzentrationen auftritt, kann angenommen werden, dass bei einer Verminderung von GFR und Tubulusfunktion die renale Elimination von Cholin, ähnlich wie bei verschiedenen anderen Substanzen, noch bis zu höhergradiger Niereninsuffizienz aufrechterhalten werden kann. Bei Nierenerkrankungen mit Tubulusschädigung bei weitgehend erhaltener GFR kann sogar eine pathologisch erhöhte Exkretion von Cholin bestehen. Vergleichbar nimmt die metabolische Elimination, welche eine verhältnismäßig hohe Sättigungsgrenze aufweist, auf die Cholin-Konzentration Einfluss. Allerdings ist unklar, ob eine erhöhte metabolische Elimination von Cholin auf Dauer aufrechterhalten werden kann oder diese über die Zeit „erschöpft“. Ferner sind noch Einflüsse wie die unabhängig von der Nierenfunktion bei einer gewissen Anzahl von Personen unterschiedlich stark erhöhten WBCHO-Konzentrationen zu berücksichtigen <sup>37</sup>, für welche eine Ursache bisher noch nicht eindeutig identifiziert werden konnte. Durch derartige Einflüsse gibt es Patienten mit sehr hoher Cholin-Konzentration und nur geringer renaler Dysfunktion wie auch Patienten mit stark eingeschränkter GFR und normaler Cholin-Konzentration. Bei den Patienten in dieser Arbeit kam außerdem noch hinzu, dass sie zum Zeitpunkt des Einschlusses in die Studie mehrheitlich eine akute oder subakute kardiale Symptomatik aufwiesen. Durch symptomatische oder asymptomatische koronare Ischämien und Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque bestanden deshalb meist zusätzlich noch Erhöhungen von WBCHO in unterschiedlicher Stärke. Vorgenannte Wirkungen und ihr komplexes Zusammenspiel erklären, wieso „nur“ ein schwacher Zusammenhang zwischen GFR und Vollblut-Cholin besteht bzw. gefunden werden konnte.

**Vollblut-Cholin bei ausgewählten Patienten-Charakteristika:** Die mittlere Konzentration von WBCHO war in der Gruppe der Patienten mit Dialysepflicht ( $47,43 \pm 27,48 \mu\text{mol/L}$ ) hoch signifikant erhöht, verglichen mit der mittleren Konzentration von WBCHO der Gruppe der Patienten ohne Dialysepflicht ( $22,87 \pm 14,91 \mu\text{mol/L}$ ;  $p = <0,001$ ). Als ursächlich dafür kann angesehen werden, dass bei Dialysepflichtigkeit eine fortgeschrittene Niereninsuffizienz besteht, während zur Gruppe der nicht dialysepflichtigen Patienten auch zahlreiche Patienten mit leichter oder mittlerer Niereninsuffizienz gehören. Die bei Dialysepflichtigkeit vorhandene Urämie und das durch sie verursachte atherogenetische Milieu gelten als mutmaßliche Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse, ebenso wie die bei Dialysepflichtigkeit stark erhöhten Kalzium-Phosphat-Derivate<sup>101</sup>, chronische Entzündung<sup>104,105</sup>, Hyperparathyroidismus<sup>102</sup> und Hyperhomocysteinämie<sup>74,103</sup> (siehe Kapitel 1.3.3). Diese Ereignisse sind kausal eng mit den bei Dialysepflichtigkeit auftretenden Gefäßveränderungen verbunden. Dialysepflichtige Patienten weisen vergleichsweise ausgeprägte Gefäßveränderungen auf<sup>14,15,18,67</sup>. Oft kann Grad V bis VIII nach Sary gefunden werden<sup>11</sup>, was mittleren bis starken vaskulären Schädigungen entspricht und, so die Hypothese, vermittelt über Aktivierung verschiedener Mediatoren mit einer erhöhten PLD-Aktivität in Thrombozyten wie auch arteriosklerotischen Plaque – und damit Freisetzung von WBCHO – verbunden ist<sup>28,53</sup>. Weiterhin ist von Bedeutung, dass bei Dialyse-Patienten die Clearance-Leistung der Nieren stark herabgesetzt ist, was die Retention unterschiedlicher Substanzen zur Folge hat. Wohl konnte im Experiment gezeigt werden, dass eine hohe Blut-Konzentration von WBCHO zu einer Steigerung der metabolischen Umwandlung<sup>40</sup> und tubulären Sekretion<sup>38,39</sup> von Cholin führt. Da es aber fraglich ist, ob die metabolische Elimination auf Dauer aufrechterhalten werden kann und die Fähigkeit zur Steigerung der Sekretion bisher nur im Experiment gezeigt werden konnte, sind die Nieren dialysepflichtiger Patienten zur kompensatorischen Steigerung der renalen Elimination von Cholin in ausreichendem Umfang – was auch zu den gefundenen Ergebnisse passen würde – mutmaßlich nicht in der Lage.

Bei den Patienten-Kollektiven mit Ausprägung der Merkmale aktive Raucher und Hyperlipoproteinämie wurden, verglichen mit den Kollektiven der Patienten ohne diese Merkmale, signifikant erhöhte Werte von WBCHO gefunden (aktive Raucher:  $p = 0,002$ ; Hyperlipoproteinämie:  $p = 0,003$ ). In der Literatur ist eine Erhöhung von Cholin bzw. WBCHO bisher weder für das Merkmal aktive Raucher noch für das Merkmal

Hyperlipoproteinämie beschrieben worden. Wahrscheinlich erklären sich die signifikant erhöhten WBCHO-Werte bei Vorhandensein dieser beiden Merkmale dadurch, dass sie gesicherte „klassische“ Risikofaktoren der Arteriosklerose-Entstehung sind und die pathogenetischen Wirkungen im Organismus, welche sie zu eben diesen Risikofaktoren machen, auch zu einer Erhöhung von WBCHO führen. So konnte gezeigt werden, dass aktives Rauchen zur Aktivierung und Aggregation von Thrombozyten führt, was eine verstärkte Bildung von Thrombin sowie Störungen der Fibrinolyse nach sich zieht und ein erhöhtes Risiko der Entwicklung einer Thrombose oder Arteriosklerose zur Folge hat<sup>176,177</sup>. Ähnliche Einwirkungen auf Thrombozyten und arteriosklerotische Plaque konnten auch für unterschiedliche Störungen des Fettstoffwechsels ermittelt werden. So nehmen Lipoproteine in Abhängigkeit von ihrer Zusammensetzung und vermittelt durch Bindung an Oberflächenrezeptoren auf die Aktivität der Thrombozyten Einfluss<sup>178,179</sup>. Vor allem scheint das für oxidiertes LDL zu gelten<sup>178</sup>, was auch innerhalb der Pathogenese der Arteriosklerose Bedeutung besitzt<sup>21</sup>. Erhöhtes LDL, erhöhtes VLDL und erniedrigtes HDL können bei unterschiedlichen Fettstoffwechselstörungen zu gesteigerter Thrombozyten-Aktivität führen. Bei bestimmten Störungen des Fettstoffwechsels kann die Thrombozyten-Funktion allerdings auch reduziert sein<sup>179</sup>.

Bei den Unterscheidungskriterien Alter, Geschlecht, Hypertonie und kardiale Anamnese wurden keine signifikanten Unterschiede bei den WBCHO-Konzentrationen gefunden. Danne O. et al. konnten bei Patienten mit intakter Nierenfunktion und Verdacht auf ein ACS bei Vorhandensein der Merkmale Hypertonie und Diabetes mellitus signifikant erhöhte WBCHO-Werte ermitteln, nicht aber bei den Merkmalen Alter, Geschlecht und kardiale Anamnese<sup>28</sup>. Dass bei Vorhandensein der Merkmale Hypertonie und Diabetes mellitus eine Erhöhung von WBCHO bestehen kann, ist fraglos plausibel, sind beide Merkmale doch gesicherte starke Risikofaktoren der Entwicklung einer Arteriosklerose. Dass für das Merkmal Hypertonie in dieser Untersuchung kein signifikantes Ergebnis gefunden werden konnte, wohl aber in der Arbeit von Danne O. et al., liegt vermutlich an der nur in dieser Untersuchung vorliegenden Nierenfunktionseinschränkung. Denn diese besitzt einen starken Einfluss auf die Konzentration von WBCHO und überlagert vermutlich die Wirkung des Merkmals Hypertonie auf die WBCHO-Konzentration (weiteres dazu, siehe Diskussion unterschiedliche Ursachen von renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz).

Dass für die Merkmale Alter, Geschlecht und kardiale Anamnese in beiden Studien keine signifikanten Ergebnisse gefunden werden konnten, erscheint ebenfalls plausibel. Denn es handelt sich um schwache bzw. überhaupt als solche diskutierte Risikofaktoren der Arteriosklerose, welche überdies eher langfristig wirken und/oder in ihrer Arteriosklerose-Pathogenese auch über Pfade laufen, welche nicht mit einem Anstieg von WBCHO verbunden sind.

**Vollblut-Cholin und kardiovaskuläre Ereignisse; primäre Endpunkt:** Der primäre Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation) wurde von 30,4% der Patienten erreicht. Die hohe Häufigkeit des Erreichens des primären Endpunkts erklärt sich dadurch, dass es sich wie oben bereits angeführt um eine Patienten-Population mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz handelt, die zu einem hohen Prozentsatz akut oder subakut kardial symptomatisch war. Es fand also eine Selektion im Sinne des gehäuften Einschlusses von Hochrisiko-Patienten für das Eintreten kardialer Ereignisse statt. Die erhaltenen Häufigkeiten entsprechen denen anderer Arbeiten mit vergleichbaren Patienten-Populationen und einem ähnlichen Studiendesign. So konnte in Untersuchungen von McCullough P.A. et al. an Patienten mit Brustschmerz und Niereninsuffizienz<sup>180</sup> oder von Timoteo A.T. et al. an Patienten mit Myokardinfarkt und Niereninsuffizienz<sup>181</sup> der Anteil schwerwiegender Komplikationen als ähnlich hoch bestimmt werden. Im Vergleich dazu ist die Häufigkeit erreichter Ereignisse bei Patienten mit einem geringeren Risikoprofil gemäß den Erwartungen deutlich niedriger. So beispielsweise in der Arbeit von Apple F.S. et al. an ambulant behandelten niereninsuffizienten Patienten, welche zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses keine akute kardiale Symptomatik aufwiesen<sup>137</sup>. Da in dieser Arbeit eine Patienten-Population von Hochrisiko-Patienten vorliegt, ist strittig, inwieweit die Resultate geeignet sind, Aussagen über Patienten mit renaler Dysfunktion oder chronischer Niereninsuffizienz zu treffen, die ein geringes oder mittleres Risikoprofil aufweisen.

In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse besaß WBCHO für den primären Endpunkt hoch signifikanten prädiktiven Vorhersagewert (HR: 2,66; 95%CI: 1,55 – 4,55;  $p = <0,001$ ). In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse unterschieden sich die mittleren Zeiten bis zum Eintreten der primären Endpunkte bei WBCHO  $\geq 40$   $\mu\text{mol/L}$  hoch signifikant (Log-Rank: 14,46;  $p = 0,0001$ ).

Die Ergebnisse zeigen eindeutig, dass WBCHO bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz ein starker Prädiktor für das Erreichen des primären Endpunkts ist.

**Pathophysiologie von erhöhtem Vollblut-Cholin bei kardiovaskulären Ereignissen:** Cholin ist ein enzymatisches Spaltprodukt der PLD<sup>182</sup>, deren Isomere wichtige Komponenten der zellulären Signaltransduktion sind und mit der Arteriosklerose-Pathogenese, ischämischen Ereignissen, der Entstehung instabiler arteriosklerotischer Plaque und deren Destabilisierung im Zusammenhang zu stehen scheinen<sup>27,28,34</sup>. Über die Mechanismen, welche zu einer Aktivierung von PLD führen<sup>26</sup> und damit den Gehalt von Cholin im Blut beeinflussen, herrscht in vielen Details noch Unklarheit. Initial kommt es bei ischämischen Gewebsverletzungen bzw. Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque durch aktivierte PLD zu einer erhöhten Freisetzung von Cholin ins Blut, gefolgt von einer sekundären Aufnahme in die Blutzellen, die beginnt, noch ehe die Freisetzung von Cholin ins Blut abgeschlossen ist. Außer in dieser Initialphase, in der eine stärkere Erhöhung der Konzentration von Plasma-Cholin als der von Vollblut-Cholin gefunden werden kann, wird die Konzentration von Vollblut-Cholin meist höher als die von Plasma-Cholin bestimmt. Verschiedene Mechanismen sind daran beteiligt: Dass Cholin in den Erythrozyten in hohen Konzentrationen gefunden werden kann und die aktive Aufnahme durch verschiedene Cholin-Transport-Systeme gewährleistet wird<sup>30,49</sup>, bei denen membranständige Phospholipasen eine entscheidende Rolle spielen<sup>43,49</sup>, ist seit den ersten Studien bekannt, welche sich mit Cholin beschäftigen<sup>44,45</sup>. Weiterhin existiert eine intrazelluläre Bildung von Cholin in den Blutzellen, die durch intrazellulär lokalisierte PLD und andere Signalkaskaden vermittelt wird<sup>29,31</sup>. Gerade bei Patienten mit arteriosklerotischen – insbesondere instabilen – Plaque besteht eine ausgeprägte Aktivierung von intrazellulär lokalisierter PLD. Dadurch kommt es zu einer Beeinflussung des Austauschs von Cholin und werden verschiedene Blutzellen zu einer verstärkten Aufnahme von Cholin angeregt, was dazu beiträgt, dass bei diesen Patienten erhöhte Werte von WBCHO gefunden werden können<sup>28</sup>. Weiterhin ist in diesem Zusammenhang von Bedeutung, dass Plasma-Cholin zu einem gewissen Grad metabolisch in Betain umgewandelt wird und in verschiedene Gewebe aufgenommen werden kann<sup>40</sup>.



Vorgenannte Wirkungen bedingen wesentliche Unterschiede zwischen Plasma-Cholin und Vollblut-Cholin – gleichwohl beide Eignung als prognostische Marker bei Patienten mit ACS besitzen<sup>28,50</sup> –, weshalb eine Bestimmung von Cholin im Vollblut gegenüber der Bestimmung von Cholin im Plasma, wie sie bei vielen anderen Substanzen meistens erfolgt, bei bestimmten Fragestellungen geeigneter sein könnte<sup>51</sup>. Auch weil bei einer nennenswerten Anzahl von Patienten erhöhte WBCHO-Werte gefunden werden und sie ein erhöhtes Risiko für verschiedene schwere kardiale Komplikationen besitzen, ohne aber auch erhöhte Konzentrationen von Plasma-Cholin aufzuweisen<sup>51</sup>. Ein zweiter Aktivierungspfad kann deswegen angenommen werden, der neben dem über Gewebe-Ischämie vermittelten besteht und die erhöhten WBCHO-Werte mit einem starken prädiktiven Vorhersagewert für schwere Komplikationen beim ACS erklärt. Möglicherweise könnten diese erhöhten WBCHO-Konzentrationen bei nicht oder nur leicht erhöhten Konzentrationen von Plasma-Cholin neben oben erwähnten Mechanismen eine verstärkte PLD-Aktivität in den Blutzellen, Aktivierung von Thrombozyten und Destabilisierung koronarer Plaque widerspiegeln. Daran scheint die durch Kollagen und Thrombin vermittelte Aktivierung von Thrombozyten am Ort der vaskulären Verletzung bzw. Plaquestabilisierung, die zur Thrombozyten-Aggregation führt und woran aktivierte PLD initial beteiligt ist, eine ganz wesentliche Rolle zu spielen<sup>23,29,31,52,53</sup>. Die Freisetzung von Cholin durch PLD in den Thrombozyten ist vermutlich spezifisch, da andere wichtige Botenstoffe der Signaltransduktion nicht zu einer Aktivierung von PLD und Freisetzung von Cholin führen. Das könnte erklären, wieso eine Erhöhung von WBCHO, die das Cholin in den Thrombozyten beinhaltet, mit dem ACS assoziiert ist, nicht aber mit anderen Zuständen unspezifischer Thrombozyten-Aktivierung. Andere wichtige unter Mitwirkung von PLD ablaufende Prozesse, die mit Bildung und Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque in Verbindung stehen, sind Sekretion von Metalloproteinase-9<sup>35</sup>, Förderung der Bindung von Fibrin an den Glycoprotein-IIb/IIIa-Rezeptor<sup>36</sup> und Aktivierung von Makrophagen unter Beteiligung von oxidiertem LDL<sup>21</sup>. Die in die subepitheliale Schicht eingewanderten Makrophagen exponieren Isoenzyme von PLD und Epitope der Oxidation auf ihrer Oberfläche<sup>27</sup> und stimulieren im Zusammenspiel mit oxidiertem LDL und Lysophosphatidylcholin<sup>31,183</sup> wiederum die PLD<sup>21</sup>. Durch Ausbildung so genannter Scavenger-Rezeptoren bei den veränderten Makrophagen, welche keinen Rückkopplungsmechanismus mehr besitzen, kommt es bei ihnen zur ungebremsten Aufnahme und Akkumulation von Lipiden<sup>20,21</sup>.

Das führt innerhalb des entzündlichen Prozesses zur Umwandlung der Makrophagen in Schaumzellen („Foam Like Cells“), die nach Kumulation erst die typischen Fettstreifen bilden („Fatty Streaks“) und sich im Verlauf zu arteriosklerotischen Plaque entwickeln können<sup>20</sup> (siehe auch Kapitel 1.2.1, 1.2.2 und 1.2.3). Da die Konzentration von WBCHO nach Stimulation von PLD und Aktivierung von Oberflächenrezeptoren in koronaren Plaque ansteigt, erlaubt WBCHO möglicherweise Rückschlüsse auf PLD-Aktivität und Plaquestabilität<sup>28</sup>. Denn die Konzentration von WBCHO als komplementärer Aktivitätsmarker der PLD scheint den Zustand arteriosklerotischer – insbesondere instabiler – Plaque zu reflektieren. Während viele der bekannten biochemischen Marker noch unauffällig sind, da Zellen noch nicht zerstört wurden, könnten erhöhte WBCHO-Werte ein erster Hinweis auf ein möglicherweise drohendes kardiales Ereignis sein, weswegen sie zur Identifizierung von Hochrisiko-Patienten Verwendung finden könnten, bei denen noch kein akuter Verschluss der Koronararterien besteht bzw. eine Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque eingetreten ist<sup>28</sup>. Die Wirkungen der myokardialen PLD bei Ischämie und Reperfusion sind allerdings komplex<sup>32</sup>, verschiedene im Myokard vorkommende Isoenzyme von PLD sind daran beteiligt<sup>33</sup>, weshalb, abhängig vom untersuchten Isoenzym oder der Zeitspanne bis zum Beginn der Reperfusion nach Ischämie, in einigen Arbeiten auch kein Anstieg der PLD-Aktivität gefunden werden konnte<sup>32,34</sup>.

Andere wesentliche Einwirkungen auf Aufnahme, Freisetzung, Metabolismus und Elimination von Cholin sind im pathophysiologischen Zusammenhang mit einem ACS nicht bekannt. Die oben aufgeführten Prozesse, welche über Aktivierung von PLD ablaufen, liefern gegenwärtig die wahrscheinlichste Erklärung für erhöhte Choline im Vollblut. Ungeachtet der gefundenen Ergebnisse bleiben die pathophysiologischen Hintergründe erhöhter Konzentrationen von WBCHO bei ischämischen Gewebsverletzungen bzw. Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque letztendlich unklar und sind alle Erklärungen hypothetisch.

**Cutoff-Konzentration:** Zur Bewertung des Risikos der Patienten mit renaler Dysfunktion oder chronischer Niereninsuffizienz, kardiovaskuläre Komplikationen zu entwickeln, haben sich alle drei verwendeten Cutoff-Konzentrationen als geeignet erwiesen. Verglichen mit den „Cutoff’s“ für WBCHO  $\geq 28,2$   $\mu\text{mol/L}$  (HR: 2,03; 95%CI: 1,26 – 3,27;  $p = 0,004$ ) und  $\geq 50,0$   $\mu\text{mol/L}$  (HR: 2,09; 95%CI: 1,04 – 4,21;  $p = 0,04$ ) erwies sich ein „Cutoff“ für WBCHO  $\geq 40,0$   $\mu\text{mol/L}$  (HR: 2,66; 95%CI: 1,55 – 4,55;  $p =$

<0,001) als am geeignetsten, Vorhersagen über das Erreichen des primären Endpunkts (Tod, AMI oder Revaskularisation) zu treffen. In der ähnlich aufgebauten Studie von Danne O. et al. an Patienten mit intakter Nierenfunktion und Verdacht auf ein ACS erwies sich dagegen ein „Cutoff“ von WBCCHO  $\geq 28,2$ ,  $\mu\text{mol/L}$  – was der 90% Perzentile der gesunden Bevölkerung entspricht – als am geeignetsten, um zwischen Patienten mit hoher und geringer Wahrscheinlichkeit des Eintretens von Ereignissen zu unterscheiden<sup>28</sup>. Dass in der vorliegenden Arbeit ein höherer „Cutoff“ Verwendung fand bzw. sich zum Treffen prädiktiver Vorhersagen als tauglicher erwies, liegt unter anderem sicherlich an der bei diesen Patienten höheren mittleren Konzentration von WBCCHO, welche erheblich durch den oben beschriebenen starken Einfluss der chronischen Niereninsuffizienz verursacht ist. Bis zusätzliche Datenmaterialien vorliegen und weitere Erfahrungswerte durch andere wissenschaftliche Arbeiten gemacht worden sind, sollte der geeignetste „Cutoff“ in Abhängigkeit von Fragestellung, Messmethoden und insbesondere Patienten-Populationen bzw. Krankheits-Charakteristika sehr sorgfältig ausgewählt werden<sup>138</sup>.

**Vollblut-Cholin und kardiovaskuläre Ereignisse; Endpunkte Tod, Myokardinfarkt und Revaskularisation:** Bei den einzelnen Endpunkten wurde der Endpunkt Tod in 4,4%, der Endpunkt Myokardinfarkt in 5,3% und der Endpunkt Revaskularisation in 26,9% erreicht. In der univariaten Analyse wurde für den Endpunkt Myokardinfarkt ein prädiktiver Vorhersagewert ermittelt (HR: 6,76; 95%CI: 2,18 – 20,98;  $p = 0,001$ ), nicht aber für die Endpunkte Revaskularisation (HR: 2,27; 95%CI: 1,25 – 4,14;  $p = \text{n.s.}$ ) und Tod (HR: 2,9; 95%CI: 0,75 – 11,2;  $p = \text{n.s.}$ ). In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse wurden für die Endpunkte Myokardinfarkt (Log-Rank: 14,73;  $p = 0,001$ ) und Revaskularisation (Log-Rank: 8,02;  $p = 0,005$ ) signifikante Ergebnisse gefunden, nicht aber für den Endpunkt Tod (Log-Rank: 2,61;  $p = \text{n.s.}$ ).

Die ermittelten Ergebnisse zeigen, dass WBCCHO bei Patienten mit renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz auch bei den einzelnen Endpunkten prädiktive Aussagekraft besitzt. Dass bei den einzelnen Endpunkten die statistisch besten Ergebnisse für den Endpunkt Myokardinfarkt gefunden werden konnten, erscheint plausibel, ist WBCCHO doch ein diskutierter Marker der Aktivität instabiler Plaque und der Thrombozyten-Aktivierung<sup>23,28,31,53</sup>. Dass für den Endpunkt Tod keine statistisch signifikanten Ergebnisse ermittelt werden konnten, findet neben der geringen Zahl der erreichten Endpunkte ( $n = 10$ ) unter anderem auch darin seine Erklärung, dass dieser

Endpunkt auch aus Gründen, die nicht originär kardialer bzw. kardiovaskulärer Ursache sind, erreicht werden kann, WBCHO aber explizit als Marker eben dieser Schädigungen diskutiert wird. Der Trend, so zeigen die gefundenen Ergebnisse, zeigt aber in die erwartete Richtung und bei entsprechend verändertem Studiendesign bzw. einer größeren Patientenzahl müssten statistisch signifikante Resultate erzielt werden können. Die akute oder subakute kardiale Symptomatik der Patienten sowie der Umstand, dass die Behandlung im Universitätskrankenhaus Charité, Campus Virchow Klinikum stattfand, einem Ort der Maximalversorgung, wo invasive Diagnostik vermehrt zur Anwendung gelangt, erklärt, wieso der Endpunkt Revaskularisation so häufig erreicht worden war. Dass für den Endpunkt Revaskularisation in der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse ein signifikantes Ergebnis gefunden werden konnte, nicht aber in der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse findet unter anderem darin seine Erklärung, dass Patienten mit Niereninsuffizienz – besonders hochgradiger – seltener eine Herzkatheteruntersuchung erhalten und die Indikationstellung dazu oft nicht eindeutig ist. Gründe dafür sind der geringere Revaskularisationserfolg bei niereninsuffizienten Patienten und die erhöhte Komplikationsrate, welche mit der Durchführung verbunden ist <sup>184</sup>. Bei Patienten mit hochgradiger Niereninsuffizienz ist die Restenoserate beinahe doppelt so hoch <sup>185</sup>.

#### **Vollblut-Cholin bei renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz:**

Zwischen den Mittelwerten der WBCHO-Konzentrationen bei leichter Reduktion der GFR und mittlerer bis starker Reduktion der GFR konnte ein signifikanter Unterschied gefunden werden ( $p = 0,01$ ). Als Erklärung dafür kann auch hier, wie oben detailliert beschrieben, die bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz stärker eingeschränkte renale Elimination, eine häufiger bestehende und einen höheren Schweregrad aufweisende koronare Herzkrankheit sowie die daraus vermutlich resultierende intensivere PLD-Aktivierung in Thrombozyten und instabilen Plaque herangezogen werden <sup>7,23,28,29,31,53</sup>. In ausgewählten Risikogruppen, unterschieden nach dem Grad der Nierenfunktionseinschränkung, wurden ebenfalls signifikante Unterschiede zwischen den mittleren WBCHO-Konzentrationen gefunden (Hyperlipoproteinämie:  $p = 0,006$ , Hypertonie:  $p = 0,002$ , positive Anamnese:  $p = 0,05$ ). Diese Unterschiede sind mutmaßlich aber weniger unmittelbare Ursache des Vorhandenseins der Merkmale als vielmehr durch den als signifikant bestimmten Unterschied zwischen Patienten mit unterschiedlich starker Reduktion der GFR verursacht. Ungeachtet dessen können

diese Merkmale, welche gesicherte Risikofaktoren der Arteriosklerose-Entstehung sind, selbstverständlich zu signifikanten Erhöhungen von WBCHO führen. Das konnte in dieser Arbeit auch für die Merkmale aktive Raucher und Hyperlipoproteinämie und in der Arbeit von Danne O. et al. für die Merkmale Hypertonie und Diabetes mellitus belegt werden <sup>28</sup>.

Der primäre Endpunkt wurde von Patienten mit leichter (n = 112) und mittlerer bis starker (n = 115) Einschränkung der GFR gleich häufig erreicht (30,4% versus 30,4%). In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse besaß WBCHO bei leichter Einschränkung der GFR prädiktiven Vorhersagewert für den primären Endpunkt (HR: 4,22; 95%CI: 1,73 – 10,29; p = 0,002) ebenso bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR (HR: 2,33; 95%CI: 1,16 – 4,69; p = 0,02). In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte bei leichter Einschränkung der GFR für WBCHO <40 µmol/L hoch signifikant über der mittleren Zeit für WBCHO ≥40 µmol/L (Log-Rank: 12,69; p = 0,0004). Bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L signifikant über der mittleren Zeit für WBCHO ≥40 µmol/L (Log-Rank: 6,28; p = 0,01).

Die Ergebnisse zeigen, dass WBCHO unabhängig vom Grad der Nierenfunktionseinschränkung Vorhersagewert dafür besitzt, kardiovaskuläre Komplikationen zu entwickeln. Dass bei Patienten mit leichter Einschränkung der GFR die statistisch „besseren“ Ergebnisse gefunden wurden, erklärt sich auch hier wieder unter anderem dadurch, dass bei ihnen über den „Cutoff“ erhöhte Werte deutlich „besser“ als Hinweis auf ein kardiales Ereignis zu interpretieren sind – anders bei Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR. Bei ihnen können durch die oben beschriebenen Wirkungen von fortgeschrittener Niereninsuffizienz und ausgeprägten Gefäßveränderungen <sup>15,18</sup> – sowie des eventuell noch zusätzlich vorhandenen Diabetes mellitus – deutlich höhere WBCHO-Werte als bei Patienten mit leichter Einschränkung der GFR gefunden werden. Diese liegen häufig in der Nähe des „Cutoff“ oder sogar darüber, ohne aber Ausdruck eines kardialen Ereignisses sein zu müssen. Deshalb ist der gewählte „Cutoff“ für die Gruppe der Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR möglicherweise zu niedrig bzw. ein einziger „Cutoff“ für alle Schweregrade chronischer Niereninsuffizienz nur bedingt geeignet. Besonders trifft das natürlich für die 24 dialysepflichtigen Patienten zu, deren mittlere WBCHO-

Konzentration mit 47,43  $\mu\text{mol/L}$  deutlich über der Cutoff-Konzentration von  $\geq 40 \mu\text{mol/L}$  liegt. Punkte wie die generell bestehende Problematik der Interpretation von Blutwerten bei dialysepflichtigen Patienten, bei welchen die Dialyse-Prozedur massiv in die ohnehin schon gestörte Homöostase der Blutzusammensetzung eingreift, besitzen daran gemessen nur eine nachrangige Bedeutung<sup>41,46,47,48</sup>.

Alle einzelnen Endpunkte wurden von Patienten mit leichter Reduktion der GFR und mittlerer bis starker Reduktion der GFR etwa gleich häufig erreicht (AMI: 4,5% versus 6,1%; Tod: 4,5% versus 4,4%; Revaskularisation: 26,8% versus 24,4%). In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse besaß WBCHO bei leichter Reduktion der GFR prädiktiven Vorhersagewert für die Endpunkte Revaskularisation (HR: 4,67; 95%CI: 1,89 – 11,55;  $p = 0,001$ ), Tod (HR: 9,84; 95%CI: 1,64 – 59,0;  $p = 0,01$ ) und Myokardinfarkt (HR: 9,26; 95%CI: 1,55 – 55,46;  $p = 0,01$ ). Bei mittlerer bis starker Einschränkung der GFR besaß WBCHO nur für den Endpunkt Myokardinfarkt prädiktiven Vorhersagewert (HR: 5,75; 95%CI: 1,29 – 25,69;  $p = 0,02$ ).

Auch bei den einzelnen Endpunkten sind über den „Cutoff“ erhöhte WBCHO-Werte bei Patienten mit unterschiedlich schwerer Nierenfunktionseinschränkung geeignete Prädiktoren für das Eintreten kardialer Ereignisse. Weder für den primären Endpunkt noch einen der einzelnen Endpunkte konnte mit zunehmender Schwere der Niereninsuffizienz ein Ansteigen des Erreichens der Endpunkte gefunden werden. Ein scheinbarer Widerspruch, da in zahlreichen Studien gezeigt werden konnte, dass bereits eine leichte Niereninsuffizienz mit einem deutlich erhöhten Risiko verbunden ist, kardiovaskuläre Ereignisse zu erleiden<sup>62,63</sup>, sowie das ein eindeutiger Zusammenhang zwischen einer Einschränkung der GFR und der Zunahme des kardiovaskulären Risikos besteht<sup>62,73,91</sup>. Die mutmaßliche Erklärung liefert das Design bzw. die Patienten-Auswahl dieser Studie. Denn es handelt sich um Patienten mit chronisch reduzierter Nierenfunktion, die mit akuter oder subakuter kardialer Symptomatik aufgenommen wurden. Ausdrücklich eben nicht um solche Patienten, welche in Abhängigkeit von der Schwere ihrer Nierenerkrankung im Verlauf ein kardiales Ereignis erlitten. Das macht vergleichende Aussagen nur sehr eingeschränkt möglich. Die Erklärung für die „schlechteren“ Ergebnisse bei Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR kann auch bei den einzelnen Endpunkten in der Zusammensetzung dieser Gruppe gesehen werden, die aus untergeordneten Patienten-Kollektiven mit verschieden stark ausgeprägter Niereninsuffizienz besteht.

Denn bei schwerer chronischer Niereninsuffizienz, insbesondere bei Dialysepflichtigkeit, liegt die WBCHO-Konzentration nicht selten nah oder sogar über der gewählten Cutoff-Konzentration. Dass bei Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR für den Endpunkt Tod kein signifikantes Ergebnis gefunden werden konnte, lässt sich überdies durch die geringe Zahl der erreichten Endpunkte erklären ( $n = 5$ ). Ferner kommt noch hinzu, dass dieser Endpunkt auch aus Gründen erreicht werden kann, die nicht kardialer bzw. kardiovaskulärer Ursache sind und deshalb durch WBCHO nicht oder nur unzureichend erfasst werden. Dass schließlich bei Patienten mit mittlerer bis starker Einschränkung der GFR kein signifikantes Ergebnis für den Endpunkt Revaskularisation gefunden werden konnte, kann hier vermutlich auch dadurch begründet werden, dass Patienten mit höhergradiger Niereninsuffizienz nicht so konsequente und aggressive invasive und nichtinvasive kardiovaskuläre Therapien erhalten wie Patienten mit leichter Niereninsuffizienz<sup>63,106,107</sup> und seltener durchgeführte Herzkatheteruntersuchungen beinhaltet<sup>184,185</sup>.

**Vollblut-Cholin bei unterschiedlichen Ursachen von renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz:** Zwischen den Mittelwerten der WBCHO-Konzentrationen bei diabetischer und nichtdiabetischer Ursache der Niereninsuffizienz konnte kein signifikanter Unterschied gefunden werden. In der Arbeit von Danne O. et al. wurde dagegen bei Patienten mit intakter Nierenfunktion und Verdacht auf ein ACS bei Diabetes-Patienten eine signifikant erhöhte WBCHO-Konzentration ermittelt ( $p = 0,005$ )<sup>28</sup>. Es verhält sich hier ähnlich wie bei dem Merkmal Hypertonie, für das in dieser Arbeit ebenfalls kein signifikanter Unterschied bei den WBCHO-Konzentrationen gefunden werden konnte, wohingegen in der Arbeit von Danne O. et al. bei Vorhandensein dieses Merkmals auch eine signifikant erhöhte WBCHO-Konzentration bestimmt worden war<sup>28</sup>. Die Erklärung für die abweichenden Ergebnisse bei den Merkmalen liefert der wichtigste Unterschied zwischen den beiden Studien – der zusätzliche Einfluss der Niereninsuffizienz in der vorliegenden Arbeit. Die Schwere der Niereninsuffizienz und deren Einwirkung auf die WBCHO-Konzentration fand in der vorliegenden Arbeit bei der Untersuchung der verschiedenen Merkmale keine Beachtung. Da dieses Unterscheidungsmerkmal aber ein starker Einflussfaktor ist, für den in dieser Arbeit auch ein signifikanter Unterschied gefunden werden konnte, überlagert der Einfluss des Grades der Niereninsuffizienz auf die Konzentration von WBCHO höchstwahrscheinlich die Einwirkung der Merkmale auf die WBCHO-

Konzentration. Anders in der Studie von Danne O. et al., in der sich die Patienten-Populationen einzig durch Vorhandensein oder nicht Vorhandensein der Merkmale Diabetes mellitus oder Hypertonie unterschieden. Dessen ungeachtet ist Diabetes mellitus natürlich ein starker Risikofaktor für die Entwicklung einer Niereninsuffizienz<sup>83</sup>, weshalb Diabetiker häufig eine reduzierte Nierenfunktion aufweisen bzw. sich eine chronische Niereninsuffizienz entwickeln kann. Eine sich daraus ergebende etwaige Übereinstimmung der Patienten mit Diabetes mellitus und höhergradiger Niereninsuffizienz – was zu signifikanten Ergebnissen führen sollte – liegt durch die Art des Einschlusses, wie oben dargelegt, aber nicht vor. Dass schließlich Patienten mit Diabetes mellitus – gleich ob eine Niereninsuffizienz besteht oder nicht – erhöhte WBCHO-Konzentrationen aufweisen können, steht außer Frage. Denn da diabetische Mikro- und Makroangiopathie auf alle Organe und Gefäße im Organismus einwirken, sind, hat sich eine diabetische Nephropathie herausgebildet, in der Regel auch fortgeschrittene Läsionen am Gefäßsystem zu finden. Was sich, so die aufgestellte Hypothese, vermittelt über PLD-Aktivierung in arteriosklerotischen Plaque und Thrombozyten in einer erhöhten Konzentration von WBCHO äußeren sollte.

Der primäre Endpunkt und alle einzelnen Endpunkte wurden von Patienten mit diabetischer Nephropathie (n = 80) deutlich häufiger erreicht als von Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie (n = 145; primäre Endpunkt: 40% versus 24,8%; Tod: 8,8% versus 2,1%; Myokardinfarkt: 7,5% versus 4,1%; Revaskularisation: 33,8% versus 20,7%). In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse besaß WBCHO bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie prädiktiven Vorhersagewert für den primären Endpunkt (HR: 3,02; 95%CI: 1,46 – 6,28; p = 0,003), nicht aber bei Patienten mit diabetischer Nephropathie. In der Kaplan-Maier-Überlebensanalyse für nichtdiabetische Nephropathie lag die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte für WBCHO <40 µmol/L signifikant über der mittleren Zeit für WBCHO ≥40 µmol/L (Log-Rank: 10,13; p = 0,01), ebenso bei diabetischer Nephropathie (Log-Rank: 3,75; p = 0,05).

Auch bei diabetischen und nichtdiabetischen Ursachen von renaler Dysfunktion und chronischer Niereninsuffizienz besitzt WBCHO Eignung als Prädiktor kardiovaskulärer Komplikationen. Dass der primäre Endpunkt und alle einzelnen Endpunkte von Patienten mit Diabetes mellitus deutlich häufiger erreicht wurden, deckt sich mit den Resultaten vorheriger Studien, die Diabetes als einen starken und unabhängigen Prädiktor für das Eintreten kardialer Ereignisse bestimmen konnten<sup>62,82</sup>, der ähnlich



schwer wiegt wie eine chronische Niereninsuffizienz<sup>83</sup>. Bei kaum einer anderen Risikogruppe wie bei den Diabetikern besteht ein ähnlich starker Zusammenhang zwischen einer reduzierter Nierenfunktion und dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse<sup>62,82</sup>. Dabei ist das Risiko umso größer, je weiter die diabetische Nephropathie vorangeschritten ist<sup>82</sup>. Ähnlich den hohen WBCHO-Konzentrationen lässt sich die gesteigerte Häufigkeit der erreichten Endpunkte bei Diabetes-Patienten durch diabetische Mikro- und Makroangiopathie erklären, welche Läsionen der Gefäße verursachen und bei Bestehen einer diabetischen Nephropathie im fortgeschrittenem Stadium fast obligatorisch zu finden sind. Im Gegensatz dazu sind in der polyätiologischen bzw. heterogenen Gruppe der nichtdiabetischen Nephropathien auch solche Nephropathien eingeschlossen, die, anders als der generalisiert vorkommende und alle Organe betreffende Diabetes mellitus, primär bzw. hauptsächlich in den Nieren lokalisiert sind. Diese Nephropathien weisen außer dem Risiko, welches unabhängig von der Ursache durch jede Nephropathie per se bedingt ist<sup>94</sup>, kein zusätzliches kardiovaskuläres Risiko auf. Infolgedessen sind bei nichtdiabetischen Nephropathien, verglichen mit diabetischen, die Schädigungen des Gefäßsystems deutlich schwächer ausgeprägt, ist die mittlere Konzentration von WBCHO geringer und werden die Endpunkte weniger häufiger erreicht.

In der univariaten Cox-Risiko-Verhältnisanalyse besaß WBCHO bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie prädiktiven Vorhersagewert für den Endpunkt Myokardinfarkt (HR: 14,81; 95%CI: 2,71 – 80,93; p = 0,002). Bei allen anderen Endpunkten konnten keine signifikanten Ergebnisse ermittelt werden.

Dass bei Patienten mit diabetischer Nephropathie keine statistisch signifikanten Ergebnisse ermittelt werden konnten, kann auch hier wieder durch das oben bereits beschriebene Zusammenwirken bzw. sich Überlagern von reduzierter Nierenfunktion und Diabetes mellitus erklärt werden. Denn wenn neben Diabetes mellitus auch eine mittlere bis starke Reduktion der GFR vorliegt, insbesondere Dialysepflichtigkeit, liegt die WBCHO-Konzentration einzelner Patienten häufig nahe oder sogar über der Cutoff-Konzentration, ohne aber Ausdruck eines akuten kardialen Ereignisses sein zu müssen. Weiterhin spielt höchstwahrscheinlich eine Rolle, dass bei Diabetes mellitus, vor allem wenn sich bereits eine diabetische Nephropathie herausgebildet hat, die verschiedenen Endpunkte auch durch mittelbare diabetische Folgen bzw. WBCHO unabhängige Faktoren erreicht werden können, welche nicht oder nur eingeschränkt in einer

WBCHO-Erhöhung messbar sind und daher die prädiktive Aussagekraft von WBCHO herabsetzen. Dass bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie für den Endpunkt Myokardinfarkt ein signifikantes Ergebnis gefunden werden konnte, nicht aber für den Endpunkt Tod ( $n = 3$ ), lässt sich neben der geringeren Zahl der erreichten Endpunkte auch hier wieder damit erklären, dass WBCHO als Marker kardialer Schädigungen den Endpunkt Myokardinfarkt deutlich besser trifft als den weiter gefassten Endpunkt Tod. Dass bei Patienten mit nichtdiabetischer Nephropathie für den Endpunkt Revaskularisation kein signifikantes Ergebnis ermittelt werden konnte, kann auch hier mutmaßlich damit erklärt werden, dass Patienten mit Niereninsuffizienz – insbesondere hochgradiger – wegen des verminderten Erfolgs bei der Revaskularisation und der erhöhten Komplikationsrate seltener Herzkatheteruntersuchungen erhalten<sup>184,185</sup>.

**Multivariate Analyse:** In der multivariaten Analyse, die verschiedene vermutete Einflussfaktoren auf die mittlere Zeit bis zum Eintreten der Endpunkte bei Niereninsuffizienz einschloss, konnte WBCHO als ein hoch signifikanter und unabhängiger Prädiktor für den primären Endpunkt bestimmt werden (OR: 3,05; 95%CI: 1,71 – 5,43;  $p = <0,001$ ). Weibliches Geschlecht (OR: 1,11; 95%CI: 0,29 – 0,83;  $p = 0,007$ ) und Ursache der Niereninsuffizienz (OR: 1,95; 95%CI: 1,21 – 3,16;  $p = 0,006$ ) waren signifikante Prädiktoren. Ein zusätzlicher Einschluss von Variablen wie Troponin, C-reaktivem Protein oder auch B-Typ natriuretischem Peptid in die multivariate Analyse wäre sicherlich dienlich gewesen. Im primären Aufbau der Studie war das jedoch nicht vorgesehen gewesen, weshalb, da bei der Erfassung der Werte von Troponin und C-reaktivem Protein unterschiedliche Tests mit unterschiedlichen analytischen Spezifikationen und Cutoff-Konzentrationen Anwendung fanden und die Variablen nicht für alle Patienten erfasst worden waren – beispielsweise lag bei vielen Patienten nur Troponin I oder Troponin T vor –, von einer Einbeziehung dieser Variablen Abstand genommen wurde. Die ermittelten Ergebnisse zeigen, dass WBCHO, welches in der multivariaten Analyse der Studie von Danne O., et al. an Patienten mit intakter Nierenfunktion und Verdacht auf ein ACS bereits als ein starker und von anderen Faktoren unabhängiger Prädiktor für das Erreichen des primären Endpunkts bestimmt werden konnte, (OR: 6,05; 95%CI: 1,54 - 23,76;  $p = 0,01$ )<sup>28</sup>, prädiktive Eignung bei unterschiedlichen Patienten-Populationen besitzt.

**Fazit:** Diese erste detaillierte Studie über Cholin im Vollblut bei Patienten mit Niereninsuffizienz demonstriert eindrucksvoll, dass WBCHO bei Verwendung einer

geeigneten Cutoff-Konzentration ein starker und unabhängiger Prädiktor für das Eintreten kardialer Ereignisse bei niereninsuffizienten Patienten ist. Es konnte gezeigt werden, dass WBCHO sowohl bei leichter Reduktion der GFR (K/DOQI II) als auch bei mittlerer bis starker Reduktion der GFR (K/DOQI III – IV) prädiktiven Vorhersagewert für das Erreichen kardialer Ereignisse besitzt. Ebenfalls konnte der prädiktive Vorhersagewert von WBCHO für diabetische und nichtdiabetische Ursachen der Niereninsuffizienz gezeigt werden. WBCHO, welches mutmaßlich Rückschlüsse auf PLD-Aktivität und Plaquedynamik zulässt und dessen Konzentration zeitlich vor der anderer gebräuchlicher Marker ansteigt, bestätigt sich somit abermals als ein früher Marker kardiovaskulärer Ereignisse – insbesondere als ein Marker des ACS, der, so zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, breite Eignung bei Patienten mit verschiedenen Krankheits-Charakteristika besitzt.

Grenzen der Studie: Die Ergebnisse dieser prospektiven Studie beruhen auf klinischen Untersuchungen und statistischen Berechnungen. Detaillierte Erklärungen über die pathogenetischen Hintergründe der erhöhten Choline kann sie nicht liefern. Die Patienten-Population war nicht repräsentativ für die Bevölkerung in ihrer Gesamtheit. Zur Zeit der Aufnahme bestand bei allen Patienten eine unterschiedlich starke Einschränkung der Nierenfunktion (<90 mL/min [K/DOQI II – IV]) und bei mehr als drei Viertel (77,3%) der Patienten lag eine positive Anamnese für koronare Herzkrankheit oder Angina Pectoris vor. Die stationäre Aufnahme ins Krankenhaus erfolgte am häufigsten unter dem Leitsymptom „Brustschmerz“ (123 Fälle). Mit Abstand folgten danach „Symptome, die durch das Nierenversagen verursacht sind“ (29 Fälle), „Dyspnoe“ und „andere Gründe“ (je 24 Fälle), „Hypertonie“ (17 Fälle) und „Herzrhythmusstörungen“ (12 Fälle). Da sehr viele Patienten unter dem Leitsymptom „Brustschmerz“ aufgenommen wurden, häufig Leitsymptom einer akuten kardialen Erkrankung, und zum anderen die Behandlung am Universitätskrankenhaus Charité, Campus Virchow Klinikum erfolgte, fand eine Selektion im Sinne des gehäuften Einschlusses von Hochrisiko-Patienten für das Eintreten kardialer Ereignisse statt. Deshalb ist strittig, inwieweit die Resultate geeignet sind, Aussagen über Patienten mit renaler Dysfunktion oder chronischer Niereninsuffizienz zu treffen, die ein geringes oder mittleres Risikoprofil besitzen. Ferner sind womöglich die Ergebnisse nennenswert beeinflussende Patienten-Charakteristika – beispielsweise Alkoholkonsum, diätetische Maßnahmen oder physische Aktivität – nicht erfasst oder hinreichend berücksichtigt

---

worden. Breiter angelegte Studien mit größeren Patienten-Populationen und einem längeren Beobachtungszeitraum wären notwendig, um auszuwerten, inwieweit die Ergebnisse von Hochrisiko-Patienten auf Patienten mit geringem Risikoprofil übertragbar sind und es sich mit einzelnen Risikofaktoren und Patienten-Charakteristika verhält. Weiterhin müsste in folgenden Studien geklärt werden, ob das prädiktive Potential von WBCHO durch Kombination mit anderen Markersubstanzen – vorrangig den Troponinen, aber auch den B-Typ natriuretischen Peptiden oder C-reaktivem Protein – erhöht werden kann, so wie es für die Kombinationen verschiedener Marker schon gezeigt werden konnte<sup>137,138</sup>. Die aktuellen Leitlinien empfehlen bei allen Graden der Niereninsuffizienz eine intensive kardiovaskuläre Prävention und Therapie. Tatsächlich, so zeigen Untersuchungen zur medizinischen Versorgung von Niereninsuffizienten, erhalten diese Patienten in Deutschland und anderen Ländern, verglichen mit der nicht oder nur leicht nierenkranken Bevölkerung, weniger konsequente und aggressive invasive und nichtinvasive kardiovaskuläre Therapien<sup>63,106,107</sup>. Eine wichtige Frage wäre deshalb zu klären, ob WBCHO genutzt werden könnte, um Indikationen zu bestimmten präventiven Maßnahmen und Therapien zu stellen. Schließlich wären die Möglichkeiten einer direkten Einflussnahme zu untersuchen und es müsste abgeklärt werden, inwieweit, bevorzugt durch pharmakologische Einwirkung, die Wahrscheinlichkeit des Auftretens kardialer Ereignisse gesenkt oder ihr zeitliches Eintreten nach hinten verschoben werden kann.

## 6 ZUSAMMENFASSUNG

**Ziel:** Das Ziel dieser prospektiven klinischen Studie war es zu untersuchen, ob Cholin, ein enzymatisches Produkt der Phospholipase D, sich bei Patienten mit verminderter Nierenfunktion (GFR <90 mL/min [K/DOQI II – V]), welche mit Verdacht auf ein Nicht-ST-Hebungs-(Non-ST-Elevation-)-ACS oder anderen akuten kardiovaskulären oder renalen Symptomen über die Notaufnahme ins Krankenhaus aufgenommen werden, als Marker für kardiovaskuläre Komplikationen eignet. Besonderes Augenmerk lag dabei auf Stadium und Ursache chronischer Nierenfunktionseinschränkungen, anhand der die Patienten in Gruppen gefasst wurden. Primäre Endpunkte waren Tod, Myokardinfarkt und Revaskularisation.

**Grundlagen:** Eine Einschränkung der Nierenfunktion ist mit einem beträchtlichen Anstieg der Wahrscheinlichkeit des Eintretens kardiovaskulärer Komplikationen verbunden. Es besteht eine erhöhte kardiale Morbidität und Mortalität. Bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion werden gehäuft arteriosklerotische Plaque vom instabilen Typ gefunden. Mutmaßlich ist Phospholipase D an der Bildung arteriosklerotischer Plaque beteiligt und setzt bei Ischämie und Destabilisierung arteriosklerotischer Plaque Cholin ins Blut frei. Das könnte Cholin zu einem Marker der Phospholipase D Aktivität machen, lässt möglicherweise Rückschlüsse auf den Zustand instabiler arteriosklerotischer Plaque zu und erlaubt es, prognostische Aussagen hinsichtlich der Wahrscheinlichkeit des Eintretens kardiovaskulärer Ereignisse zu treffen.

**Material und Methodik:** Das Patienten-Kollektiv umfasste 232 Patienten der Notaufnahme, welche zwischen August 1999 und März 2003 in der Charité, Standort Virchow Klinikum, stationär behandelt worden waren. Die Einschlusskriterien waren ein Verdacht auf ein Nicht-ST-Hebungs-(Non-ST-Elevation-)-ACS oder andere akute kardiovaskuläre oder renale Symptome, die zu einer Aufnahme ins Krankenhaus führten. Weiterhin musste eine GFR <90 mL/min bestehen. Eine Ablehnung bzw. ein Ausschluss erfolgte bei schwerer Anämie (Hämoglobin [HB] <7 g/dL), akutem Nierenversagen und/oder einem akuten ST-Hebungs-Myokardinfarkt. Von diesen Patienten wurden Blutproben abgenommen und die Cholin-Konzentration im Vollblut („Whole Blood Choline“; WBCHO) bestimmt. Hochleistungsflüssigchromatographie, Elektrospray-Ionisation und Massenspektrometrie (HPLC-ESI-MS) kamen dazu zum

Einsatz. Das „Follow-up“ wurde nach 6 Wochen erhoben. Die Endpunkte waren Tod, Myokardinfarkt, Revaskularisation und der primäre Endpunkt (Tod, AMI oder Revaskularisation). Bei der statistischen Analyse wurden Cox-Risiko-Verhältnisanalyse („Cox Proportional Hazard Analysis“), Kaplan-Maier-Überlebensanalyse („Kaplan-Maier Survival-Analysis“), „Multiple Logistische Regressionsanalyse“ („Multiple Logistic Regression Analysis“) und „Log-Rank Test“ genutzt.

**Ergebnisse:** Die Ergebnisse dieser ersten detaillierten Studie über WBCHO bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zeigen, dass WBCHO ein starker und unabhängiger Prädiktor für das Eintreten kardialer Ereignisse bei niereninsuffizienten Patienten mit akuter kardiovaskulärer oder renaler Symptomatik ist. Zwischen Höhe der WBCHO-Konzentration und Einschränkung der GFR konnte ein Zusammenhang ermittelt werden. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass WBCHO sowohl bei leichter Reduktion der GFR [K/DOQI II] als auch bei mittlerer bis starker Reduktion der GFR [K/DOQI III – IV], ebenso bei diabetischer und nichtdiabetischer Ursache der Niereninsuffizienz, prädiktiven Vorhersagewert für das Eintreten verschiedener kardialer Ereignisse besitzt.

## 7 LITERATURVERZEICHNIS

1. National Kidney Foundation (2002): Kidney Disease Outcome Quality Initiative (K/DOQI) clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* (Band 39), 2 Ergänzung 1, Seite S1-S266
2. Eknoyan G. (2003): Meeting the challenges of the new K/DOQI guidelines. *Am J Kidney Dis.* (Band 41), Ergänzung 5, Seite 3-10
3. Hunsicker L.G., Adler S., Caggiula A., England B.K., Greene T., Kusek J.W., Rogers N.L., Teschan P.E. (1997): Predictors of the progression of renal disease in the Modification of Diet in Renal Disease Study. *Kidney Int.* (Band 51), Nr. 6, Seite 1908-1919
4. Nielsen S., Schmitz A., Rehling M., Mogensen C.E. (1997): The clinical course of renal function in NIDDM patients with normo- and microalbuminuria. *J Intern Med.* (Band 241), Nr. 2, Seite 133-141
5. Massy Z.A., Khoa T.N., Lacour B., Descamps-Latscha B., Man N.K., Jungers P. (1999): Dyslipidaemia and the progression of renal disease in chronic renal failure patients. *Nephrol Dial Transplant.* (Band 14), Nr. 10, Seite 2392-2397
6. Hannedouche T., Chauveau P., Kalou F., Albouze G., Lacour B., Jungers P. (1993): Factors affecting progression in advanced chronic renal failure. *Clin Nephrol.* (Band 39), Nr. 6, Seite 312-320
7. Beddhu S., Allen-Brady K., Cheung A.K., Horne B.D., Bair T., Muhlestein J.B., Anderson J.L. (2002): Impact of renal failure on the risk of myocardial infarction and death. *Kidney Int.* (Band 62), Nr. 5, Seite 1776-1783
8. Cockcroft D.W., Gault M.H. (1976): Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* (Band 16), Nr. 1, Seite 31-41
9. Levey A.S., Bosch, J.P., Lewis, J.B., Greene T., Rogers N., Roth D. (1999): A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann Intern Med.* (Band 130), Nr. 6, Seite 461-470

10. Ross R. (1993): The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s., *Nature*. (Band 362), Nr. 6423, Seite 801-809
11. Stary H.C., Chandler A.B., Dinsmore R.E., Fuster V., Glagov S., Insull W., Rosenfeld M.E., Schwartz C.J., Wagner W.D., Wissler R.W. (1995): A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. *Circulation*. (Band 92), Nr. 5, Seite 1355-1374
12. Ross R. (1986): The pathogenesis of atherosclerosis--an update. *N Engl J Med*. (Band 314), Nr. 8, Seite 488-500
13. Muntner P., Hamm L.L., Kusek J.W., Chen J., Whelton P.K., He J. (2004): The prevalence of nontraditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. (Band 140), Nr. 1, Seite 9-17
14. Blacher J., Safar M.E., Guerin A.P., Pannier B., Marchais S.J., London G.M. (2003): Aortic pulse wave velocity index and mortality in end-stage renal disease. *Kidney Int*. (Band 63), Nr. 5, Seite 1852-1860
15. London G.M., Guerin A.P., Marchais S.J., Metivier F., Pannier B., Adda H. (2003): Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause. *Nephrol Dial Transplant*. (Band 18), Nr. 9, Seite 1731-1740
16. Raggi P., Boulay A., Chasan-Taber S., Amin N., Dillon M., Burke S.K., Chertow G.M. (2002): Cardiac calcification in adult hemodialysis patients: a link between end-stage renal disease and cardiovascular disease? *J Am Coll Cardiol*. (Band 39), Nr. 4, Seite 695-701
17. Kari J.A., Donald A.E., Vallance D.T., Bruckdorfer K.R., Leone A., Mullen M.J., Bunce T., Dorado B., Deanfield J.E., Rees L. (1997): Physiology and biochemistry of endothelial function in children with chronic renal failure. *Kidney Int*. (Band 52), Nr. 2, Seite 468-472
18. Schwarz U., Buzello M., Ritz E., Stein G., Raabe G., Wiest G., Mall G., Amann K. (2000): Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transpl*. (Band 15), Nr. 2, Seite 218-223



19. Ross R. (1999): Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med.* (Band 340), Nr. 2, Seite 115-126
20. Fuster V., Stein B., Ambrose J.A., Badimon L., Badimon J.J., Chesebro J.H. (1990): Atherosclerotic plaque rupture and thrombosis. Evolving concepts. *Circulation.* (Band 82), Ergänzung 3, Seite II47-59
21. Gomez-Munoz A., Martens J.S., Steinbrecher U.P. (2000): Stimulation of phospholipase D activity by oxidized LDL in mouse peritoneal macrophages. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* (Band 20), Nr. 1, Seite 135-143
22. Fuster V., Badimon J.J., Badimon L. (1992): Clinical-pathological correlations of coronary disease progression and regression. *Circulation.* (Band 86), Ergänzung 6, Seite III1-11
23. Davies M.J. (1997): The composition of coronary-artery plaques. *N Engl J Med.* (Band 336), Nr. 18, Seite 1312-1314
24. Uchida N., Okamura S., Kuwano H. (1999): Phospholipase D activity in human gastric carcinoma. *Anticancer Res.* (Band 19), Nr. 1B, Seite 671-675
25. Exton J.H. (2002) Phospholipase D-structure, regulation and function. *Rev Physiol Biochem Pharmacol.* (Band 144), Seite 1-94
26. Moraru I.I., Popescu L.M., Maulik N., Liu X., Das D.K. (1992): Phospholipase D signaling in ischemic heart. *Biochimica Biophysica Acta.* (Band 1139), Nr. 1-2, Seite 148-154
27. O'Brien K.D., Pineda C., Chiu W.S., Bowen R., Deeg M.A. (1999): Glycosylphosphatidylinositol-specific phospholipase D is expressed by macrophages in human atherosclerosis and colocalizes with oxidation epitopes. *Circulation.* (Band 99), Nr. 22, Seite 2876-2882
28. Danne O., Möckel M., Lüders C., Mügge C., Zschunke G. A., Lufft H., Müller C., Frei U. (2003): Prognostic implications of elevated whole blood choline levels in acute coronary syndromes. *Am J Cardiol.* (Band 91), Nr. 9, Seite 1060-1067

29. Martinson E.A., Scheible S., Marx-Grunwitz A., Presek P. (1992): Secreted ADP plays a central role in thrombin-induced phospholipase D activation in human platelets. *Thromb Haemost.* (Band 80), Nr. 6, Seite 976-981
30. Deves R., Krupka R.M. (1984): The comparative specificity of the inner and outer substrate transfer sites in the choline carrier of human erythrocytes. *J Membr Biol.* (Band 80), Nr. 1, Seite 71-80
31. Chiang T.M. (1994): Activation of phospholipase D in human platelets by collagen and thrombin and its relationship to platelet aggregation. *Biochim Biophys Acta.* (Band 1224), Nr. 1, Seite 147-155
32. Asemu G., Dent M.R., Singal T., Dhalla N.S., Tappia P.S. (2005): Differential changes in phospholipase D and phosphatidate phosphohydrolase activities in ischemia-reperfusion of rat heart. *Arch Biochem Biophys.* (Band 436), Nr. 1, Seite 136-144
33. Dent M.R., Singal T., Dhalla N.S., Tappia P.S. (2004): Expression of phospholipase D isozymes in scar and viable tissue in congestive heart failure due to myocardial infarction. *J Cell Mol Med.* (Band 8), Nr. 4, Seite 526-536
34. Brühl A., Hafner G., Löffelholz K. (2004): Release of choline in the isolated heart, an indicator of ischemic phospholipid degradation and its protection by ischemic preconditioning: no evidence for a role of phospholipase D. *Life Sci.* (Band 75), Nr. 13, Seite 1609-1620
35. Williger B.T., Ho W.T., Exton J.H. (1999): Phospholipase D mediates matrix metalloproteinase-9 secretion in phorbol ester stimulated human fibrosarcoma cells. *J Biol Chem.* (Band 274), Nr. 2, Seite 735-738
36. Smyth S.S., Hillery C.A., Parise L.V. (1992): Fibrinogen binding to purified platelet glycoprotein IIb-IIIa (integrin alpha IIb beta 3) is modulated by lipids. *J Biol Chem.* (Band 267), Nr. 22, Seite 15568-15577
37. Bligh J. (1952): The level of free choline in plasma. *J Physiol.* (Band 117), Nr. 2, Seite 234-240

38. Acara M., Rennick B. (1973): Regulation of plasma choline by the renal tubule: bidirectional transport of choline. *Am J Physiol.* (Band 225), Nr. 5, Seite 1123-1128
39. Acara M., Roch-Ramel F., Rennick B. (1979): Bidirectional renal tubular transport of free choline: a micropuncture study. *Am. J. Physiol.* (Band 236), Nr. 2, Seite F112-F118
40. Roivainen A., Forsback S., Gronroos T., Lehikoinen P., Kahkonen M., Sutinen E., Minn H. (2000): Blood metabolism of [methyl-11C]choline; implications for in vivo imaging with positron emission tomography. *Eur J Nucl Med.* (Band 27), Nr. 1, Seite 25-32
41. Ilcol Y.O., Donmez O., Yavuz M., Dilek K., Yurtkuran M., Ulus I.H. (2002): Free choline and phospholipid-bound choline concentrations in serum and dialysate during peritoneal dialysis in children and adults. *Clin Biochem.* (Band 35), Nr. 4, Seite 307-313
42. Ni Z., Smogorzewski M., Massry S.G. (1993): Derangements in acetylcholine metabolism in brain synaptosomes in chronic renal failure. *Kidney Int.* (Band 44), Nr. 3, Seite 630-637
43. Fervenza F.C., Meredith D., Ellory J.C., Hendry B.M. (1991): Abnormal erythrocyte choline transport in patients with chronic renal failure. *Clin Sci.* (Band 80), Nr. 2, Seite 137-141
44. Martin K. (1967): Active transport of choline into human erythrocytes. *J Physiol.* (Band 191), Nr. 2, Seite 105P-106P
45. Martin K. (1968): Concentrative accumulation of choline by human erythrocytes. *J Gen Physiol.* (Band 51), Nr. 4, Seite 497-516
46. Buchman A.L., Jenden D., Suki W.N., Roch M. (2000): Changes in plasma free and phospholipid-bound choline concentrations in chronic hemodialysis patients. *J Ren Nutr.* (Band 10), Nr. 3, Seite 133-138
47. Ilcol Y.O., Dilek K., Yurtkuran M., Ulus I.H. (2002): Changes of plasma free choline and choline-containing compounds' concentrations and choline loss during hemodialysis in ESRD patients. *Clin Biochem.* (Band 35), Nr. 3, Seite 233-239

48. Rennick B., Acara M., Hysert P., Mookerjee B. (1976): Choline loss during hemodialysis: homeostatic control of plasma choline concentrations. *Kidney Int.* (Band 10), Nr. 4, Seite 329-335
49. Deves R., Reyes G., Krupka R.M. (1986): The carrier reorientation step in erythrocyte choline transport: pH effects and the involvement of a carrier ionizing group. *J Membr Biol.* (Band 93), Nr. 2, Seite 165-175
50. Danne O., Lüders C., Storm C., Frei U., Möckel M. (2003): Whole blood choline and plasma choline concentration for early risk-stratification of troponin I-negative acute coronary syndromes. *Circulation.* (Band 108), Ergänzung IV, Seite 468
51. Danne O., Lüders C., Storm C., Frei U., Möckel M. (2005): Whole-blood hypercholinemia and coronary instability and thrombosis. *Clin Chem.* (Band 51), Nr. 7, Seite 1315-1317
52. Martinson E.A., Scheible S., Greinacher A., Presek P. (1995): Platelet phospholipase D is activated by protein kinase C via an integrin alpha IIb beta 3-independent mechanism. *Biochem J.* (Band 310), Nr. 2, Seite 623-628
53. Rubin R. (1988): Phosphatidylethanol formation in human platelets: evidence for thrombin-induced activation of phospholipase D. *Biochem Biophys Res Commun.* (Band 156), Nr. 3, Seite 1090-1096
54. Braunwald E., Antman E.M., Beasley J.W., Califf R.M., Cheitlin M.D., Hochman J.S., Jones R.H., Kereiakes D., Kupersmith J., Levin T.N., Pepine C.J., Schaeffer J.W., Smith, E.E. III, Steward D.E., Theroux P., Gibbons R.J., Alpert J.S., Faxon D.P., Fuster V., Gregoratos G., Hiratzka L. F., Jacobs A. K., Smith S.C.Jr. (2002): ACC/AHA 2002 guideline update for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction -- summary article: a report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (Committee on the Management of Patients With Unstable Angina). *J Am Coll Cardiol.* (Band 40), Nr. 7, Seite 1366-1374

55. Braunwald E., Antman E.M., Beasley J.W., Califf R.M., Cheitlin M.D., Hochman J.S., Jones R.H., Kereiakes D., Kupersmith J., Levin T.N., Pepine C.J., Schaeffer J.W., Smith E.E. III, Steward D.E., Theroux P., Gibbons R.J., Alpert J.S., Eagle K.A., Faxon D.P., Fuster V., Gardner T.J., Gregoratos G., Russell R.O., Smith, S.C.Jr. (2000): ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction: executive summary and recommendations. A report of the American College of Cardiology/American Heart Association task force on practice guidelines (committee on the management of patients with unstable angina). *Circulation*. (Band 102), Nr. 10, Seite 1193-1209
56. Braunwald E., Antman E.M., Beasley J.W., Califf R.M., Cheitlin M.D., Hochman J.S., Jones R.H., Kereiakes D., Kupersmith J., Levin T.N., Pepine C.J., Schaeffer J.W., Smith E.E. 3rd., Steward D.E., Theroux P., Alpert J.S., Eagle K.A., Faxon D.P., Fuster V., Gardner T.J., Gregoratos G., Russell R.O., Smith S.C.Jr. (2000): ACC/AHA guidelines for the management of patients with unstable angina and non-ST-segment elevation myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol*. (Band 36), Nr. 3, Seite 970-1062
57. Schmidt A., Stefenelli T., Schuster E., Mayer G. (2001): Informational contribution of noninvasive screening tests for coronary artery disease in patients on chronic renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis*. (Band 37), Nr. 1, Seite 56-63
58. Apple F.S., Wu A.H., Mair J., Ravkilde J., Panteghini M., Tate J., Pagani F., Christenson R.H., Möckel M., Danne O., Jaffe A.S.; Committee on Standardization of Markers of Cardiac Damage of the IFCC. (2005): Future Biomarkers for Detection of Ischemia and Risk Stratification in Acute Coronary Syndrome. *Clin Chem*. (Band 51), Nr. 5, Seite 810-824
59. Kannel W.B., Castelli W.P., Gordon T., McNamara P.M. (1971): Serum cholesterol, lipoproteins, and the risk of coronary heart disease. The Framingham Study. *Ann Intern Med*. (Band 74), Nr. 1, Seite 1-12
60. Kannel W.B., Castelli W.P., Gordon T. (1979): Cholesterol in the prediction of atherosclerotic disease. New perspectives based on the Framingham study. *Ann Intern Med*. (Band 90), Nr. 1, Seite 85-91

61. Gupta R., Birnbaum Y., Uretsky B.F. (2004): The renal patient with coronary artery disease: current concepts and dilemmas. *J Am Coll Cardiol.* (Band 44), Nr. 7, Seite 1343-1353
62. Pinkau T., Hilgers K.F., Veelken R., Mann J.F. (2004): How does minor renal dysfunction influence cardiovascular risk and the management of cardiovascular disease? *J Am Soc Nephrol.* (Band 15), Nr. 3, Seite 517-523
63. Sarnak M.J., Levey A.S., Schoolwerth A.C., Coresh J., Culeton B., Hamm L.L., McCullough P.A., Kasiske B.L., Kelepouris E., Klag M.J., Parfrey P., Pfeffer M., Raij L., Spinosa D.J., Wilson P.W. (2003): Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation.* (Band 108), Nr. 17, Seite 2154–2169
64. Mann J. (2004): Übersichtsarbeit: Kardiovaskuläres Risiko und Niereninsuffizienz. *DMW.* (Band 129), Seite 2479-2481
65. Herzog C.A., Ma J.Z., Collins A.J. (1998): Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med.* (Band 339), Nr. 12, Seite 799-805
66. Luft FC. (2000): Renal disease as a risk factor for cardiovascular disease. *Basic Res Cardiol.* (Band 95), Ergänzung 1, Seite I72-I76
67. Oh J., Wunsch R., Turzer M., Bahner M., Raggi P., Querfeld U., Mehls O., Schaefer F. (2002): Advanced coronary and carotid arteriopathy in young adults with childhood-onset chronic renal failure. *Circulation.* (Band 106), Nr. 1, Seite 100-105
68. Foley R.N., Parfrey P.S., Harnett J.D. (1995): Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int.* (Band 47), Nr. 1, Seite 186-192
69. Levin A., Singer J., Thompson C.R. (1996): Prevalent left ventricular hypertrophy in the predialysis population: Identifying opportunities for intervention. *Am J Kidney Dis.* (Band 27), Nr. 3, Seite 347-354

- 
70. Mailloux L.U., Levey A.S. (1998): Hypertension in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* (Band 32), Ergänzung 3, Seite 120-141
  71. Buckalew V.M.Jr., Berg R.L., Wang S.R., Porush J.G., Rauch S., Schulman G. (1996): Prevalence of hypertension in 1,795 subjects with chronic renal disease: The modification of diet in renal disease study baseline cohort. *Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Am J Kidney Dis.* (Band 28), Nr. 6, Seite 811-621
  72. Krop J.S., Coresh J., Chambless L.E., Shahar E., Watson R.L., Szklo M., Brancati F.L. (1999): A community-based study of explanatory factors for the excess risk for early renal function decline in blacks vs whites with diabetes: the Atherosclerosis Risk in Communities study. *Arch Intern Med.* (Band 159), Nr. 15, Seite 1777-1783
  73. Shulman N.B., Ford C.E., Hall W.D., Blaufox M.D., Simon D., Langford H.G., Schneider K.A. (1989): Prognostic value of serum creatinine and effect of treatment of hypertension on renal function. Results from the hypertension detection and follow-up program. *The Hypertension Detection and Follow-up Program Cooperative Group. Hypertension.* (Band 13), Ergänzung 5, Seite 180-193
  74. Jungers P., Massy Z.A., Khoa T.N., Fumeron C., Labrunie M., Lacour B., Descamps-Latscha B., Man N.K. (1997): Incidence and risk factors of atherosclerotic cardiovascular accidents in predialysis chronic renal failure patients: A prospective study. *Nephrol Dial Transplant.* (Band 12), Nr. 12, Seite 2597-2602
  75. Lazarus J.M., Bourgoignie J.J., Buckalew V.M.Jr., Milas N.C., Paranandi L., Peterson J.C., Porush J.G., Rauch S., Soucie J.M., Stollar C. (1997): Achievement and safety of a low blood pressure goal in chronic renal disease. *The Modification of Diet in Renal Disease Study Group. Hypertension.* (Band 29), Nr. 2, Seite 641-650
  76. Cheung A.K., Sarnak M.J., Yan G., Dwyer J.T., Heyka R.J., Rocco M.V., Teehan B.P., Levey A.S. (2000): The Hemodialysis (HEMO) Study. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* (Band 58), Nr. 1, Seite 353-362

77. Zager P.G., Nikolic J., Brown R.H., Campbell M.A., Hunt W.C., Peterson D., Van Stone J., Levey A., Meyer K.B., Klag M.J., Johnson H.K., Clark E., Sadler J.H., Teredesai P. (1998): "U" curve association of blood pressure and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* (Band 54), Nr. 2, Seite 561-569
78. Deckert T., Kofoed-Enevoldsen A., Norgaard K., Borch-Johnsen K., Feldt-Rasmussen B., Jensen T. (1992): Microalbuminuria: Implications for micro and macrovascular disease. *Diabetes Care.* (Band 15), Nr. 9, Seite 1181-1191
79. Jensen T., Borch-Johnsen K., Kofoed-Enevoldsen A., Deckert T. (1987): Coronary heart disease in young type 1 (insulin-dependent) diabetic patients with and without diabetic nephropathy: Incidence and risk factors. *Diabetologia.* (Band 30), Nr. 3, Seite 144-148
80. Mogensen C.E. (1984): Microalbuminuria predicts clinical proteinuria and early mortality in maturity-onset diabetes. *N Engl J Med.* (Band 310), Nr. 6, Seite 356-360
81. Borch-Johnsen K., Andersen P.K., Deckert T. (1985): The effect of proteinuria on relative mortality in type 1 (insulin-dependent) diabetes mellitus. *Diabetologia.* (Band 28), Nr. 8, Seite 590-596
82. Ritz E., Orth S.R. (1999): Nephropathy in patients with type 2 diabetes mellitus. *N Engl J Med.* (Band 341), Nr. 15, Seite 1127-1133
83. Manjunath G., Tighiouart H., Ibrahim H., MacLeod B., Salem D.N., Griffith J.L., Coresh J., Levey A.S., Sarnak M.J. (2003): Level of kidney function as a risk factor for atherosclerotic cardiovascular outcomes in the community. *J Am Coll Cardiol.* (Band 41), Nr. 1, Seite 47-55
84. Kimak E., Solski J., Janicka L., Zagojska M. (1999): Lipid and lipoprotein ratios as risk factors of atherosclerosis in patients with chronic renal insufficiency. *Int Urol Nephrol.* (Band 31), Nr. 2, Seite 263-267
85. O'Neal D., Lee P., Murphy B., Best J. (1996): Low-density lipoprotein particlesize distribution in end-stage renal disease treated with hemodialysis or peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis.* (Band 27), Nr. 1, Seite 84-91



86. Hovind P., Rossing P., Tarnow L., Smidt U.M., Parving H.H. (2001): Progression of diabetic nephropathy. *Kidney Int.* (Band 59), Nr. 2, Seite 702-709
87. Rubins H.B., Robins S.J., Collins D., Fye C.L., Anderson J.W., Elam M.B., Faas F.H., Linares E., Schaefer E.J., Schectman G., Wilt T.J., Wittes J. (1999): Gemfibrozil for the secondary prevention of coronary heart disease in men with low levels of high-density lipoprotein cholesterol. Veterans Affairs High-Density Lipoprotein Cholesterol Intervention Trial Study Group. *N Engl J Med.* (Band 341), Nr. 6, Seite 410-418
88. Foley R.N., Parfrey P.S., Sarnak M.J. (1998): Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol.* (Band 9), Ergänzung 12, Seite 16-23
89. Parfrey P.S., Foley R.N. (1999): The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol.* (Band 10), Nr. 7, Seite 1606-1615
90. Weiner D.E., Tighiouart H., Amin M., Stark P., Macleod B., Griffith J., Salem D., Levey A.S, Sarnak M.J. (2004): Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality: a pooled analysis of community-based studies. *J Am Soc Nephrol.* (Band 15), Nr. 5, Seite 1307-1315
91. Mann J.F., Gerstein H.C., Pogue J., Bosch J.P., Yusuf S. (2001): Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: The HOPE randomized trial. *Ann Intern Med.* (Band 134), Nr. 8, Seite 629-636
92. Anavekar N.S., McMurray J.J., Velazquez E.J., Solomon S.D., Kober L., Rouleau J.L., White H.D., Nordlander R., Maggioni A., Dickstein K., Zelenkofske S., Leimberger J.D., Califf R.M., Pfeffer M.A. (2004): Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. *N Engl J Med.* (Band 351), Nr. 13, Seite 1285-1295
93. Go A.S., Chertow G.M., Fan D., McCulloch C.E., Hsu C.Y. (2004): Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med.* (Band 351), Nr. 13, Seite 1296-305

- 
94. Culleton B.F., Larson M.G., Wilson P.W., Evans J.C., Parfrey P.S., Levy D. (1999): Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney Int.* (Band 56), Nr. 6, Seite 2214-2219
  95. Sechi L.A., Zingaro L., De Carli S., Sechi G., Catena C., Falletti E., Dell'Anna E., Bartoli E. (1998): Increased serum lipoprotein(a) levels in patients with early renal failure. *Ann Intern Med.* (Band 129), Nr. 6, Seite 457-461
  96. Levey A.S. (1990): Measurement of renal function in chronic renal disease. *Kidney Int.* (Band 38), Nr. 1, Seite 167-184
  97. Walser M. (1990): Progression of chronic renal failure in man. *Kidney Int.* (Band 37), Nr. 5, Seite 11195-1210
  98. Reis S., Olson M.B., Fried L E., Reeser V., Mankad S., Pepine C.J., Kerensky R., Merz C.N.B., Sharaf B.L., Sopko G., Rogers W.J., Holubkov R. (2002): Mild Renal Insufficiency Is Associated With Angiographic Coronary Artery Disease in Women. *Circulation.* (Band 105), Nr. 24, Seite 2826-2829
  99. Henry R.M., Kostense P.J., Bos G., Dekker J.M., Nijpels G., Heine R.J., Bouter L.M., Stehouwer C.D. (2002): Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: The Hoorn Study. *Kidney Int.* (Band 62), Nr. 4, Seite 1402-1407
  100. Muntner P., He J., Hamm L., Loria C., Whelton P.K. (2002): Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol.* (Band 13), Nr. 3, Seite 745-753
  101. Goodman W.G., Goldin J., Kuizon B.D., Yoon C., Gales B., Sider D., Wang Y., Chung J., Emerick A., Greaser L., Elashoff R.M., Salusky I.B. (2000): Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med.* (Band 342), Nr. 20, Seite 1478-1483
  102. Block G.A., Port F.K. (2000): Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: Recommendations for a change in management. *Am J Kidney Dis.* (Band 35), Nr. 6, Seite 1226-1237

103. Anderson J.L., Muhlestein J.B., Horne B.D., Carlquist J.F., Bair T.L., Madsen T.E., Pearson R.R. (2000): Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. *Circulation*. (Band 102), Nr. 11, Seite 1227-1232
104. Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Rifai N. (2000): C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med*. (Band 342), Nr. 12, Seite 836-843
105. Stenvinkel P., Heimbürger O., Paulter F., Diczfalusy U., Wang T., Berglund L., Jogestrand T. (1999): Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int*. (Band 55), Nr. 5, Seite 1899-1911
106. Wright R.S., Reeder G.S., Herzog C.A., Albright R.C., Williams B.A., Dvorak D.L., Miller W.L., Murphy J.G., Kopecky S.L., Jaffe A.S. (2002): Acute myocardial infarction and renal dysfunction: A high-risk combination. *Ann Intern Med*. (Band 137), Nr. 7, Seite 563-570
107. Shlipak M.G., Heidenreich P.A., Noguchi H., Chertow G.M., Browner W.S., McClellan M.B. (2002): Association of renal insufficiency with treatment and outcomes after myocardial infarction in elderly patients. *Ann Intern Med*. (Band 137), Nr. 7, Seite 555-562
108. Sarnak M.J., Levey A.S. (2000): Cardiovascular disease and chronic renal disease: A new paradigm. *Am J Kidney Dis*. (Band 35), Ergänzung 1, Seite 117-131
109. Moustapha A., Naso A., Nahlawi M., Gupta A., Arheart K.L., Jacobsen D.W., Robinson K., Dennis V.W. (1998): Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation*. (Band 97), Nr. 2, Seite 138-141
110. Attman P., Samuelsson O., Alaupovic P. (1993): Lipoprotein metabolism and renal failure. *Am J Kidney Dis*. (Band 21), Nr. 6, Seite 573-592

- 
111. Ducloux D., Motte G., Challier B., Gibey R., Chalopin J.M. (2000): Serum total homocysteine and cardiovascular disease in chronic stable renal transplant recipients. *J Am Soc Nephrol.* (Buch 11), Nr. 1, Seite 134-137
  112. Slatopolsky E., Brown A., Dusso A. (1999): Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* (Band 73), Ergänzung 73, Seite 14-19
  113. Braun J., Oldendorf M., Moshage W., Heidler R., Zeitler E., Luft F.C. (1996): Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* (Band 27), Nr. 3, Seite 394-401
  114. Ganesh S.K., Stack A.G., Levin N.W., Hulbert-Shearon T.E., Port F.K. (2001): Association of elevated serum PO(4), Ca x PO(4) product, and parathyroidhormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol.* (Buch 12), Nr. 10, Seite 2131-2138
  115. Coresh J., Astor B.C., Greene T., Eknoyan G., Levey A.S. (2003): Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis.* (Band 41), Nr. 1, Seite 1-12
  116. Hsu C.Y., Lin F., Vittinghoff E., Shlipak M.G. (2003): Racial differences in the progression from chronic renal insufficiency to end-stage renal disease in the United States. *J Am Soc Nephrol.* (Band 14), Nr. 11, Seite 2902-2917
  117. Rahman M., Douglas J.G., Wright J.T.Jr. (1997): Pathophysiology and treatment implications of hypertension in the African-American population. *Endocrinol Metab Clin North Am.* (Band 26), Nr. 1, Seite 125-144
  118. Lewis J., Agodoa L., Cheek D., Greene T., Middleton J., O'Connor D., Ojo A., Phillips R., Sika M., Wright J.Jr. (2001): African-American Study of Hypertension and Kidney Disease. Comparison of cross-sectional renal function measurements in African Americans with hypertensive nephrosclerosis and of primary formulas to estimate glomerular filtration rate. *Am J Kidney Dis.* (Band 38), Nr. 4, Seite 744-753

119. Keane W.F., Eknoyan G. (1999): Proteinuria, albuminuria, risk, assessment, detection, elimination (PARADE): A position paper of the National Kidney Foundation. *Am J Kidney Dis.* (Band 33), Nr. 5, Seite 1004-1010
120. Bianchi S., Bigazzi R., Campese V.M. (1999): Microalbuminuria in essential hypertension: Significance, pathophysiology, and therapeutic implications. *Am J Kidney Dis.* (Band 34), Nr. 6, Seite 973-995
121. Sarnak M.J., Coronado B.E., Greene T., Wang S.R., Kusek J.W., Beck G.J., Levey A.S. (2002): Cardiovascular disease risk factors in chronic renal insufficiency. *Clin Nephrol.* (Band 57), Nr. 5, Seite 327-335
122. Kopple J.D., Greene T., Chumlea W.C., Hollinger D., Maroni B.J., Merrill D., Scherch L.K., Schulman G., Wang S.R., Zimmer G.S. (2000): Relationship between nutritional status and the glomerular filtration rate: Results from the MDRD study. *Kidney Int.* (Band 57), Nr. 4, Seite 1688-1703
123. Gerstein H.C., Mann J.F., Yi Q., Zinman B., Dinneen S.F., Hoogwerf B., Halle J.P., Young J., Rashkow A., Joyce C., Nawaz S., Yusuf S. (2001): Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *J Am Med Ass.* (Band 286); Nr 4, Seite 421-426
124. Agewall S., Wikstrand J., Ljungman S., Fagerberg B. (1997): Usefulness of microalbuminuria in predicting cardiovascular mortality in treated hypertensive men with and without diabetes mellitus. Risk Factor Intervention Study Group. *Am J Cardiol.* (Band 80), Nr. 2, Seite 164-169
125. Levin A., Thompson C.R., Ethier J., Carlisle E.J., Tobe S., Mendelssohn D., Burgess E., Jindal K., Barrett B., Singer J., Djurdjev O. (1999): Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin. *Am J Kidney Dis.* (Band 34), Nr. 1, Seite 125-134
126. Shlipak M.G., Fried L.F., Crump C., Bleyer A.J., Manolio T.A., Tracy R.P., Furberg C.D., Psaty B.M. (2003): Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation.* (Band 107), Nr. 1, Seite 87-92

- 
127. Zimmermann J., Herrlinger S., Pruy A., Metzger T., Wanner C. (1999): Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* (Band 55), Nr. 2, Seite 648-658
  128. Ix J.H., Shlipak M.G., Liu H.H., Schiller N.B., Whooley M.A. (2003): Association between renal insufficiency and inducible ischemia in patients with coronary artery disease: the heart and soul study. *J Am Soc Nephrol.* (Band 14), Nr. 12, Seite 3233-3238
  129. Oberg B.P., McMenamin E., Lucas F.L., McMonagle E., Morrow J., Ikizler T.A., Himmelfarb J. (2004): Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int.* (Band 65), Nr. 3, Seite 1009-1016
  130. Seino Y., Ikeda U., Ikeda M., Yamamoto K., Misawa Y., Hasegawa T., Kano S., Shimada K. (1994): Interleukin-6 gene transcripts are expressed in human atherosclerotic lesions. *Cytokine.* (Band 6), Nr. 1, Seite 87-91
  131. Ridker P.M., Rifai N., Stampfer M.J., Hennekens C.H. (2000): Plasma concentration of interleukin-6 and the risk of future myocardial infarction among apparently healthy men. *Circulation.* (Band 101), Nr. 15, Seite 1767-1772
  132. Hsu C.Y., McCulloch C.E., Curhan G.C. (2002): Epidemiology of anemia associated with chronic renal insufficiency among adults in the United States: results from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *J Am Soc Nephrol.* (Band), Nr. 2, Seite 504-510
  133. Radtke H.W., Claussner A., Erbes P.M., Scheuermann E.H., Schoeppe W., Koch K.M. (1979): Serum erythropoietin concentration in chronic renal failure: Relationship to degree of anemia and excretory renal function. *Blood.* (Band 54), Nr. 4, Seite 877-884
  134. Kuriyama S., Tomonari H., Yoshida H., Hashimoto T., Kawaguchi Y., Sakai O. (1997): Reversal of anemia by erythropoietin therapy retards the progression of chronic renal failure, especially in nondiabetic patients. *Nephron.* (Band 77), Nr. 2, Seite 176-185

- 
135. Levin A., Foley R.N. (2000): Cardiovascular disease in chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis.* (Band 36), Ergänzung 3, Seite 24-30
  136. Kausz A.T., Obrador G.T., Pereira B.J. (2000): Anemia management in patients with chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis.* (Band 36), Ergänzung 3, Seite 39-51
  137. Apple F.S., Murakami M.M., Pearce L.A., Herzog C.A. (2004): Multi-Biomarker Risk Stratification of N-Terminal Pro-B-Type Natriuretic Peptide, High-Sensitivity C-Reactive Protein, and Cardiac Troponin T and I in End-Stage Renal Disease for All-Cause Death. *Clin Chem.* (Band 50), Nr. 12, Seite 2279-2285
  138. Cameron S.J., Green G.B. (2004): Cardiac biomarkers in renal disease: the fog is slowly lifting. *Clin Chem.* (Band 50), Nr. 12, Seite 2233-2235
  139. deFilippi C., Wasserman S., Rosanio S., Tiblier E., Sperger H., Tocchi M., Christenson R., Uretsky B., Smiley M., Gold J., Muniz H., Badalamenti J. Herzog C. Henrich W. (2003): Cardiac troponin T and C-reactive protein for predicting prognosis, coronary atherosclerosis, and cardiomyopathy in patients undergoing long-term hemodialysis. *J Am Med Ass.* (Band 290), Nr. 3, 353-359
  140. Stenvinkel P., Wanner C., Metzger T., Heimbürger O., Mallamaci F., Tripepi G., Malatino L., Zoccali C. (2002): Inflammation and outcome in end-stage renal failure. *Kidney Int.* (Band 62), Nr. 5, Seite 1791-1798
  141. Lindahl B., Toss H., Siegbahn A., Venge P., Wallentin L. (2000): Markers of myocardial damage and inflammation in relation to long-term mortality in unstable coronary artery disease. *N Engl J Med.* (Band 343), Nr. 16, Seite 1139-1147
  142. Dierkes J., Domrose U., Westphal S., Ambrosch A., Bosselmann H.P., Neumann K.H., Luley C. (2000): Cardiac troponin T predicts mortality in patients with end stage renal disease. *Circulation.* (Band 102), Nr. 16, Seite 1964-1969
  143. Apple F.S., Murakami M.M., Pearce L.A., Herzog C.A. (2002): Predictive value of cardiac troponin I and T for subsequent death in end-stagerenal disease. *Circulation.* (Band 106), Nr. 23, Seite 2941-2945

- 
144. Leowattana W., Ong-Ajyooth L., Taruangsri P., Pokum S. (2003): Circulating N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac troponin T in chronic dialysis patients. *J Med Assoc Thai.* (Band 86), Ergänzung 1, Seite 52-58
  145. Jaffe A.S., Ravkilde J., Roberts R., Naslund U., Apple F.S., Galvani M., Katus H. (2000): It's time for a change to a troponin standard. *Circulation.* (Band 102), Nr. 11, Seite 1216-1220
  146. Alpert J.S., Thygesen K., Antman E., Bassand J.P. (2000): Myocardial infarction redefined--a consensus document of The Joint European Society of Cardiology/American College of Cardiology Committee for the redefinition of myocardial infarction. *J Am Coll Cardiol.* (Band 36), Nr. 3, Seite 959-969
  147. Ottani F., Galvani M., Nicolini F.A., Ferrini D., Pozzati A., Di Pasquale G., Jaffe A.S. (2000): Elevated cardiac troponin levels predict the risk of adverse outcome in patients with acute coronary syndromes. *Am Heart J.* (Band 140), Nr. 6, Seite 917-927
  148. Bhayana V., Gougoulias T., Cohoe S., Henderson A.R. (1995): Discordance between results for serum troponin T and I in renal disease. *Clin Chem.* (Band 41), Nr. 2, Seite 312-317
  149. Iliou M.C., Furmeron C., Benoit M.O., Tuppin P., Courvoisier C.L., Calonge V.M., Moatti N., Buisson C., Jacquot C. (2001): Factors associated with increased serum levels of cardiac troponins T and I in chronic hemodialysis patients: chronic hemodialysis and new cardiac markers evaluation (CHANCE) study. *Nephrol Dial Transplant.* (Band 16), Nr. 7, Seite 1452-1458
  150. Kiuchi K., Nejima J., Takano T., Ohta M., Hashimoto H. (2001): Increased serum concentrations of advanced glycation end products: a marker of coronary artery disease in type 2 diabetes patients. *Heart.* (Band 85), Nr. 1, Seite 87-91
  151. Wu A.H., Feng Y.J., Roper L., Herbert K., Schweizer R. (1997): Cardiac troponins T and I before and after renal transplantation. *Clin Chem.* (Band 43), Nr. 2, Seite 411-412



- 
152. Ooi D.S., Zimmerman D., Graham J., Wells G.A. (2001): Cardiac troponin T predicts long-term outcomes in hemodialysis patients. *Clin Chem.* (Band 47), Nr. 3, Seite 412-417
  153. Ricchiuti V., Voss E.M., Ney A., Odland M., Anderson P.A., Apple F.S. (1998): Cardiac troponin T isoforms expressed in renal diseased skeletal muscle will not cause false-positive results by the second generation cardiac troponin T assay by Boehringer Mannheim. *Clin Chem.* (Band 44), Nr. 9, Seite 1919-1924
  154. Diris J.H., Hackeng C.M., Kooman J.P., Pinto Y.M., Hermens W.T., van Dieijen-Visser M.P. (2004): Impaired renal clearance explains elevated troponin T fragments in hemodialysis patients. *Circulation.* (Band 109), Nr. 1, Seite 23-25
  155. Giannitsis E., Katus H.A. (2004): Troponin T release in hemodialysis patients. *Circulation.* (Band 110), Nr. 3, Seite e25-e26
  156. Haller C., Zehelein J., Remppis A., Muller-Bardorff M., Katus H.A. (1998): Cardiac troponin T in patients with end-stage renal disease: absence of expression in truncal skeletal muscle. *Clin Chem.* (Band 44), Nr. 5, Seite 930-938
  157. Möckel M., Schindler R., Knorr L., Müller C., Heller Jr G., Störk T.V., Frei U., (1999): Prognostic value of cardiac troponin T and I elevations in renal disease patients without acute coronary syndromes: a 9-month outcome analysis. *Nephrol Dial Transplant.* (Band 14), Nr. 6, Seite 1489-1495
  158. Jessup M., Brozena S. (2003): Heart failure. *N Engl J Med.* (Band 348), Nr. 20, Seite 2007-2018
  159. Sabatine M.S., Morrow D.A., de Lemos J.A., Gibson C.M., Murphy S.A., Rifai N., McCabe C., Antman E.M., Cannon C.P., Braunwald E. (2002): Multimarker approach to risk stratification in non-ST-elevation acute coronary syndromes: simultaneous assessment of troponin I, C-reactive protein, and B-type natriuretic peptide. *Circulation.* (Band 105), Nr. 15, Seite 1760-1763
  160. Levin E.R., Gardner D.G., Samson W.K. (1998): Natriuretic peptides. *N Engl J Med.* (Band 339), Nr. 5, Seite 321-328

- 
161. Clerico A., Caprioli R., Del Ry S., Giannessi D. (2001): Clinical relevance of cardiac natriuretic peptides measured by means of competitive and non-competitive immunoassay methods in patients with renal failure on chronic hemodialysis. *J Endocrinol Invest.* (Band 24), Nr. 1, Seite 24-30
  162. McCullough P.A., Sandberg K.R. (2003): B-Type natriuretic peptides and renal disease. *Heart Fail Rev.* (Band 8), Nr. 4, Seite 355-358
  163. Jernberg T., Lindahl B., Siegbahn A., Andren B., Frostfeldt G., Lagerqvist B., Stridsberg M., Venge P., Wallentin L. (2003): N-Terminal pro-brain natriuretic peptide in relation to inflammation, myocardial necrosis, and the effect of an invasive strategy in unstable coronary artery disease. *J Am Coll Cardiol* (Band 42), Nr. 11, Seite 1909-1916
  164. Möckel M., Heller G.Jr., Müller C., Klefisch F.R., Riehle M., Searle J., Frei U., Störk T. (2000): C-reactive protein as an independent marker of prognosis in acute coronary syndrome: comparison with troponin T. *Z.Kardiol.* (Band 89), Nr. 8, Seite 658-666
  165. Heeschen C., Hamm C.W., Bruemmer J., Simoons M.L. (2000): Predictive value of C-reactive protein and troponin T in patients with unstable angina: a comparative analysis. CAPTURE Investigators. Chimeric c7E3 AntiPlatelet Therapy in Unstable angina Refractory to standard treatment trial. *J Am Coll Cardiol.* (Band 35), Nr. 6, Seite 1535-1542
  166. McCullough P.A., Nowak R.M., Foreback C., Tokarski G., Tomlanovich M.C., Khoury N.E., Weaver W.D., Sandberg K.R., McCord J. (2002): Performance of multiple cardiac biomarkers measured in the emergency department in patients with chronic kidney disease and chest pain. *Acad Emerg Med.* (Band 9), Nr. 12, Seite 1389-1396
  167. Savonitto S., Granger C.B., Ardissino D., Gardner L., Cavallini C., Galvani M., Ottani F., White H.D., Armstrong P.W., Ohman E.M., Pieper K.S., Califf R.M., Topol, E.J. (2002): The prognostic value of creatine kinase elevations extends across the whole spectrum of acute coronary syndromes, *J Am Coll Cardiol.* (Band 39), Nr. 1. Seite 22-29

- 
168. Chauveau P., Chadeaux B., Coude M., Aupetit J., Hannedouche T., Kamoun P., Jungers P. (1993): Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidney Int Suppl.* (Band 41), Seite 72-77.
169. U.S. Renal Data System (1992): Annual Report IV. Comorbid conditions and correlations with mortality risk among 3,399 incident hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis.* (Band 20), Ergänzung 2, Seite 32-38
170. Al Suwaidi J., Reddan D.N., Williams K., Pieper K.S., Harrington R.A., Califf R.M., Granger C.B., Ohman E.M., Holmes D.R.Jr. (2002): Prognostic implications of abnormalities in renal function in patients with acute coronary. *Circulation.* (Band 106), Nr. 8, Seite 974-980
171. Fried L.F., Shlipak M.G., Crump C., Bleyer A.J., Gottdiener J.S., Kronmal R.A., Kuller L.H., Newman A.B. (2003): Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and mortality in elderly individuals. *J Am Coll Cardiol.* (Band 41), Nr. 8, Seite 1364-1372
172. Le Feuvre C., Borentain M., Beygui F., Helft G., Batisse J.P., Metzger J.P. (2003): Comparison of short- and long-term outcomes of coronary angioplasty in patients with and without diabetes mellitus and with and without hemodialysis. *Am J Cardiol.* (Band 92), Nr. 6, Seite 721-725
173. Wolfe R.A., Port F.K., Webb R.L., Bloembergen W.E., Hirth R., Young E.W., Ojo A.O., Strawderman R.L., Parekh R., Stack A., Tedeschi P.J., Hulbert-Shearon T., Ashby V.B., Callard S., Hanson J., Jain A., Meyers-Purkiss A., Roys E., Brown P., Wheeler J.R., Jones C.A., Greer J.W., Agodoa L.Y. (1998): Excerpts from the United States Renal Data System, Annual data report: V. Patient mortality and survival. *Am J Kidney Dis.* (Band 32), Ergänzung 1, Seite 269-280
174. Fossati T., Colombo M., Castiglioni C., Abbiati G. (1994): Determination of plasma choline by high-performance liquid chromatography with a postcolumn enzyme reactor and electrochemical detection. *J Chromatogr B Biomed Appl.* (Band 656), Nr. 1, Seite 59-64
175. Nicholson J.K., Foxall P.J., Spraul M., Farrant R.D., Lindon J.C. (1995): 750 MHz <sup>1</sup>H and <sup>1</sup>H–<sup>13</sup>C NMR spectroscopy of human blood plasma. *Anal Chem.* (Band 67), Nr. 5, Seite 793-811

- 
176. Hung J., Lam J.Y., Lacoste L., Letchacovski G. (1995): Cigarette smoking acutely increases platelet thrombus formation in patients with coronary artery disease taking aspirin. *Circulation*. (Band 92), Nr. 9, Seite 2432-2436
177. Hioki H., Aoki N., Kawano K., Homori M., Hasumura Y., Yasumura T., Maki A., Yoshino H., Yanagisawa A., Ishikawa K. (2001): Acute effects of cigarette smoking on platelet-dependent thrombin generation. *Eur Heart J*. (Band 22), Nr. 1, Seite 56-61
178. Gasser J.A., Betteridge D.J. (1990): Lipids and thrombosis. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*. (Band 4), Nr. 4, Seite 923-938
179. Aviram M., Brook J.G. (1990): Platelet activation by plasma lipoproteins. *Prog Cardiovasc Dis*. (Band 30), Nr. 1, Seite 61-72
180. McCullough P.A., Nowak R.M., Foreback C., Tokarski G., Tomlanovich M.C., Khoury N., Weaver W.D., Sandberg K.R., McCord J. (2002): Emergency evaluation of chest pain in patients with advanced kidney disease. *Arch Intern Med*. (Band 162), Nr. 21, Seite 2464-2468
181. Timoteo A.T., Fiarresga A., Feliciano J., Pelicano N., Ferreira L., Ferreira R., Serra J., Oliveira J., Quininha J. (2005): The prognostic impact of renal failure in patients with ST-segment elevation acute myocardial infarction. *Kardiol Pol*. (Band 63), Nr. 4, Seite 373-378
182. Morris A.J., Frohman M.A., Engebrecht J. (1997): Measurement of phospholipase D activity. *Anal Biochem*. (Band 252), Nr. 1, Seite 1-9
183. Gomez-Munoz A., O'Brien L., Hundal R., Steinbrecher U.P. (1999): Lysophosphatidylcholine stimulates phospholipase D activity in mouse peritonealmacrophages. *J Lipid Res*. (Band 40), Nr. 6, Seite 988-993
184. Rubenstein M.H., Harrell L.C., Sheynberg B.V., Schunkert H., Bazari H., Palacios I.F. (2000): Are patients with renal failure good candidates for percutaneous coronary revascularization in the new device era? *Circulation*. (Band 102), Nr. 24, Seite 2966-2972

- 
185. Schoebel F.C., Gradaus F., Ivens K., Heering P., Jax T.W., Grabensee B., Strauer B.E., Leschke M. (1997): Restenosis after elective coronary balloon angioplasty in patients with end stage renal disease: A case-control study using quantitative coronary angiography. *Heart*. (Band 78), Nr. 4, Seite 337-342

## **8 DANKSAGUNG**

Ich danke Herrn Priv.-Doz. Dr. med. M. Möckel für die freundliche Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Durchführung der verschiedenen Abschnitte der Arbeit. Mein besonderer Dank gilt meinem Betreuer Herrn Dr. med. O. Danne für die gewährte Hilfestellung und konstruktive Kritik bei der Erstellung dieser Arbeit sowie Herrn Dr. rer. nat. C. Lüders für die Einarbeitung in die vielschichtige Materie der Hochleistungsflüssigchromatographie Massenspektrometrie und Unterstützung während des experimentellen Teils. Zuletzt gilt mein Dank allen namentlich hier Ungenannten, die diese Arbeit Wirklichkeit haben werden lassen.

## **9 LEBENSLAUF**

„Mein Lebenslauf wird aus Datenschutzgründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht mit veröffentlicht.“

## 10 SELBSTSTÄNDIGKEITSERKLÄRUNG

Ich, Holger Conrad, geboren am 12.07.1974 in Schlema (Sachsen), erkläre ehrenwörtlich, dass die im Fachbereich Humanmedizin zur Promotionsprüfung eingereichte Dissertation mit dem Titel

Untersuchungen zur Prädiktion kardiovaskulärer Ereignisse bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und akuten kardiovaskulären Erkrankungen durch Messung von Vollblut-Cholin mittels Hochleistungsflüssigchromatographie Massenspektrometrie

von mir selbst ohne unzulässige Hilfe Dritter verfasst worden ist. Die Dissertation ist auch in Teilen keine Kopie anderer Arbeiten und keine anderen als die in der Dissertation angeführten Hilfsmittel oder Quellen wurden benutzt. Ich habe bisher weder an einer in- oder ausländischen medizinischen Fakultät ein Gesuch um Zulassung zur Promotion eingereicht, noch die jetzige Arbeit als Dissertation vorgelegt.

Berlin, den 19. September 2007