

Diplomarbeit

**Cholesterinbiosynthese und -aufnahme bei Patient*innen
mit terminaler Niereninsuffizienz und hohem Risiko für
Herz-Kreislaferkrankungen**

eingereicht von

Samir Sadiku, MSc, BSc

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt am

Klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik

unter der Anleitung von Betreuer*innen

Assoz. Prof. Dr. rer. nat. Hubert Scharnagl

Priv. Doz. Mag. Dr. rer. nat. Günter Fauler

Graz, am 05. 11. 2021

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, 05. 11. 2021

Samir Sadiku eh.

Vorwort

Wie wirkt sich die Cholesterinbiosynthese bzw. die Cholesterinabsorption auf die Mortalität von Dialysepatient*innen aus? Welche Risikofaktoren sind mit der Cholesterinbiosynthese bzw. Cholesterinabsorption assoziiert und welche Parameter können für die Messung der Cholesterinbiosynthese bzw. Cholesterinabsorption verwendet werden?

Mit all diesen Fragen musste ich mich vor Beginn meiner Arbeit an der AURORA Studie auseinandersetzen. Die richtige Ernährung spielt in vielerlei Hinsicht eine wichtige Rolle bei Herz-Kreislauf-Erkrankungen und gerade die zu hohe Cholesterinkonzentration im Blutplasma ist einer der häufigsten Gründe für diese Pathologien. Gerade bei der Cholesterinkonzentration im Blutplasma merkt man schnell, dass sich ein sehr komplexes Thema eröffnet, weil viele biochemische Schritte des Fettstoffwechsels noch nicht vollständig geklärt sind. Wie so oft in der Medizin besteht die Ätiologie aus mehreren Faktoren, wodurch mehrere Aspekte berücksichtigt und behandelt werden müssen. Daher wurden viele Bücher und wissenschaftliche Publikationen aus wissenschaftlichen Journalen herangezogen, um die vorliegende Forschungsarbeit für die AURORA-Studie besser nachvollziehen zu können. Besonders die Herausforderungen aus mehreren Fachrichtungen der Naturwissenschaft haben in mir den Ehrgeiz geweckt, mir mehr und mehr Wissen anzueignen, um auch außerhalb des Rahmens denken zu können. Die Forschungsarbeit für die AURORA Studie hat mir viel Spaß bereitet und ich hoffe, dass ich an zukünftigen Forschungen der Medizinischen Universität Graz wieder mitwirken darf.

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich nochmal herzlich bei Assoz. Prof. Dr. Hubert Scharnagl und bei PD Dr. Tatjana Stojakovic für die Teilnahmemöglichkeit an der AURORA Studie bedanken.

Ein besonderer Dank gebührt an dem gesamten Laborteam, das mir das gesamte Labor und die zu verwendeten Geräte genau erklärten, und auch für die großartige Zusammenarbeit.

Mein Dank gilt auch ganz besonders PD Dr. Günter Fauler, weil er mir das Prinzip der Gaschromatographie und der Massenspektrometrie genau erklärte und mir bei Fehlern immer mit Rat und Tat zur Seite stand.

Zu guter Letzt möchte ich mich auch bei Dr. Gerald Rechberger dafür bedanken, dass er sich für mich immer Zeit genommen hat, um meine Arbeit auf mögliche Fehler zu korrigieren.

Inhaltsverzeichnis

Glossar und Abkürzungen.....	VI
Abbildungsquellenverzeichnis.....	IX
Tabellenquellenverzeichnis.....	X
Zusammenfassung.....	XI
Abstract.....	XII
1 Einleitung.....	1
1.1 Fettstoffwechsel	3
1.1.1 Cholesterinbiosynthese	3
1.1.2 Cholesterinabsorption.....	5
1.1.3 Fettstoffwechselstörungen.....	6
1.1.3.1 Hypercholesterinämie	6
1.1.3.2 Sitosterolämie	9
1.2 Kardioresnales/Renokardiales Syndrom	11
1.2.1 Nierenersatztherapie	13
1.3 AURORA Studie.....	15
2 Material und Methoden	17
2.1 Plasmaproben	17
2.2 Gaschromatographie	20
2.3 Massenspektrometer	22
2.4 Statistische Vorgehensweise	25
2.5 Verwendete statistisches Modelle der AURORA Studie.....	26
3 Ergebnisse.....	28
3.1 Rosuvastatin-Gruppe und Placebo-Gruppe.....	28
3.2 Assoziation der Risikofaktoren mit kardiovaskulären Erkrankungen.....	30
3.3 Kardiovaskuläre Mortalität	34
3.4 Gesamtmortalität.....	37
3.5 Phytosterole	40
3.6 Prognose.....	41

4	Diskussion	45
5	Schlussfolgerung	49
I.	Literaturverzeichnis	50
II.	Anhang.....	62

Glossar und Abkürzungen

ABC-Transporter	ATP-Bindungscassetten Transporter
ADP	Adenosindiphosphat
AMP	Adenosinmonophosphat
ANOVA	<i>Analysis of variance</i> (Varianzanalyse)
ApoE	Apolipoprotein E
ATP	Adenosintriphosphat
AURORA	<i>A Study to Evaluate the Use of Rosuvastatin in Subjects on Regular Hemodialysis: An Assessment of Survival and Cardiovascular Events</i>
BNP	B-typ natriuretische Peptid
BHT	<i>Butylated Hydroxytoluene</i> (Butylhydroxytoluol)
BSA	<i>Bovine Serum Albumin</i> (Rinderserumalbumin)
CI	Chemische Ionisation
CO ₂	Kohlenstoffdioxid
CoA	Coenzym A
EI	Elektronen Ionisation
EK	Eichkurve
ESI	Elektrospray-Ionisation
GC	Gaschromatographie
GC-MS	Gaschromatograph und Massenspektrometer
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
H ₂ O	Wasser

HR	Hazard Ratios
HDL	<i>High-density lipoprotein</i> (Lipoprotein mit hoher Dichte)
HMG	Hydroxymethylglutaryl
HT5	Poly (5% diphenyl /95% dimethyl siloxane)
IDL	<i>Intermediate-density Lipoprotein</i> (Lipoprotein mit intermediärer Dichte)
KOH	Kaliumlauge
LDL	<i>Low-density Lipoprotein</i> (Lipoprotein mit niederer Dichte)
m/z	Masse-zu-Ladungs-Verhältnisse
MS	Massenspektrometer
MSTFA	(N-Methyl-N-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid)
NADP ⁺	Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NADPH	Reduziertes Nicotinsäureamid-Adenin-Dinukleotid-Phosphat
NPC1L1	<i>Niemann-Pick C1-Like 1</i>
PCSK9	Proteinkonvertase Subtilisin Kexin Typ 9
QC	Qualitätskontrolle
Rpm	<i>Revolutions per minute</i> (Umdrehungen pro Minute)
SIM	<i>Selected ion monitoring</i> (Ausgewählte Ionenüberwachung)
SEV	Sekundärelektronenvervielfacher
TMCS	Trimethylsilylchlorid
TMS	Tetramethylsilan
TOF	<i>Time of flight</i> (Flugzeit)
vLDL	<i>Very low density lipoprotein</i> (Lipoprotein mit sehr niederer Dichte)

7-DHC

7-Dehydrocholesterol

Abbildungsquellenverzeichnis

Abbildung 1: selbst erstellt.

Abbildung 2: <https://www.blutwert.net/blutfette/lipoprotein.php> (10. 08. 2019)

Abbildung 3: <https://www.pinterest.de/pin/588001295068631903/> (31. 12. 2017)

Abbildung 4: <https://www.mdpi.com/2072-6643/4/8/904/htm> (10. 08. 2019)

Abbildung 5: <https://de.wikipedia.org/wiki/Dialyse> (10. 09. 2019)

Abbildung 6: <https://de.wikipedia.org/wiki/Gaschromatographie> (10. 09. 2019)

Abbildung 7: <https://dgms.eu/de/ueber-uns-dgms/das-ist-massenspektrometrie/massenspektrometer/> (10. 09. 2019)

Tabellenquellenverzeichnis

Tabelle 1: selbst erstellt.

Tabelle 2: selbst erstellt.

Tabelle 3: selbst erstellt.

Tabelle 4: selbst erstellt.

Tabelle 5: selbst erstellt.

Tabelle 6: selbst erstellt.

Tabelle 7: selbst erstellt.

Tabelle 8: selbst erstellt.

Tabelle 9: selbst erstellt.

Tabelle 10: selbst erstellt.

Tabelle 11: selbst erstellt.

Zusammenfassung

Die pathologische Veränderung der Cholesterinabsorption und Cholesterinbiosynthese führt im großen Maße zur Verschlechterung der Prognose von Herz-Kreislauf-Erkrankungen und zur Erhöhung der Mortalität von Dialysepatient*innen, weil jene ebenfalls ein erhöhtes Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen aufweisen.

Aus diesem Grund wurden für die AURORA (*A Study to Evaluate the Use of Rosuvastatin in Subjects on Regular Hemodialysis: An Assessment of Survival and Cardiovascular Events*) Studie die Plasmakonzentrationen von Campesterol, Cholestanol, Lathosterol, und Sitosterol von 2347 Dialysepatient*innen mit einem GC-MS (= Gaschromatographie und Massenspektrometrie) Gerät gemessen. Unter anderem sollten eventuelle Relationen zwischen der Cholesterinabsorption und Cholesterinbiosynthese, wichtige Risikofaktoren und der Schweregrad der koronaren Herzerkrankung, der kardiovaskulären Mortalität und Gesamtmortalität untersucht werden. In der Studie wurden alle Dialysepatient*innen in eine Placebo-Gruppe mit 1164 Teilnehmer*innen und in eine Rosuvastatin-Gruppe mit 1181 Teilnehmer*innen aufgeteilt, um in einem Zeitraum von 3,5 Jahren zu untersuchen, ob die Behandlung mit Rosuvastatin zur Senkung von kardiovaskulären Erkrankungen und folglich der Mortalität geführt hat oder nicht.

Berechnet wurden auch das Cholestanol/Cholesterin *ratio*, weil dieses Verhältnis die Veränderung der Cholesterinabsorption am empfindlichsten widerspiegelt und das Lathosterol/Cholesterin *ratio*, welches hingegen wichtige Hinweise auf die Veränderung der Cholesterinbiosynthese gibt.

Zusammengefasst hat sich gezeigt, dass eine hohe Cholestanol/Cholesterin *ratio* mit einer hohen kardiovaskulären Mortalität und Gesamtmortalität assoziiert ist, während bei einer hohen Lathosterol/Cholesterin *ratio* die kardiovaskuläre Mortalität und die Gesamtmortalität erniedrig waren. Die Ergebnisse von Campesterol und Sitosterol waren alle nicht im signifikanten Bereich. Die Rosuvastatin-Gruppe und die Placebo-Gruppe zeigten nach 3,5 Jahren Behandlung keinen signifikanten Unterschied.

Abstract

The pathological change in cholesterol absorption and cholesterol biosynthesis leads to an increase of the risk for cardiovascular diseases and mortality of dialysis patients because these patients already are at a high risk for cardiovascular diseases.

For this reason, plasma concentrations of campesterol, cholestanol, lathosterol, and sitosterol of 2347 dialysis patients were measured with a GC-MS (gas chromatography and mass spectrometry) device for the AURORA (A Study to Evaluate the Use of Rosuvastatin in Subjects on Regular Hemodialysis: An Assessment of Survival and Cardiovascular Events) study. The main objective of the study is to identify factors related to the severity of coronary heart disease, cardiovascular mortality, and total mortality in 2347 dialysis patients. The study is designed to determine possible relationships between the cholesterol absorption and the cholesterol biosynthesis and important risk factors, especially those that may be modifiable, treatable, and protective. 2345 patients were randomly assigned to treatment groups (1181 rosuvastatin, 1164 placebo) in this cohort study over a period of 3.5 years to investigate if the treatment with rosuvastatin could reduce cardiovascular diseases and mortality.

The cholestanol/cholesterol ratio was also calculated because this ratio reflects the change of cholesterol absorption most sensitively, and the lathosterol/cholesterol ratio, which reflects important information on the change of cholesterol biosynthesis. The results show no significant difference after 3.5 years of treatment in both groups. A high cholestanol/cholesterol ratio is associated with a higher cardiovascular mortality and total mortality, while a high lathosterol/cholesterol ratio is associated with a lower cardiovascular mortality and total mortality.

1 Einleitung

Die AURORA Studie beschäftigt sich mit Risikofaktoren und mit der richtigen Therapie bzw. Vorbeugung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Dialysepatient*innen. Das Hauptziel der AURORA Studie war zu untersuchen, ob die Behandlung mit dem Lipidsenker Rosuvastatin das kardiovaskuläre Risiko und die Mortalität von Dialysepatient*innen reduziert. [1]

Es ist schon länger bekannt, dass Dialysepatient*innen ein stark erhöhtes Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen haben. Eine Statintherapie kann die Prognose von Herz-Kreislauf-Erkrankungen verbessern und auch die Mortalität verringern, auch für Dialysepatient*innen. Allerdings haben Statine nur einen Einfluss auf die Cholesterinbiosynthese und nicht auf die Cholesterinabsorption. Weshalb sich die Frage ergibt, welche Assoziationen zwischen der Cholesterinbiosynthese und der Cholesterinabsorption mit der Mortalität bei diesen Patient*innen bestehen? [1, 2]

Für diese Diplomarbeit wurden 2347 Plasmaproben von Dialysepatient*innen kaukasischer Herkunft analysiert. Es wurden auch folgende Risikofaktoren für die statistische Auswertung mitberücksichtigt: *Male gender, age, body mass index (kg/m²), type 2 diabetes yes/no, hypertension yes/no, total cholesterol (mg/dl), LDL cholesterol (mg/dl), HDL cholesterol (mg/dl), triglycerides (mg/dl), CRP (mg/l), NTproBNP, troponin I and galectin-3.* [1, 2]

Das C-reaktive Peptid (CRP) dient als Biomarker für akute Entzündungen. Der CRP-Wert kann auch als Prognosefaktor verwendet werden, weil dieser bei Abklingen einer Entzündung schnell abfällt. Vereinfacht gesagt, kann der CRP-Wert als Biomarker für entzündliche/nekrotische Vorgänge, für die Diagnostik oder für Verlaufskontrollen bei Behandlungen von Infektionen und Entzündungen herangezogen werden. Im hochsensitiven Messbereich wird der CRP-Wert auch als hsCRP bezeichnet und als Risikomarker für kardiovaskuläre Erkrankungen angewendet. [55; 56]

BNP dient als diagnostischer Parameter für den linksventrikulären Auswurf. Demzufolge korreliert der BNP-Wert mit der Schwere einer Herzinsuffizienz. Oft ist der BNP-Wert auch ein wichtiger Indikator einer bevorstehenden Herzinsuffizienz für Patient*innen mit bestehender Niereninsuffizienz. [56]

Die Troponin I Konzentration ist einer der bedeutendsten Parameter für die Diagnose eines Myokardinfarktes. Troponin I ist ein wichtiger Bestandteil des Troponin Komplexes der quergestreiften Muskulatur des Myokards. Die Aufgabe dieser Proteine ist somit die Kontraktion des Myokards und damit auch die Pumpfunktion des Herzens. Zudem dient die Troponin I Konzentration auch als Prognosefaktor, denn je höher die Troponin I Konzentration im Blutplasma der Patient*innen ist, umso schlechter ist die Prognose der Herzinsuffizienz. [56]

Die Produktion von Galectin-3 wird als wichtiger Biomarker für Herzfunktionsstörung verwendet, weil der Konzentrationsanstieg von Galectin-3 mit einer hypertrophen Herzinsuffizienz assoziiert ist. Aus diesem Grund wird der Galectin-3 Wert für die therapeutischen Interventionen in einem frühen Stadium einer hypertrophen Herzinsuffizienz herangezogen. [63]

Für die Auswertungen im Rahmen dieser Diplomarbeit wurden zwei Parameter ausgewählt: zum einem dient die Lathosterolkonzentration als Marker für die Cholesterinbiosynthese und zum anderen dient die Cholestanolkonzentration als Marker für die Cholesterinabsorption. Lathosterol wird als wichtiger Marker für die Cholesterinbiosynthese gesehen, weil sich gezeigt hat, dass bei einer Hypercholesterinämie Behandlung mit Statinen die Lathosterolkonzentration um 50% gesenkt werden kann. [2, 52]

Cholestanol ist von seiner chemischen Struktur dem Cholesterin sehr ähnlich. Cholestanol ist lediglich ein 5α gesättigtes Derivat von Cholesterin. Bei einer Reduktion der Cholesterinkonzentration im Blutplasma, reduziert sich auch die Cholestanolkonzentration. Die Cholestanol-Konzentration dient als Marker für die Cholesterinabsorption. [2, 53, 54]

Durch die gemessenen Konzentrationen dieser zwei Marker werden dann die *Calculation of Ratios* von Lathosterol/Cholesterin und von Cholestanol/Cholesterin berechnet, welche eventuell signifikante Assoziationen auf die kardiovaskuläre bzw. Gesamtmortalität haben könnten. Man hat sich hier für das Cholestanol/Cholesterin *ratio* entschieden, weil dieses Verhältnis bei Veränderung der Cholesterinabsorption am sensibelsten mitreagiert. Das Lathosterol/Cholesterin *ratio* reagiert am sensibelsten auf Veränderungen der Cholesterinbiosynthese. [4, 5]

1.1 Fettstoffwechsel

1.1.1 Cholesterinbiosynthese

Cholesterin wird zum größten Teil (bis zu 90%) vom menschlichen Körper selbst produziert. Nichtsdestotrotz können 30% bis 40% der gesamten Cholesterinkonzentration im Blutplasma aus der Nahrung stammen. Somit stellen sowohl die Cholesterinbiosynthese als auch die Cholesterinabsorption mögliche therapeutische Angriffspunkte zur Behandlung einer Hypercholesterinämie dar. Die Cholesterinbiosynthese an sich ist ein komplexer Syntheseprozess. Die wichtigsten Enzyme und Zwischenstufen sind für eine bessere Übersicht in Abbildung 1 dargestellt.

[11, 13]

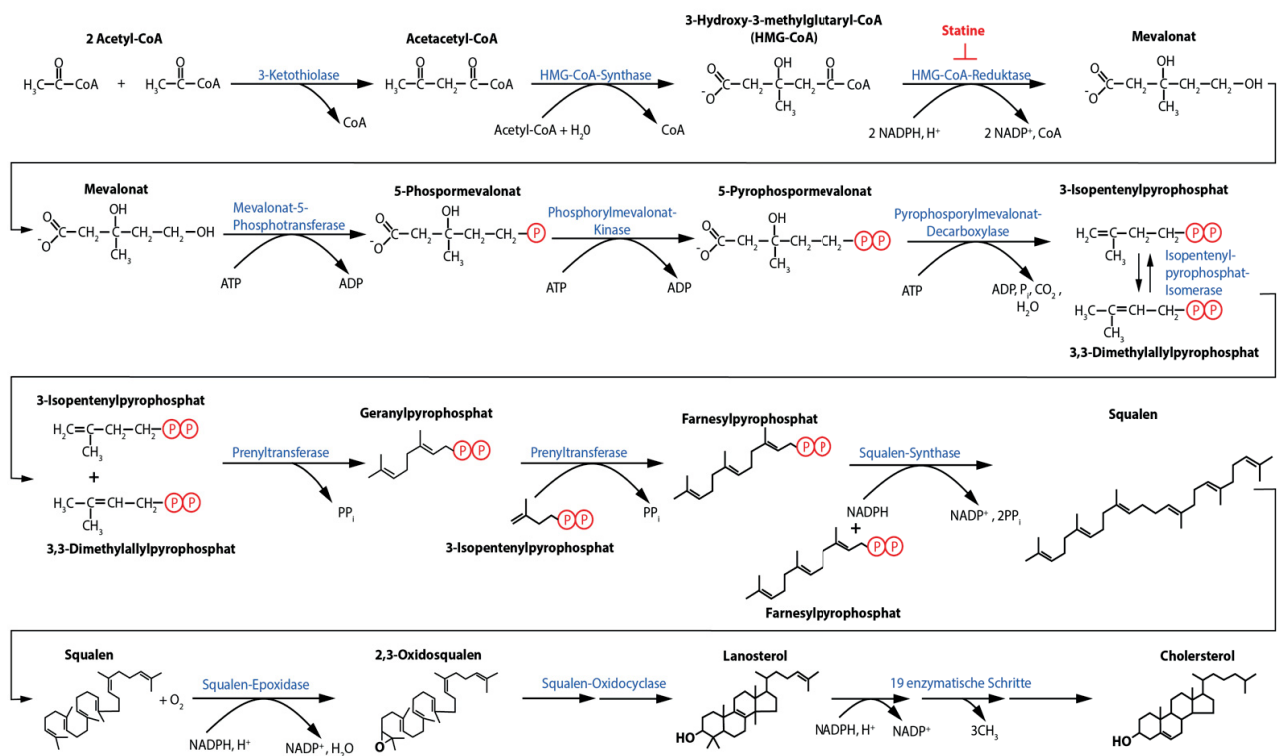


Abbildung 1: Eine Zusammenfassung der Cholesterinbiosynthese. Angriffspunkt der Statine ist rot markiert.

Die wichtigsten Cholesterinbiosynthese Schritte sind folgende:

1. Aus zwei Acetyl-CoA (= Acetyl-Coenzym A) Molekülen wird durch die Thiolase und der Hydroxymethylglutaryl-CoA-Synthase (= HMG-CoA-Synthase) das Hydroxymethylglutaryl-CoA synthetisiert.
2. HMG-CoA wird von der HMG-CoA-Reduktase zum Mevalonat reduziert.
3. Mevalonat wird durch die ATP-abhängigen Mevalonat-Phosphoryltransferase zu Phosphorylmevalonat phosphoryliert.
4. Phosphorylmevalonat wird von der ATP-abhängigen Phosphorylmevalonat-Kinase zu 5-Pyrophosphorylmevalonat phosphoryliert.
5. 5-Pyrophosphorylmevalonat wird von der ATP-abhängigen Pyrophosphorylmevalonat-Decarboxylase zu Isopentenylpyrophosphat.
6. Im Anschluss müssen Isopreneinheiten zu einem Squalen Molekül kondensiert werden. Hierfür werden zuerst zwei Isopentenylpyrophosphate miteinander kondensiert, wobei eines davon vorher durch die Isopentenylpyrophosphat-Isomerase zu Dimethylallylpyrophosphat umgewandelt werden muss. Danach werden sie durch die Prenyltransferase zum Geranylpyrophosphat kondensiert.
7. Durch die Prenyltransferase wird eine weitere Isopentenylpyrophosphatgruppe dazu kondensiert und es entsteht das Farnesylpyrophosphat.
8. Als letztes werden zwei Farnesylpyrophosphatgruppen von der NADPH-abhängigen Squalen-Synthase zu einem Squalen kondensiert.
9. Das produzierte Squalen wird durch die NADPH-abhängige Squalen-Epoxidase in das 2,3-Oxidosqualen oxidiert und das 2,3-Oxidosqualen wird dann weiter von der Squalen-Oxidocyclase in das Lanosterol cyclisiert. In 19 weiteren Schritten wird das Lanosterol durch Oxidation und durch Eliminierung von drei Methylgruppen in Cholesterin umgewandelt. ^[11, 13]

Das wichtigste und auch geschwindigkeitsbestimmende Enzym für die Cholesterinbiosynthese ist die HMG-CoA-Reduktase. Bei einer Therapie mit Statinen wird die Wirkung der HMG-CoA-Reduktase gehemmt und die Cholesterinbiosynthese kann um bis zu 45% gesenkt werden. ^[11, 13]

1.1.2 Cholesterinabsorption

Lipide werden durch Lipasen verdaut. Um eine Verdauung durch Lipasen möglich zu machen, wird Gallensäure benötigt, welche mit den Lipiden Mizellen bilden. Es ergibt sich dadurch eine Grenzschicht zwischen den lipophilen und den hydrophilen Anteilen. Erst jetzt können die Lipasen, welche vom Pankreas stammen, an der hydrophilen Schicht die Lipidverdauung beginnen. Im Grunde genommen werden die Lipide zu freien Fettsäuren, Mono- und Diacylglycerole gespalten, welche nun über die Darmschleimhaut aufgenommen werden können. Bei einem Gallensäuremangel wird zusätzlich zur einer gestörten Fettabsorption auch ein Mangel der fettlöslichen Vitamine A, D, E und K mitbeobachtet. Wenn die gespaltenen Lipide von den Darmzellen aufgenommen werden, werden sie in Triacylglycerole umgewandelt, danach in Chylomikronen verpackt und weiter transportiert. Chylomikronen sind Lipoproteine, welche mizellenartige Partikel mit einem unpolaren Kern und einer amphiphilen Hülle bilden. Der unpolare Kern besteht überwiegend aus unverestertem Cholesterin und Triacylglycerolen und die amphiphile Hülle besteht größtenteils aus Proteinen, wie z.B. Apolipoproteine, sowie Phospholipide und Cholesterin. [1, 17]

Chylomikronen transportieren die aufgenommenen Lipide zuerst über das Lymphsystem weiter und gelangen danach über den Ductus thoracicus in den linken Venenwinkel in das Kreislaufsystem. Nun können die Chylomikronen am Endothel der Blutgefäße haften bleiben und durch die Lipoproteinlipase hydrolysiert werden. Durch die Hydrolysierung entstehen Monoacylglycerole und freie Fettsäuren, welche vom umliegenden Gewebe aufgenommen werden können. Die Chylomikronen schrumpfen bei diesem Vorgang zu einem Chylomikronenrest zusammen, welcher sich vom Endothel dissoziiert und über das Blutkreislaufsystem zur Leber transportiert wird. [1, 17]

Lipoproteine bestehen grundsätzlich aus Lipiden (Cholesterin, Phospholipide und Triglyceride) und Apolipoproteine. Apolipoproteine stellen den Proteinanteil von Lipoproteinen, wie Chylomikronen, LDL, VLDL, IDL und HDL dar. Apolipoproteine und Phospholipide bilden die hydrophile Hülle der Lipoproteine und der Lipidanteil den hydrophoben Kern. Abbildung 2 zeigt einen vereinfachten Aufbau eines Lipoproteins.

[9, 10, 11, 13, 14]

Lipoprotein

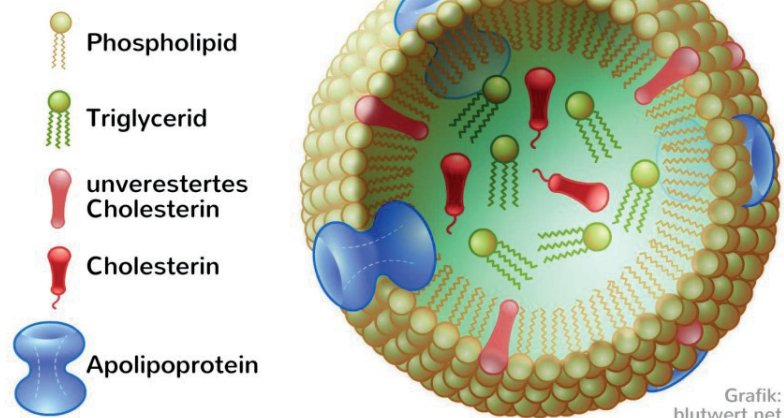


Abbildung 2: Eine vereinfachte Darstellung eines Lipoproteins. Der hydrophobe Anteil befindet sich im Inneren des Lipoproteins, während der hydrophile Anteil die Hülle des Lipoproteins bildet.

Lipoproteine werden nach ihrer Dichte in Klassen eingeteilt: Lipoproteine mit sehr geringer Dichte (*very low density*), mit geringer Dichte (*low density*) und mit hoher Dichte (*high density*). Das LDL (= *low density lipoprotein*) transportiert das Cholesterin von der Leber über die Blutgefäße ins periphere Gewebe und das HDL (= *high density lipoprotein*) transportiert überschüssiges Cholesterin aus den Blutgefäßen zurück zur Leber. [9, 11, 13, 14, 17]

1.1.3 Fettstoffwechselstörungen

1.1.3.1 Hypercholesterinämie

Hypercholesterinämie bedeutet eine Erhöhung der Cholesterinkonzentration im Blutplasma. Cholesterin wird im Blutkreislauf durch Lipoproteine transportiert. Eine Erhöhung der Plasmakonzentration von IDL (= *intermediate density lipoprotein*), LDL oder VLDL (= *very low density lipoprotein*) kann zu Atherosklerose führen, allerdings ist auch eine niedrige Plasmakonzentration von HDL mit einem höheren Risiko für Atherosklerose assoziiert. Die Reduktion der LDL-Konzentration orientiert sich am kardiovaskulären Risikofaktor. Bei Patient*innen mit einem hohen kardiovaskulären Risiko sollte die LDL-Konzentration auf <55 mg/dl gesenkt werden, während bei Patient*innen mit einem geringen kardiovaskulären Risiko eine LDL-Konzentration von <116 mg/dl angestrebt werden sollte. Bei einer HDL-Konzentration von 40 mg/dl bis 90

mg/dl wurde eine Senkung der Mortalität von Atherosklerose bedingten Herz-Kreislauf-Erkrankungen beobachtet. Schlussendlich sollte bei Risikogruppen für die gesamte Cholesterinkonzentration ein Wert von <155mg/dl angestrebt werden. [12]

Eine Hypercholesterinämie kann primär einen genetischen Ursprung haben oder sekundär aus anderen Erkrankungen resultieren. Im Rahmen einer primären Hypercholesterinämie besteht bereits in der Kindheit bzw. Jugend eine zu hohe Cholesterinkonzentration im Blutplasma. Während Erkrankungen wie z. B. das Metabolische Syndrom, Diabetes Mellitus, Herz-Kreislauf-Erkrankungen und Niereninsuffizienz, welche durch Rauchen, Bewegungsmangel und schlechte Ernährung verursacht werden, eine sekundäre Hypercholesterinämie begünstigen. [9, 11, 12, 13, 14]

Wie bereits erwähnt, kann eine Hypercholesterinämie zu Atherosklerose führen. Für die Entstehung der Atherosklerose muss sich das LDL in beschädigten Stellen des Endothels der Blutgefäße einnisten und eine Entzündung hervorrufen. Entzündungen locken neutrophile Granulozyten und Monozyten an, welche versuchen das eingestete LDL zu phagozytieren. Die Monozyten entwickeln sich zu Makrophagen und versuchen durch Phagozytose das LDL durch Sauerstoffradikale in den Lysosomen abzubauen. Das LDL oxidiert und gelangt tiefer in die Intima des Endothels. Dabei entstehen Schaumzellen, die wiederum T-Lymphozyten anlocken und die glatte Muskulatur der Blutgefäße zur Proliferation anregen, um eine Plaque zu bilden. Das Lumen der Blutgefäße wird stark einengt und eine Thrombose kann zum vollständigen Verschluss der Blutgefäße führen, wodurch das Gewebe distal der verschlossenen Stelle nicht mehr mit Sauerstoff versorgt wird. Abbildung 4 zeigt eine schematische Darstellung dieses pathologischen Vorgangs. Atherosklerose würde unbehandelt zu Herz-Kreislauf-Erkrankungen, zur peripheren arteriellen Verschlusskrankheit (pAVK) und zu Schlaganfällen führen. [9, 13, 14, 26]

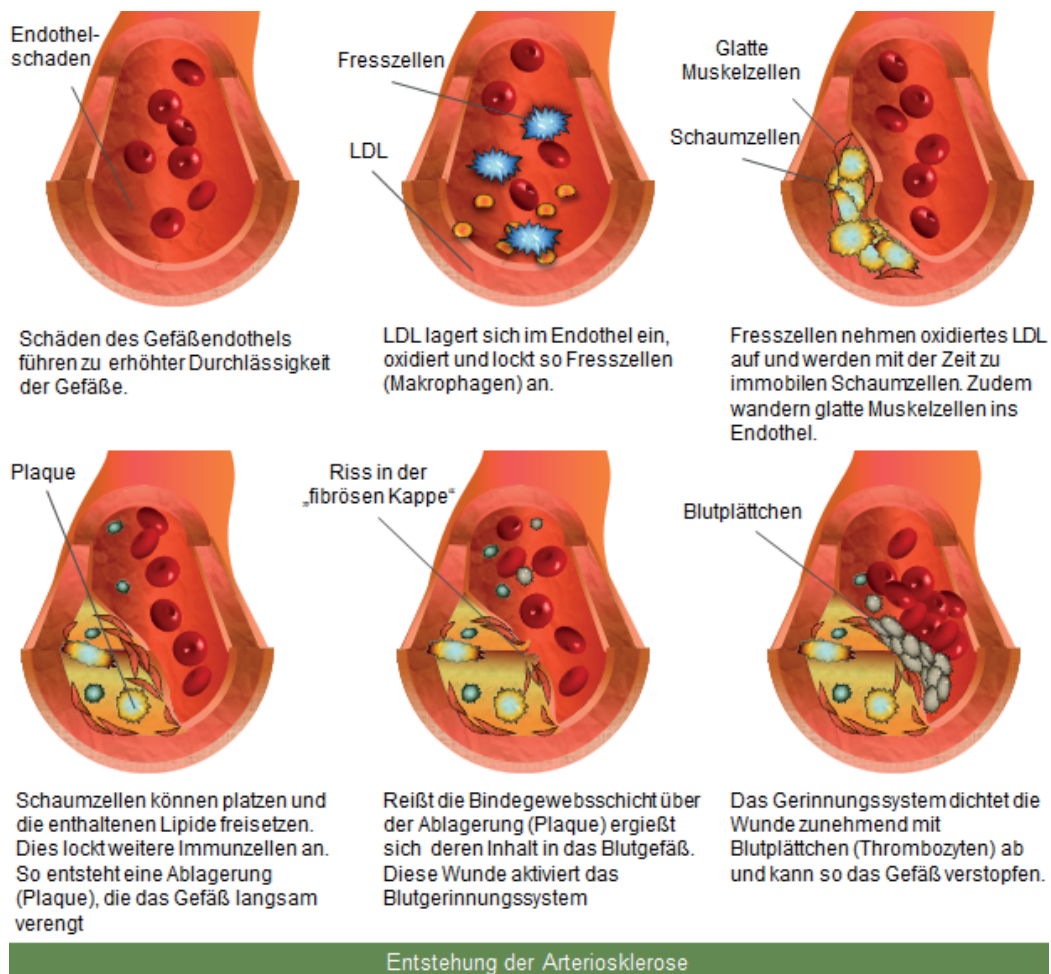


Abbildung 3: Schematische Darstellung der Atherosklerose.

Der Anteil der Cholesterinbiosynthese an der Gesamtkonzentration von Cholesterin kann bis zu 90% betragen. Aus diesem Grund ist die Hemmung der Biosynthese eine effiziente Behandlungsstrategie bei einer Hypercholesterinämie. Die hemmende Wirkung von Statinen auf das Schlüsselenzym 3-Hydroxy-3-methylglutaryl-CoA Reduktase (HMG-CoA-Reduktase) ist in Abbildung 3 dargestellt. Die Konzentration des HDL- Cholesterins nimmt etwas zu, während die LDL-Cholesterinkonzentration in den Blutgefäßen abnimmt. Die Cholesterinkonzentration im Blut kann bis zu ca. 45% abnehmen. [11, 13, 16, 18, 27, 28]

Eine ebenfalls weit verbreitete Therapiemöglichkeit ist der Einsatz von Ezetimib. Ezetimib hemmt die Cholesterinabsorption, indem es an das Transporter-Protein NPC1L1 (*Niemann-Pick C1-Like 1*) bindet und die Absorption von Cholesterin und Phytosterolen im Dünndarm hemmt. Die Aufnahme von fettlöslichen Vitaminen bleibt

unbeeinflusst. Die Cholesterinkonzentration kann allerdings nur um ca. 20% gesenkt werden. Allerdings lässt sich Ezetimib auch sehr gut mit einer Statin-Therapie kombinieren. [16, 18, 27, 28]

1.1.3.2 Sitosterolämie

Bei Sitosterolämie handelt es sich um eine autosomal-rezessive Erbkrankheit, welche zu einer Mutation der ATP-binding-cassette-transporter bzw. ABC-Transporter G5 (ABCG5) und G8 (ABCG8) führt. ABCG5 und ABCG8 sind wichtige Membrantransporter, die für die biliäre Ausscheidung von Phytosterolen (pflanzliche Sterole) verantwortlich sind. Klinische Studien haben gezeigt, dass eine Mutation der beiden Membrantransporter zu einem drastischen Anstieg von Phytosterolen wie z. B. Sitosterol, Campesterol, Sigmasterol, ect. im Blutplasma führt. [2, 4, 7, 28]

Bei Sitosterolämie Patient*innen kann man daher nach einer Gabe von Phytosterolen und Cholesterin keine hohe Konzentration von Phytosterolen in der biliären Exkretion nachweisen. Ansonsten würden die ABCG5 und ABCG8 Transporter die Phytosterole wieder ins intestinale Lumen pumpen. Es reicht schon eine Mutation des ABCG5 oder des ABCG8 allein aus, um eine Sitosterolämie auszulösen. Bislang wurden keine Sitosterolämie Patient*innen diagnostiziert, die auf beiden Transportern gleichzeitig eine Mutation aufweisen. Diese Anmerkung ist sehr wichtig, weil in Mausmodellen ein ähnlicher Krankheitsverlauf nur dann erreicht werden konnte, wenn sowohl ABCG5 als auch ABCG8 gleichzeitig mutiert wurden. [5, 6, 7, 8, 28]

Die erhöhte Phytosterolkonzentration im Blutplasma führt auch zu einer erhöhten Konzentration der LDL und begünstigt dadurch Atherosklerose und Herz-Kreislauf-Erkrankungen. Hinzu kommt, wie in Abbildung 4 ersichtlich ist, dass Phytosterole eine dem Cholesterin ähnliche chemische Struktur besitzen. Aus diesem Grund stehen Phytosterole weiterhin im Verdacht Atherosklerose zu begünstigen. Da die Hauptursache für diese Erbkrankheit eine Akkumulation von Phytosterolen ist, wird primär mit Cholesterinabsorptionsinhibitoren anstelle von Statinen behandelt. Phytosterole, wie Sitosterol und Campesterol, werden als Parameter für die Cholesterinabsorption verwendet. [2, 5, 7, 28]

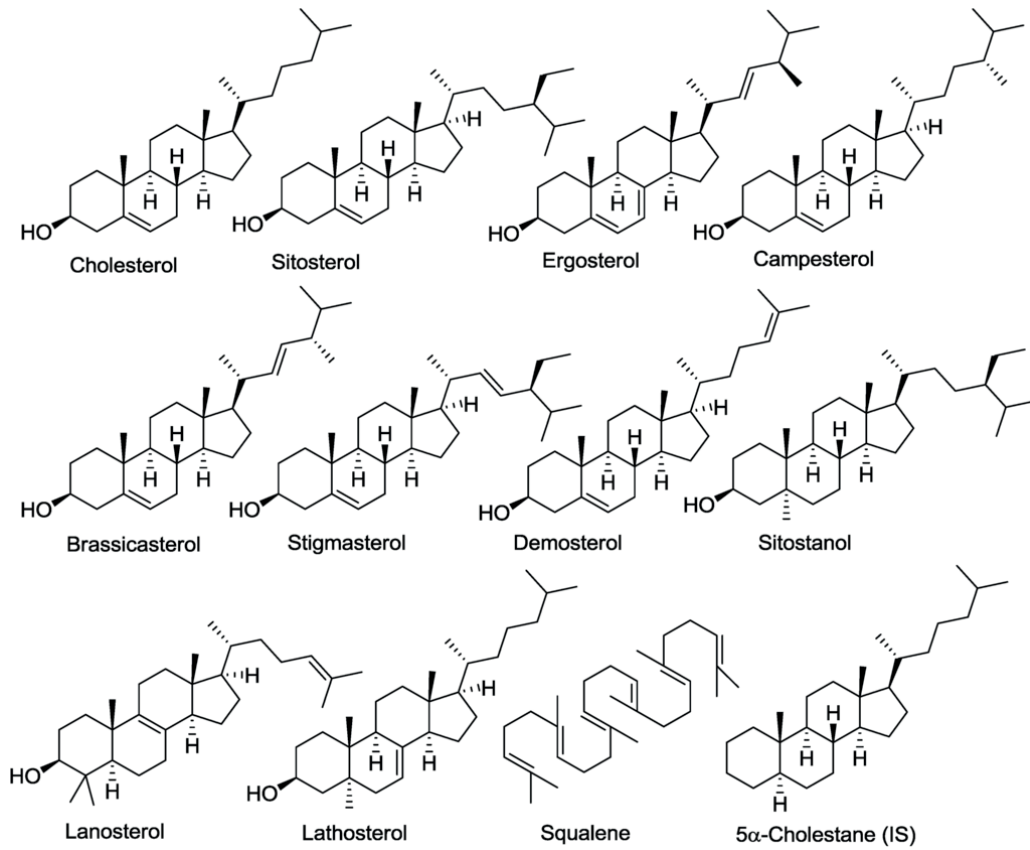


Abbildung 4: Aufgelistet sind die wichtigsten Sterolderivate. Man beachte die strukturellen Ähnlichkeiten zwischen Cholesterin und den zwei Phytosterolderivaten Sitosterol und Campesterol.

1.2 Kardiorenales/Renokardiales Syndrom

Das kardiorenale bzw. renokardiale Syndrom beschreibt eine Fehlfunktion des Herzens und der Niere. Primär kann eine Insuffizienz des Herzens oder der Nieren vorherrschen, welche zu einer Insuffizienz des anderen Organs führen kann. Bei einem kardiorenalen Syndrom verursacht eine primäre Insuffizienz des Herzens eine Dysfunktion der Nieren und bei einem renokardialen Syndrom verursacht eine primäre Insuffizienz der Nieren eine Dysfunktion des Herzens. Unter anderem lassen sich sowohl das kardiorenale als auch das renokardiale Syndrom in einen akuten oder chronischen Krankheitsverlauf unterteilen. [9, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Bei einem akuten kardiorenalen Syndrom steht eine akute Herzerkrankung im Fokus. Zu den akuten Herzerkrankungen zählen unter anderem die koronare Herzerkrankung, die Myokarditis und der Myokardinfarkt. Ein hypertensives Lungenödem kann auch zu einem akuten kardiorenalen Syndrom führen. Akute Herzkrankheiten, die eine Reduktion der Ejektionsfraktion des Herzens verursachen, sind mit einem höheren Risiko für kardiorenale Syndrome assoziiert als eine akute Niereninsuffizienz. Ein Grund könnte eine mögliche Unabhängigkeit der Nierenfunktion auf kardiovaskuläre Erkrankungen sein. Des Weiteren kann sich bei einer kurz andauernden akuten Herzinsuffizienz die Nierenfunktion wieder erholen. [9, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Bei einem chronischen kardiorenalen Syndrom stehen chronische Herzerkrankungen, welche wiederum zu chronischer Niereninsuffizienz führen, im Mittelpunkt. Die Prävalenz von Nierenfunktionsstörungen beträgt ca. 25% bei chronischen Herzerkrankungen. Chronische Herzerkrankungen verursachen eine verminderte Nierenperfusion, welche häufig durch mikrovaskuläre und makrovaskuläre Erkrankungen bedingt ist. Hinweise auf einen Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Ejektionsfraktion und der glomerulären Filtrationsrate konnten noch nicht nachgewiesen werden, weil Patient*innen mit chronischer Herzinsuffizienz und erhaltener linksventrikulärer Funktion ähnliche glomeruläre Filtrationsraten aufwiesen wie Patient*innen mit einer eingeschränkten Ejektionsfraktion von <45%. Das chronische kardiorenale Syndrom ist schwer zu therapieren, weil eine Therapie mit z. B. Diuretika zu einer Verschlechterung der Nieren führen kann. [9, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Das akute renokardiale Syndrom ist durch eine akute Verschlechterung der

Nierenfunktion gekennzeichnet, welche zu akuten Herzstörungen, wie Arrhythmien, Ischämie oder akuter Herzinsuffizienz führt. Ein akutes Nierenversagen kann das Herz auf mehrere Wege betreffen. Mögliche Belastungen sind eine Flüssigkeitsüberlastung, welche ein Lungenödem verursacht und damit das rechte Herz belastet, eine Hyperkaliämie, die Herzrhythmusstörungen bzw. einen Herzstillstand verursacht und eine Urämie, die zu Myokarditis und Perikarditis führen kann. Bei einer bilateralen Nierenarterienstenose sorgt ein chronischer Anstieg des Blutdrucks auch für eine starke Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems. Dies kann zu einer Myokardischämie führen, da die Nachlast des Herzens erhöht wird und dadurch auch der Sauerstoffbedarf des Myokards steigt. [9, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Ein chronisches renokardiales Syndrom ist durch eine chronische Niereninsuffizienz gekennzeichnet, die zu kardialen Funktionsstörungen führt. Die chronische Niereninsuffizienz wird basierend auf dem Schweregrad der Nierenschädigung und der glomerulären Filtrationsrate in fünf Stadien unterteilt. Patient*innen mit einer Niereninsuffizienz im Stadium 5 weisen ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko auf. In 50% der Fälle sterben jene Patient*innen an einer Herz-Kreislauf-Erkrankung. Das Risiko eines Myokardinfarkts ist somit 10- bis 20-fach höher als bei Patient*innen ohne chronischer Niereninsuffizienz. Vaskuläre Erkrankungen, linksventrikuläre hypertrophe Dysfunktion und eine beschleunigte Atherosklerose sind die häufigsten kardiologischen Dysfunktionen bei einer chronischen Niereninsuffizienz. [9, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Erkrankungen, wie Diabetes mellitus, Amyloidose, systemischer Lupus erythematodes, oder Sepsis können sowohl das Herz als auch die Nieren unabhängig voneinander schädigen. In solchen Fällen würde man von einem sekundären kardiorenenalen Syndrom sprechen. In den meisten akuten Fällen ist eine Sepsis für eine Schädigung des Myokards und der Nieren verantwortlich, aber die genaue Pathogenese ist noch nicht bekannt. [9, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Vereinfacht lässt sich sagen, dass Herzerkrankungen in den meisten Fällen auch einen Einfluss auf Nierenerkrankungen haben und umgekehrt. Aus diesem Grund ist es essenziell bei einer Herzinsuffizienz auch die Nieren genau zu untersuchen und umgekehrt. [9, 29, 31, 32, 33, 34, 35, 36]

Als therapeutische Maßnahmen für das kardiorenale/renokardiale Syndrom stehen Medikamente zur Behandlung der Herzinsuffizienz und eine Nierenersatztherapie zur Verfügung. [9, 16, 18, 20, 40, 41]

1.2.1 Nierenersatztherapie

Als Nierenersatzverfahren wird die Dialyse betrachtet, welche außerhalb des Körpers oder innerhalb des Körpers stattfinden kann. Unter Dialyse außerhalb des Körpers wird die Blutreinigung durch eine Hämodialyse oder Hämofiltration verstanden, während unter einer Dialyse innerhalb des Körpers die Peritonealdialyse gemeint ist. Die Dialyse wird bei chronischer Niereninsuffizienz durchgeführt, wenn die glomeruläre Filtrationsrate unter 15 ml/min/1,73 m² fällt. [20, 30, 40, 41]

Bei der Hämodialyse oder Hämofiltration wird ein Gefäßzugang benötigt. Dieser Gefäßzugang muss einen großen Volumenzugang bieten, weil während der Dialyse eine Blutzirkulation von 300 ml/min oder mehr für eine effektive Blutreinigung benötigt wird. Dieser Gefäßzugang wird durch einen arteriovenösen Shunt oder Fistel ermöglicht. Dabei wird eine chirurgische Verbindung zwischen einer Arterie und einer Vene hergestellt. Für gewöhnlich wird diese Brescia-Cimino-Fistel zwischen der Arteria radialis und der Vena cephalica am Handgelenk angelegt. Weitere Möglichkeiten wären auch ein Sheldon-Katheter, der in die Vena jugularis interna, in die Vena subclavia oder Vena femoralis eingelegt wird. [20, 30, 40, 41]

Die Hämodialyse reinigt das Blut, indem es das Blut durch eine semipermeable Membran (= Dialysator) auf eine Seite leitet, während auf der anderen Seite des Dialysators in entgegengesetzter Strömung eine Dialyse-Flüssigkeit (Dialysat) mit physiologischer Elektrolytzusammensetzung leitet. Durch die Erzeugung eines Unterdrucks lässt sich die Volumenregulation einstellen. Wichtig ist die Gabe von Heparin während der Dialyse, um eine Blutgerinnung zu verhindern. Für Patient*innen mit Blutungsneigung wird statt Heparin Citrat verwendet. Aufgrund der semipermeablen Membran und dem Gegenstrom des Dialysats wird das Blut durch Diffusion und Konvektion gereinigt. Die semipermeable Membran ist nur für kleine molekulare Substanzen, wie Elektrolyte, Harnstoff und Kreatinin durchlässig. [20, 30, 40, 41]

In Abbildung 5 ist eine vereinfachte Darstellung der Hämodialyse, für eine bessere Vorstellung, dargestellt.

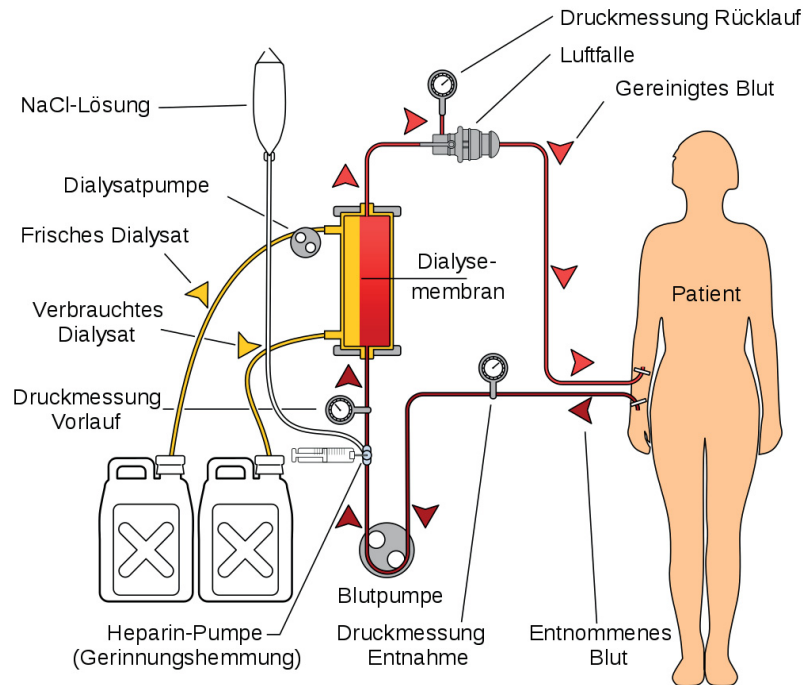


Abbildung 5: Darstellung einer Hämodialyse.

Die Dialyse sollte mindestens 3mal pro Woche 4 bis 5 Stunden lang durchgeführt werden, um eine effektive Blutreinigung zu erzielen. [20, 40]

Die Dialyse dient nur zur Überbrückung für eine bevorstehende Nierentransplantation, weil nur eine Nierentransplantation eine chronische Niereninsuffizienz am effektivsten kompensieren kann. Eine Dialyse kommt niemals an die Funktion einer gesunden Niere heran. [20, 30, 40, 41]

Wie oben schon erwähnt, ist das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen bei Dialysepatient*innen stark erhöht. Zu den häufigsten Ätiologien von Herz-Kreislauf-Erkrankungen zählen in erster Linie Hypertonie, koronare Herzerkrankungen, Myokardinfarkt oder Herzklappenfehler. Es sei noch erwähnt, dass Entzündungen, Stress und Rauchen ebenfalls Herzerkrankungen begünstigen bzw. verschlechtern können. Gerade psychischer Stress gerät als Risikofaktor für Herzerkrankungen immer mehr in den Fokus, weil die psychische Verfassung einen Einfluss auf das Nervensystem, Immunsystem und Hormonsystem hat. [9, 15, 19, 20, 21, 22, 23, 24, 25]

1.3 AURORA Studie

In früheren Studien konnte nachgewiesen werden, dass Patient*innen, die sich einer Hämodialyse unterziehen, ein stark erhöhtes kardiovaskuläres Risiko haben. Damit erhöht sich auch das Risiko eines Myokardinfarkts oder für andere kardiovaskuläre Ereignisse, wie z. B. plötzlicher Herztod und/oder Herzinsuffizienz. Die Konzentration des LDL kann bei Dialysepatient*innen erniedrigt oder normal sein, was eine Unsicherheit bei der Anwendung einer lipidsenkenden Therapie mit Statinen mit sich bringt. Eine Therapie mit Statinen wird oft gegen eine zu hohe LDL-Konzentration gestartet, da Statine die Cholesterinbiosynthese hemmen. Nun stellt sich die Frage, ob eine Therapie mit Statinen Dialysepatient*innen weiterhelfen könnte oder nicht. Um diese Frage zu beantworten, hat man sich in der AURORA Studie mit der klinischen Bewertung der Therapie mit Statinen bei Dialysepatient*innen beschäftigt, um herauszufinden, ob sie zu einer Reduktion der kardiovaskulären Mortalität bzw. auch Gesamtmortalität führt oder nicht. [37, 38, 39]

Hierfür wurde eine randomisierte Placebo-kontrollierte Studie durchgeführt. Dafür wurden zwei klinische Patient*innen-Gruppen gebildet, wobei eine Gruppe Statine erhielt, während die andere Gruppe die Placebo-Kontrolle darstellte. Diese Therapie wurde über einem Zeitraum von 3 bis 4 Jahren durchgeführt. Plasmaproben von den Studienteilnehmer*innen wurden vor Therapiebeginn, während der Studie und am Studienende entnommen. Die Ergebnisse zeigen, dass trotz einer Therapie mit Statinen und der damit verbundenen Senkung der LDL-Konzentration um ca. 43%, kein signifikanter Unterschied in Bezug auf die kardiovaskuläre Mortalität im Vergleich zur Placebo-Gruppe besteht. [37, 38, 39]

Allerdings sollte hier eine klinische Studie erwähnt werden, welche nachweisen konnte, dass nur Dialysepatient*innen mit einer zu hohen Cholesterinbiosynthese von einer Therapie mit Statinen profitieren, während Dialysepatient*innen mit einer zu hohen Cholesterinabsorption keinen Vorteil von dieser Therapie haben. Diese Ergebnisse können dadurch erklärt werden, dass eine Statintherapie nur die Cholesterinbiosynthese hemmt und nicht die Cholesterinabsorption. [37, 38, 39]

Aus diesem Grund soll in dieser Studie herausgefunden werden, ob Parameter der Cholesterinbiosynthese und der Cholesterinabsorption mit der kardiovaskulären Mortalität und mit der Gesamtmortalität der Dialysepatient*innen assoziiert sind und welche Risikofaktoren mit den jeweiligen Sterolederivaten im Zusammenhang stehen. Als potenziell prognostische Marker wurden für die Biosynthese das Lathosterol bzw. die Lathosterol/Cholesterin *ratio* gewählt, für die Absorption das Cholestanol bzw. die Cholestanol/Cholesterin *ratio*.

2 Material und Methoden

Für die Analyse der 2347 Plasmaproben wurde ein GC-MS Gerät verwendet. Dabei handelt es sich um einen Gaschromatographen, welcher mit einem Massenspektrometer verbunden ist. Die Konzentrationen der einzelnen Plasmaproben wurden danach durch eine kalibrierte Eichkurve berechnet. Die einzelnen Arbeitsschritte der Plasmaanalyse, das Einwiegen der Stammlösung und die dazu notwendigen Erklärungen werden als nächstes näher beleuchtet. [2, 3]

2.1 Plasmaproben

Für die AURORA Studie wurden EDTA-Plasmaproben von Dialysepatient*innen, kaukasischer Herkunft analysiert. Es wurden 2347 Plasmaproben gesammelt. Das entnommene Blut wurde für ca. 15 min bei ca. 3000 g zentrifugiert. Das Blutplasma trennt sich von den festen Blutbestandteilen. 100 µl wurden danach vom Blutplasma entnommen und bei -80 °C eingefroren. [2]

Um die Konzentrationen der bereits erwähnten Sterolderivate zu berechnen, wurde mit Hilfe der Software Xalibur Version 2.0.7 eine Kalibrierungsfunktion berechnet. Für die Berechnung einer Kalibrierungsfunktion müssen die Retentionszeiten der Sterolderivate vorher bekannt sein. Die Retentionszeiten wurden durch Standardlösungen laufend im Labor bestimmt. Die Retentionszeiten für die zu bestimmenden Sterolderivate sind im Anhang zu finden. Für die Erstellung einer Kalibrierungsfunktion muss eine Verdünnungsreihe von EK1 bis EK9 aus einer bestimmten Sterolderivat-Lösung pipettiert werden. Von jedem Sterolderivat wurden 3,8 mg eingewogen und auf ein Volumen von 10 ml mit Isopropanol (2-Propanol) gelöst. Als nächstes wurde 1 ml aus allen Sterolderivat-Lösungen in ein Becherglas pipettiert und mit Methanol auf ein Gesamtvolumen von 16 ml aufgefüllt. Diese Stammlösung entspricht EK1, danach wurde für die Verdünnungsreihe 1 ml der Stammlösung entnommen und mit Methanol im Verhältnis 1:2 von EK1 bis EK9 verdünnt. Es wurden 50 µL aus jeder Verdünnungsreihe entnommen und 50 µL destilliertes Wasser, 100 µl BSA (Rinderalbumin), 100 µl Epicopstanol und 100 µl Cholestanol d5* hinzugefügt. Für die Massenspektrometrie ist ein interner Standard

unverzichtbar, weil der interne Standard als Relations-Vergleich dient und deshalb eine genauere Messung der Konzentrationen ermöglicht. Für die Kalibrierungsfunktion werden die beiden internen Standards Epicoprostanol und Cholestanol d5* verwendet. Für die Messung der Plasmaproben wurde allerdings nur noch Epicoprostanol als interner Standard benutzt, da Cholestanol d5* für die Messung der Plasmakonzentrationen keinen Vorteil erbrachte. Die berechneten Konzentrationen und gemessenen Konzentrationen von EK1 bis EK9 der Stammlösung sind in Tabelle 1 aufgelistet. [2, 50]

Tabelle 1: In dieser Tabelle sind die berechneten und gemessenen Konzentrationen der Stammlösung aufgelistet.

Verdünnungsreihen	Gemessene Werte Konzentration [nmol/100 µl Plasma]	Berechnete Werte Konzentration [nmol/100 µl Plasma]
EK1	4,110	3,875
EK2	2,010	1,938
EK2a	1,938	1,938
EK3	0,881	0,969
EK3a	0,997	0,969
EK4	0,470	0,484
EK4a	0,506	0,484
EK5	0,236	0,242
EK5a	0,253	0,242
EK6	0,124	0,121
EK6a	0,112	0,121
EK7	0,056	0,059
EK7a	0,063	0,059
EK8	0,028	0,030
EK8a	0,031	0,030
EK9	0,015	0,015
EK9a	0,016	0,015

Die Verdünnungsreihen werden im GC-MS gemessen und mit Hilfe der Software Xcalibur Version 2.0.7 integriert. Durch die Integrationen der einzelnen Peaks ergibt sich der Wert für R^2 0,97. Bei diesem R^2 Wert liefert die Kalibrierungsfunktion gute Ergebnisse. Die unbekannt Konzentrationen der Plasmaproben werden anhand folgender Formel der Kalibrierungsfunktion berechnet:

$$y = kx + d$$

Kalibrierungsfunktionen müssen generell immer neu erstellt werden, wenn das GC-MS gewartet werden muss oder wenn die Gaschromatographiesäule stark verkürzt wurde. [2, 50]

Zusätzlich wurde eine QC-Probe 1 (= Qualitätskontrolle) und QC-Probe 2 verwendet. Die QC-Probe 1 ist ein Gemisch aus den Verdünnungsreihen EK7 und EK8, mit einer Konzentration von 0,044 nmol pro 100 µl. Während die QC-Probe 2 ein Gemisch aus den Verdünnungsreihen EK2 und EK3 ist, mit einer Konzentration von 1,45 nmol pro 100 µl. Die QC-Probe 1 und 2 müssen für jede neue Messung frisch vorbereitet werden, damit lässt sich nachweisen, wie effizient die Messung vom GC-MS war. [2, 50]

Jeder einzelne Arbeitsschritt ist der LURIC Studie nachempfunden, welche im Literaturverzeichnis mit den Nummern [2] und [3] vermerkt wurde. Diese Diplomarbeit bezieht sich auf die vorrangegangene Masterarbeit: *Phytosterole im Blutplasma von Dialysepatient*innen*. Aus diesem Grund werden nicht alle einzelnen Arbeitsschritte genannt und erklärt. Aber für Interessierte besteht die Möglichkeit sämtliche Details der verwendeten Materialien und Methoden und ihre Erklärungen in der genannten Masterarbeit nachzulesen. Diese Masterarbeit ist im Literaturverzeichnis mit der Nummer [50] vermerkt.

2.2 Gaschromatographie

Eine Gaschromatographie ist eine Methode zur Trennung von flüchtigen Stoffgemischen, welche sich verdampfen lassen, ohne sich dabei zu zersetzen. In der Gaschromatographie wird ein Trägergas, wie z. B. Wasserstoff, Stickstoff oder Helium, als mobile Phase verwendet, während in der Flüssigkeitschromatographie ein Lösungsmittel als mobile Phase dient. Als stationäre Phase wird ein dünner Film auf der Innenwand der Kapillarsäule aufgetragen. Wichtig ist, dass das Trägergas keine Bindung oder Wechselwirkung mit der stationären Phase oder den Analyten eingehen darf. [42, 44, 51]

Die mobile Phase wird nur für den Transport der Analyten über die stationäre Phase verwendet, während diesem Vorgang dürfen die Analyten nur mit der stationären Phase eine Wechselwirkung eingehen. Durch diese Wechselwirkung werden die Analyten unterschiedlich stark zurückgehalten. Dadurch ergeben sich die Retentionszeiten, weil jeder Analyt unterschiedlich lange Zeit benötigt, um die stationäre Phase zu verlassen. [45, 51]

Für die stationäre Phase wird eine Kapillarsäule verwendet, welche meistens aus Quarz mit einer äußeren Schicht aus Kunststoff besteht. Die äußere Kunststoff-Beschichtung verleiht der Kapillarsäule ihre Flexibilität. Kapillarsäulen besitzen meistens eine Länge von ca. 15 bis 60 m, während der Innendurchmesser meistens ca. 0,15 bis 0,5 mm groß ist. Für eine bessere Trennung sind die Kapillarsäulen mit einer Innenbeschichtung, dem Trennphasenfilm, von ca. 0,1 bis 5 μm beschichtet. Dieser Trennphasenfilm besitzt thermostabile Polysiloxanderivate, weil Lipide einen hohen Siedepunkt besitzen und somit mit sehr hohen Siedepunkten gearbeitet werden muss. [45, 43]

Der Übergang von flüssig zu gasförmig stellt ein großes Problem dar, weil sich die zu analysierenden Analyten womöglich zersetzen können. Um diesen Vorgang zu verhindern, müssen die Analyten mit einer polaren funktionellen Gruppe derivatisiert werden. Für diesen Vorgang steht entweder eine Methylierung oder Silylierung zur Verfügung. Für die Plasmaproben wurde eine Silylierung mittels MSTFA (N-Methyl-N-(trimethylsilyl)-trifluoracetamid) durchgeführt. [45, 43]

Um die Analyten voneinander zu trennen, orientiert man sich anhand ihrer

Siedepunkte. Je geringer der Siedepunkt eines Analyten ist, umso früher wird dieser Analyt eluiert. Die Temperatur wird deshalb zu einem wichtigen Bezugspunkt für die Wechselwirkung zwischen dem Analyten und der stationären Phase. Eine Temperaturveränderung führt auch zu einer Änderung der Retentionszeiten. Damit es zu einer Wechselwirkung kommen kann, muss die stationäre Phase eine ähnliche Polarität besitzen wie die Analyten. In diesem Fall muss die stationäre Phase eine unpolare Eigenschaft haben, weil Lipide hydrophob und unpolar sind. Für die unpolare Eigenschaft der stationären Phase werden z. B. Poly(dimethylsiloxan)- und Poly(5%-diphenyl-95%-dimethylsiloxan) Moleküle verwendet. Zu guter Letzt sei noch erwähnt, dass die Analyten für die Gaschromatographie in Lösungsmittel gelöst werden müssen. Das Lösungsmittel muss so gewählt werden, dass es schon bei einem niedrigen Siedepunkt siedet. [45, 43]

Zur besseren Vorstellung ist in Abbildung 6 der Aufbau eines Gaschromatographen abgebildet.

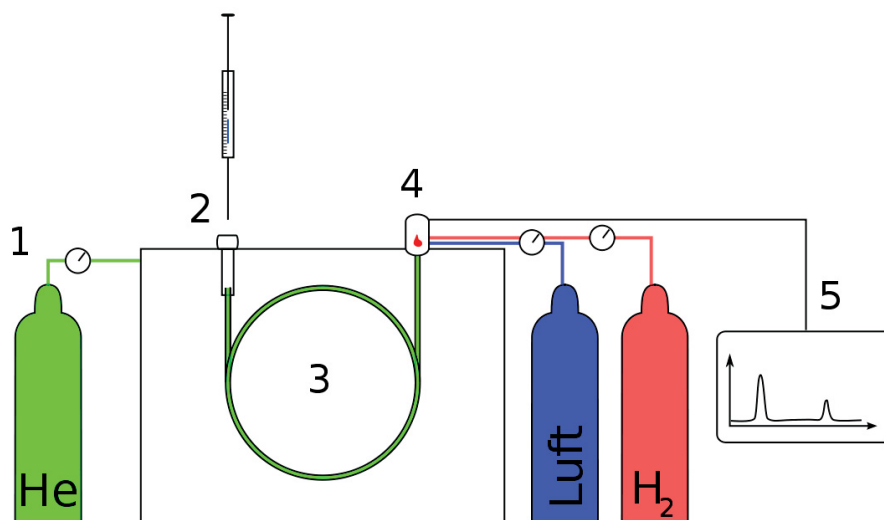


Abbildung 6: Zu sehen ist der Aufbau eines Gaschromatographen mit folgenden Einzelkomponenten: Trägergas (1), Injektor (2), Säule (3), Detektor (4) und Signalaufzeichnung (5).

2.3 Massenspektrometer

Ein Massenspektrometer dient dazu, die vorher durch die Gaschromatographie getrennten Analyten über ihre Masse-zu-Ladung-Verhältnisse (m/z) zu identifizieren.

Ein Massenspektrometer besteht aus folgenden Komponenten:

- Probenzuführungssystem
- Ionenquelle
- Massenanalysator
- Detektor

Abbildung 7 gibt den groben Aufbau eines Massenspektrometers, für eine bessere Übersicht, wieder. [45, 46, 47, 48, 49]

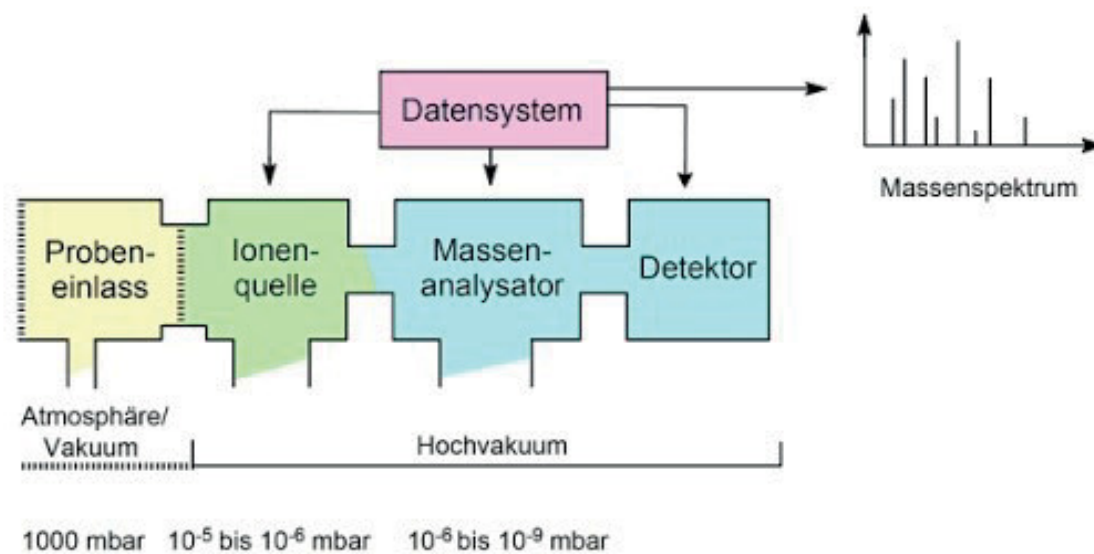


Abbildung 7: Aufbau eines Massenspektrometers. Im Datensystem werden die Ionen in elektrische Signale umgewandelt, welche dann in ein Massenspektrum umgewandelt werden.

Damit es zu keinem unnötigem Untergrundrauschen kommt, arbeitet das Massenspektrometer unter Hochvakuum, nur so ist es möglich das Kollidieren der Elektronen mit Luftmolekülen zu verhindern. [45, 46, 47, 48, 49]

Bevor eine Massenspektrometrie durchgeführt werden kann, müssen die Analyten ionisiert werden. Die Ionisierung kann durch eine chemische Ionisation (= CI),

Elektronenstoßionisation (= EI) oder Elektrospray-Ionisation (= ESI) erfolgen. Für diese Studie wurden die Plasmaproben durch die EI ionisiert. Zuerst müssen die zu analysierenden Analyten durch ein Probenzuführungssystem in die Ionisationskammer, unter Vakuum, weitergeleitet werden. In der Ionisationskammer wird ein Glühdraht aufgeheizt und durch Thermoemission werden Elektronen frei, welche durch eine Potentialdifferenz von ca. 70 eV zwischen Filament und Metalplatte beschleunigt werden. Nun treffen die Elektronen auf die zu analysierenden Analyten und schlagen Elektronen aus den Analyten heraus. Dadurch entstehen positive geladene Ionen. Die EI Ionisation ist eine sehr harte Methode zur Ionisation, wodurch Fragmente entstehen können, welche wiederum wichtige Hinweise auf bestimmte Substanzen liefern können. [45, 46, 47, 48, 49]

Als nächstes müssen diese positiv geladenen Ionen nach ihrem Masse-zu-Ladungs-Verhältnis (m/z) gefiltert werden. Es gibt unterschiedliche Massenfilter für die Massenspektrometrie. Für diese Studie wurde ein Quadrupol verwendet. Ein Quadrupol besteht aus vier parallel angeordnete Metallelektroden, an welche gleichzeitig bei einer Phasendifferenz von 180° eine Gleichspannung und eine hochfrequente Wechselspannung angelegt werden. Das Verhältnis zwischen Gleichspannung zu Wechselspannung ermöglicht nur für bestimmte Ionen mit einem bestimmtem m/z eine stabile Flugbahn. So können nur ausgewählte Ionen mit einem bestimmten m/z eine stabile Flugbahn erhalten, während alle anderen Ionen an den Elektroden kollidieren würden. [45, 46, 47, 48, 49]

Als letztes müssen die Ionen von einem Detektor in ein elektrisches Signal umgewandelt werden. Meistens wird für diesen Vorgang ein Sekundärelektronenvervielfacher (= SEV) verwendet, welcher aus einer Konversionsdynode und mehreren Beschleunigungsdynoden besteht. Die Konversionsdynode wirkt mit 10 kV den kommenden Ionen entgegen und erzeugt beim Landen der Ionen einen Sekundärelektronenstrom. Nun werden Elektronen von einer Beschleunigungsdynode zur nächsten beschleunigt. Bei diesem Ablauf werden immer mehr Elektronen mit einem höheren Potenzial aus den Beschleunigungsdynoden herausgeschlagen, sodass sich eine Elektronenkaskade bildet. Die Elektronenkaskade wird in ein elektrisches Signal umgewandelt, das über einen Vorverstärker zu einem

Transientenrekorder geleitet wird. Am Transientenrekorder werden die elektrischen Signale digitalisiert. Nun können diese Signale von einer Software am Computer gelesen und ausgewertet werden. Die ausgewerteten Signale werden in ein Spektrum aufgetragen, das den gesamten m/z Bereich und die Intensität der einzelnen detektierten Ionen wiedergibt. [45, 46, 47, 48, 49]

2.4 Statistische Vorgehensweise

Die AURORA Studie ist eine Kohortenstudie, welche als prospektive Studie den Einfluss der Cholesterinbiosynthese und Cholesterinabsorption auf die Mortalität von kardiovaskulären Erkrankungen bei Patient*innen mit terminaler Niereninsuffizienz untersucht. Die Patient*innen unterzogen sich aufgrund ihrer terminalen Niereninsuffizienz einer Dialysetherapie. Für die AURORA Studie wurden 2347 Plasmaproben von Dialysepatient*innen gemessen und statistisch ausgewertet. Zwei Dialysepatient*innen wurden aus der statistischen Auswertung ausgeschlossen, da eine Zuordnung zur Studien-Datenbank nicht möglich war. Die statistische Auswertung wurde für 2345 Dialysepatient*innen durchgeführt. [2, 3, 62]

Bei einer Kohortenstudie wird eine bestimmte Gruppe von Patient*innen eine bestimmte Zeit beobachtet. Wichtig für eine Kohortenstudie ist, dass ein Teil dieser Patient*innen einem bestimmten Risikofaktor ausgesetzt war oder eine bestimmte Therapie erhalten hat, während die andere Gruppe diesem Risikofaktor nicht ausgesetzt war bzw. ein Placebo erhalten hat. Demzufolge geht die Kohortenstudie der Beobachtung von bestimmten Einflussfaktoren auf den Krankheitsverlauf nach. [2, 3, 62]

Für die statistische Auswertung werden die Konzentrationen der Sterolderivate Campesterol, Sitosterol, Lathosterol und Cholestanol aus den Plasmaproben in der Einheit $\mu\text{mol/l}$ gemessen. Für die Bestimmung der kardiovaskulären Mortalität und Gesamtmortalität müssen auch die Relationen von Lathosterol zu Cholesterin und Cholestanol zu Cholesterin in der Einheit $\mu\text{mol}/\text{mmol}$ statistisch ausgewertet werden. Zusätzlich wurden auch wichtige Risikofaktoren für die statistische Auswertung bestimmt. Für die AURORA Studie wurden die Risikofaktoren *male gender, age, body mass index (kg/m²), hypertension yes/no, total cholesterol (mg/dl), LDL cholesterol (mg/dl), HDL cholesterol (mg/dl), triglycerides (mg/dl), CRP (mg/l), NTproBNP, troponin I and galectin-3* berücksichtigt.

Basierend auf den Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen werden für die Kohortenstudie drei Modelle erstellt. Modell 1 wurde als *unadjusted*, Modell 2 als *adjusted for age, gender* und Modell 3 als *adjusted for age, gender, body mass index, hypertension, CRP* definiert. Diese Modelle dienten als Cox-Proportional-Hazard-Modelle um die Assoziation der Risikofaktoren auf die kardiovaskuläre Mortalität und

auf die Gesamtmortalität zu bestimmen. [2, 3, 62]

Welche statistischen Modelle für die AURORA Studie verwendet wurden, wird als nächstes behandelt.

2.5 Verwendete statistisches Modelle der AURORA Studie

Alle statistischen Analysen wurden mit der R-Software durchgeführt. Für die Auswertung wurde das zweiseitige Signifikanzniveau verwendet, wobei für den Signifikanztest $p < 0,05$ eingestellt wurde. Kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung oder als Median (= Interquartil) beschrieben. Wenn die Verteilung verzerrt war, wurden die kategorialen Variablen als Häufigkeit in Prozent angegeben. [58, 59, 60, 61, 62]

Die Ausgangsmerkmale zwischen Patient*innen, die eine Rosuvastatin oder eine Placebo Behandlung erhielten, wurden mit dem t-Test oder dem nicht parametrischen Wilcoxon-Test für kontinuierliche Variablen durchgeführt und verglichen. Für die kategorialen Variablen wurde der Fisher-Test verwendet. [58-61]

Der Vergleich der kardiovaskulären Risikofaktoren wurde gemäß der Terzilen der Sterolderivate unter Verwendung des ANOVA-Tests (= Analysis of Variance Test) oder des nicht parametrischen Kruskal-Wallis-Tests für kontinuierliche Variablen. Für die kategorialen Variablen wurde der Fisher Test durchgeführt. [58, 59, 60, 61]

Um den Zusammenhang zwischen Sterolderivaten und kardiovaskulären Mortalität bzw. Gesamtmortalität zu beurteilen, wurde für die Berechnung des Prognose-Faktors das Cox-Modell durchgeführt. Der Hazard Ratios (= HR) ist mit einem 95% Konfidenzintervall als HR (CI 95%) dargestellt. Dabei wird die Untersuchung der Wechselwirkungen zwischen Sterolderivaten und der Behandlung im Cox-Modell verglichen. Die Rosuvastatin Behandlung und das Placebo (Referenzwert) wurden im HR mit $HR > 1$: *Placebo war besser* oder $HR < 1$: *Rosuvastatin war besser* beschrieben. Der prognostische Wert wurde auf 3,5 Jahre berechnet. Es war kein signifikanter Unterschied zwischen der Rosuvastatin-Gruppe und der Placebo-Gruppe nachweisbar. [58, 59, 60, 61]

Der Chi²-Test wird für die Analyse von Häufigkeiten verwendet. Der Chi²-Test kann somit zwei Alternativmerkmale auf ihre Abhängigkeit oder Unabhängigkeit miteinander vergleichen. ^[57]

Der Kruskal-Wallis-Test ist ein nicht-parametrisches Testverfahren, welches anhand der Varianzanalyse unabhängige Stichproben, die einer gemeinsamen ordinalskalierten Population entstammen, testet. Der Unterschied zum U-Test ist, dass der Kruskal-Wallis-Test mehr als zwei Stichproben analysiert. ^[57]

Der Fishers exakter Test stellt einen Signifikanztest durch den Vergleich von Häufigkeiten zweier unabhängigen Stichproben in einer Kontingenztafel dar. Im Gegenzug zum Chi²-Test gibt es keine Voraussetzungen für den Stichprobenumfang. ^[57]

Mit dem Wilcoxon-Test wird überprüft, ob der Median einer Stichprobe vom Sollwert abweicht oder nicht. Eine wichtige Voraussetzung für die Verwendung des Wilcoxon-Tests ist, dass eine symmetrische und nicht-parametrische bzw. keine Normalverteilung vorherrscht. ^[57]

Mit dem t-Test werden die Mittelwerte von zwei Stichproben verglichen. Die Voraussetzungen für den t-Test ist eine Normalverteilung (parametrisches Testverfahren) und bei zwei unabhängigen Stichproben muss noch die Varianz denselben Wert haben. ^[57]

Time-to-Event-Analysen wurden für die Berechnung des prognostischen Faktors des Cox-Modells verwendet. Vorerst muss die Hazard-Ratio (= relatives Risiko) berechnet werden, allerdings gehen wir beim Cox-Modell von einer konstanten Hazard-Ratio aus. Dadurch werden Zusammenhänge mit bestimmten Einflussgrößen für die Hazard-Ratio bestimmt. Wichtig ist, dass ein bestimmter Zeitraum für die Überlebensrate bestimmt wird. In dieser Studie wird eine 3,5-Jahre-Überlebensrate angenommen. ^[57,62] Für den Vergleich von mehreren Mittelwerten kann der ANOVA verwendet werden. Hierbei wird untersucht, welchen Einfluss verschiedene unabhängige Variablen auf abhängige Variablen haben. ^[57]

3 Ergebnisse

3.1 Rosuvastatin-Gruppe und Placebo-Gruppe

Das Hauptziel der AURORA-Studie war den Effekt der Behandlung mit Rosuvastatin über einen Zeitraum von 3,5 Jahren im Vergleich zu einer Placebo-Gruppe zu untersuchen. Dazu wurde das Studienkollektiv in eine Placebo-Gruppe mit 1164 Teilnehmer*innen und in eine Rosuvastatin-Gruppe mit 1181 Teilnehmer*innen aufgeteilt. Bevor die Daten statistisch ausgewertet werden konnten, wurden die wichtigsten Risikofaktoren, in diesem Fall sämtliche Parameter, die die kardiovaskuläre Mortalität und die Gesamtmortalität beeinflussen können, gesammelt. Die wichtigsten Risikofaktoren sind in Tabelle 2 aufgelistet. Beide Gruppen zeigen keinen Unterschied in den Baseline-Daten. Daher können für die Auswertungen der vorliegenden Arbeit die Daten der beiden Gruppen zu einer Kohorte zusammengefasst werden.

Tabelle 2: Kardiovaskuläre Risikofaktoren der Studienkohorte bei der *Baseline-Visite*, aufgeteilt in Placebo-Gruppe und Rosuvastatin-Gruppe.

Risikofaktoren	Placebo (n=1164)	Rosuvastatin (n=1181)	p-value*
Age (years)	64.4 ± 8.8	64.1 ± 8.6	0.42
Female	429 (36.9 %)	460 (39.0 %)	0.31
Body mass index (kg/m²)	25.3 ± 5.2	25.2 ± 4.7	0.70
Total cholesterol (mmol/L)	4.49 ± 1.09	4.55 ± 1.10	0.24
LDL cholesterol (mmol/L)	2.55 ± 0.88	2.58 ± 0.90	0.43
HDL cholesterol (mmol/L)	1.16 ± 0.42	1.17 ± 0.38	0.53
Triglycerides (mmol/L)	1.72 ± 1.07	1.73 ± 1.05	0.73
hsCRP (mg/dL)	0.54 (0.22 - 1.50)	0.48 (0.20 - 1.37)	0.067

Die Daten werden als Mittelwerte ± Standardabweichung, Median (Q1 – Q3) oder Häufigkeit in Prozent angezeigt. Die *p-value** wurden durch den t-Test, die Mediane durch den Wilcoxon Test und die prozentuellen Häufigkeiten durch den genauen Fisher-Test berechnet.

Weiters werden auch die wichtigsten Sterolparameter der Rosuvastatin-Gruppe und Placebo-Gruppe miteinander verglichen. Die Ergebnisse sind in Tabelle 3 aufgelistet. Auch hier ergibt sich kein Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Daher lassen sich die Daten der Lathosterolkonzentration, Cholestanolkonzentration, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio* in der gesamten

Studienkohorte auswerten, ohne zwischen Rosuvastatin-Gruppe und Placebo-Gruppe zu unterscheiden.

Tabelle 3: Hier werden die Sterolparameter zwischen der Rosuvastatin-Gruppe und Placebo-Gruppe miteinander verglichen.

Sterol Parameter	Placebo (n=1164)	Rosuvastatin (n=1181)	p-value*
Lathosterol (µmol/L)	2.31 (1.28 – 4.43)	2.26 (1.25 – 4.24)	0.39
Cholestanol (µmol/L)	4.56 (2.59 – 7.58)	4.33 (2.52 – 7.34)	0.38
Lathosterol/Cholesterin ratio (µmol/mmol)	0.54 (0.29 – 1.02)	0.51 (0.28 – 0.95)	0.25
Cholestanol/Cholesterin ratio (µmol/mmol)	1.03 (0.59 – 1.75)	0.99 (0.59 – 1.69)	0.28

Die Daten werden als Median (Q1 – Q3) angezeigt. Die *p-value** wurden durch den Wilcoxon Test berechnet.

Als nächstes werden mögliche Assoziationen der Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen mit den Daten der Lathosterolkonzentration, Cholestanolkonzentration, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio* verglichen.

3.2 Assoziation der Risikofaktoren mit kardiovaskulären Erkrankungen.

Um auf mögliche Assoziationen der Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen zu schließen, werden die Daten anhand der Konzentration der jeweiligen Sterolparameter in Terzile unterteilt. Diese Terzile dienen als Gruppen, in welche sich jeweils ca. 1/3 der Anzahl der Dialysepatient*innen befinden. In den darauffolgenden Tabellen 4 bis 7 werden die Daten dieser Terzile in Bezug auf die Lathosterolkonzentration, Cholestanolkonzentration, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio* dargestellt.

Tabelle 4: Assoziation von Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen in Terzile, in Bezug auf die Lathosterolkonzentration.

	First tertile (n=782) 1.57 ≤ μmol/L	Second tertile (n=782) [1.57; 3.46] μmol/L	Third tertile (n=781) > 3.46 μmol/L	p-value*
Age (years)	64.0 ± 8.6	64.6 ± 8.6	64.2 ± 8.9	0.45
Male	451 (57.7 %)	505 (64.6 %)	500 (64.0 %)	0.008
Body mass index (kg/m²)	24.0 ± 4.3	25.4 ± 4.9	26.4 ± 5.2	<0.0001
Systemic hypertension	411 (52.6 %)	392 (50.2 %)	395 (50.6 %)	0.61
Total cholesterol (mmol/L)	4.36 ± 1.07	4.53 ± 1.02	4.67 ± 1.16	<0.0001
LDL cholesterol (mmol/L)	2.53 ± 0.86	2.59 ± 0.86	2.58 ± 0.95	0.36
HDL cholesterol (mmol/L)	1.15 ± 0.38	1.19 ± 0.41	1.16 ± 0.42	0.19
Triglycerides (mmol/L)	1.48 ± 0.75	1.65 ± 0.90	2.04 ± 1.35	<0.0001
hsCRP (mg/dL)	0.51 (0.20 - 1.69)	0.52 (0.21 - 1.36)	0.51 (0.22 - 1.32)	0.60
Troponin I (pg/mL)	18.8 (11.1 - 35.1)	17.3 (10.1 - 33.1)	15.9 (9.4 - 29.1)	0.002
Galectin 3 (ng/mL)	72.1 ± 26.1	68.2 ± 24.8	67.6 ± 24.0	0.0006
BNP (pg/mL)	149 (53 - 466)	113 (39 - 320)	91 (28 - 209)	<0.0001

Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung, Median (Q1 - Q3 Quartile) oder Häufigkeit (Prozentsatz) angezeigt. Die *p-value** für Mittelwerte wurden durch den ANOVA-Test, die Mediane durch den Kruskal-Wallis-Test und die Prozentsätze durch den genauen Fisher-Test berechnet.

Die Lathosterolkonzentration korreliert nicht mit dem Alter, dem Blutdruck und dem CRP. Die Lathosterolkonzentration ist hingegen signifikant mit dem männlichen Geschlecht und mit dem Body-Mass-Index assoziiert. Des weiteren korreliert die Lathosterolkonzentration auch mit der Gesamtcholesterinkonzentration und der Triglyzeridkonzentration. Als letztes wird noch eine Assoziation mit den Parametern Troponin I, Galectin 3 und BNP ersichtlich. Dabei finden sich die niedrigsten Konzentrationen der kardialen Marker BNP und Troponin I in der dritten Terzile von Lathosterol.

Als nächstes werden mögliche Assoziationen der Risikofaktoren mit der Cholestanolkonzentration für kardiovaskuläre Erkrankungen betrachtet. In diesem Aspekt geht es primär um die Cholesterinabsorption, welche mit der Gesamtcholesterinkonzentration, der LDL-Konzentration, der HDL-Konzentration und dem hsCRP-Wert assoziiert ist.

Die Cholestanolkonzentration zeigt außerdem keine Assoziationen mit dem Alter, Geschlecht, BMI, Blutdruck und der Triglyzeridkonzentration. Zusätzlich zeigt die Cholestanolkonzentration, im Gegensatz zur Lathosterolkonzentration, auch keine Assoziationen mit den kardiovaskulären Markern BNP, Troponin I und Galectin-3.

Tabelle 5: Assoziation von Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen in Terzile, in Bezug auf die Cholestanolkonzentration.

	First tertile (n=782) 3.16 ≤ μmol/L	Second tertile (n=782) [3.16; 6.22] μmol/L	Third tertile (n=781) > 6.22 μmol/L	p-value*
Age (years)	64.0 ± 8.7	64.2 ± 8.8	64.6 ± 8.6	0.31
Male	491 (62.8 %)	494 (63.2 %)	471 (60.3 %)	0.45
Body mass index (kg/m²)	25.4 ± 4.9	25.4 ± 5.1	25.0 ± 4.8	0.18
Systemic hypertension	386 (49.4 %)	401 (51.4 %)	411 (52.6 %)	0.43
Total Cholesterin (mmol/L)	4.40 ± 1.07	4.55 ± 1.08	4.61 ± 1.12	0.0005
LDL Cholesterin (mmol/L)	2.47 ± 0.89	2.60 ± 0.87	2.64 ± 0.91	0.0003
HDL Cholesterin (mmol/L)	1.13 ± 0.38	1.17 ± 0.40	1.20 ± 0.41	0.003
Triglycerides (mmol/L)	1.77 ± 1.01	1.70 ± 0.98	1.71 ± 1.17	0.41
hsCRP (mg/dL)	0.48 (0.20 - 1.37)	0.48 (0.19 - 1.35)	0.57 (0.24 - 1.62)	0.003
Troponin I (pg/mL)	17.9 (10.6 - 34.0)	17.3 (9.9 - 32.4)	16.4 (9.9 - 31.1)	0.29
Galectin 3 (ng/mL)	69.5 ± 25.7	69.6 ± 24.9	68.8 ± 24.5	0.77
BNP (pg/mL)	115 (37 - 307)	110 (41 - 300)	121 (37 - 341)	0.42

Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung, Median (Q1 - Q3 Quartile) oder Häufigkeit (Prozentsatz) angezeigt. Die p-value* für Mittelwerte wurden durch den ANOVA-Test, die Mediane durch den Kruskal-Wallis-Test und die Prozentsätze durch den genauen Fisher-Test berechnet.

Wenn man Tabelle 4 und 5 miteinander vergleicht, wird ersichtlich, dass unterschiedliche Risikofaktoren mit der Lathosterolkonzentration und mit der Cholestanolkonzentration im Zusammenhang stehen. Aus diesem Grund werden nun mögliche Assoziationen der Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen mit den *ratios* Lathosterol/Cholesterin und Cholestanol/Cholesterin betrachtet.

Das Lathosterol/Cholesterin *ratio* korreliert mit den Risikofaktoren Geschlecht, BMI, Gesamtcholesterinkonzentration, HDL-Konzentration, LDL-Konzentration, der Triglyzeridkonzentration und den kardiovaskulären Markern BNP, Troponin I und

Galectin-3.

Hingegen scheint die Lathosterol/Cholesterin ratio keine Assoziation mit dem Alter, dem Bluthochdruck und dem hsCRP-Wert zu haben.

Tabelle 6: Risikofaktoren für eine kardiovaskuläre Erkrankung in Terzile, in Bezug auf das Lathosterol/Cholesterin Verhältnis.

	First tertile (n=778) ≤ 0.36 μmol/mmol	Second tertile (n=777) [0.36; 0.77] μmol/mmol	Third tertile (n=777) > 0.77 μmol/mmol	p-value*
Age (years)	64.1 ± 8.8	64.7 ± 8.5	64.0 ± 8.8	0.20
Male	427 (54.9 %)	506 (65.1 %)	516 (66.4 %)	<0.0001
Body mass index (kg/m²)	24.1 ± 4.3	25.4 ± 4.8	26.3 ± 5.3	<0.0001
Systemic hypertension	408 (52.4 %)	379 (48.8 %)	402 (51.8 %)	0.32
Total Cholesterin (mmol/L)	4.68 ± 1.11	4.50 ± 1.04	4.38 ± 1.11	<0.0001
LDL Cholesterin (mmol/L)	2.78 ± 0.91	2.56 ± 0.83	2.37 ± 0.88	<0.0001
HDL Cholesterin (mmol/L)	1.17 ± 0.39	1.19 ± 0.42	1.13 ± 0.39	0.019
Triglycerides (mmol/L)	1.60 ± 0.83	1.65 ± 0.92	1.93 ± 1.33	<0.0001
hsCRP (mg/dL)	0.48 (0.20 - 1.56)	0.53 (0.22 - 1.43)	0.51 (0.21 - 1.31)	0.75
Troponin I (pg/mL)	18.9 (10.9 - 34.9)	17.3 (10.1 - 33.5)	16.4 (9.6 - 29.1)	0.019
Galectin 3 (ng/mL)	71.2 ± 25.6	68.4 ± 24.0	68.0 ± 24.2	0.020
BNP (pg/mL)	136 (46 - 370)	108 (39 - 320)	104 (30 - 242)	<0.0001

Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung, Median (Q1 - Q3 Quartile) oder Häufigkeit (Prozentsatz) angezeigt. Die p-value* für Mittelwerte wurden durch den ANOVA-Test, die Mediane durch den Kruskal-Wallis-Test und die Prozentsätze durch den genauen Fisher-Test berechnet.

Als nächstes werden die Risikofaktoren in Bezug auf das Cholestanol/Cholesterin *ratio* beschrieben. Das Cholestanol/Cholesterin *ratio* ist mit den Risikofaktoren Body-Mass-Index, der Gesamtcholesterinkonzentration, der LDL-Konzentration, der Triglyzeridkonzentration, dem hsCRP-Wert und dem kardiovaskulären Marker BNP assoziiert.

Es ergeben sich aber keine Assoziationen mit dem Alter, dem Geschlecht, dem Blutdruck, der HDL-Konzentration und den kardiovaskulären Markern Troponin I und Galectin 3.

Tabelle 7: Risikofaktoren für eine kardiovaskuläre Erkrankung in Terzile, in Bezug auf das Cholestanol/Cholesterin Verhältnis.

	First tertile (n=778) ≤ 0.71 μmol/mmol	Second tertile (n=777) [0.71; 1.39] μmol/mmol	Third tertile (n=777) > 1.39 μmol/mmol	p-value*
Age (years)	64.1 ± 8.6	64.2 ± 8.9	64.5 ± 8.6	0.60
Male	459 (59.0 %)	500 (64.4 %)	490 (63.1 %)	0.076
Body mass index (kg/m²)	25.5 ± 4.9	25.5 ± 5.0	24.8 ± 4.8	0.004
Systemic hypertension	382 (49.1 %)	387 (49.9 %)	420 (54.1 %)	0.11
Total Cholesterin (mmol/L)	4.74 ± 1.14	4.55 ± 1.04	4.27 ± 1.04	<0.0001
LDL Cholesterin (mmol/L)	2.70 ± 0.94	2.60 ± 0.85	2.41 ± 0.85	<0.0001
HDL Cholesterin (mmol/L)	1.16 ± 0.41	1.17 ± 0.39	1.17 ± 0.41	0.86
Triglycerides (mmol/L)	1.90 ± 1.11	1.73 ± 1.15	1.54 ± 0.86	<0.0001
hsCRP (mg/dL)	0.48 (0.21 - 1.35)	0.46 (0.19 - 1.40)	0.57 (0.25 - 1.62)	0.002
Troponin I (pg/mL)	17.6 (10.8 - 33.2)	16.8 (9.7 - 30.9)	17.9 (9.9 - 34.2)	0.21
Galectin 3 (ng/mL)	68.9 ± 25.0	68.6 ± 23.5	70.1 ± 25.4	0.48
BNP (pg/mL)	101 (34 - 283)	111 (41 - 266)	142 (44 - 461)	<0.0001

Die Daten werden als Mittelwert ± Standardabweichung, Median (Q1 - Q3 Quartile) oder Häufigkeit (Prozentsatz) angezeigt. Die *p-value** für Mittelwerte wurden durch den ANOVA-Test, die Mediane durch den Kruskal-Wallis-Test und die Prozentsätze durch den genauen Fisher-Test berechnet.

Als nächstes werden mögliche Assoziationen der Lathosterolkonzentration, der Cholestanolkonzentration, der Lathosterol/Cholesterin *ratio* und der Cholestanol/Cholesterin *ratio*, unter Berücksichtigung der Risikofaktoren, mit der kardiovaskulären Mortalität betrachtet.

3.3 Kardiovaskuläre Mortalität

Um die Assoziationen der Lathosterolkonzentration, Cholestanolkonzentration, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio* mit der kardiovaskulären Mortalität zu untersuchen, wurden die jeweiligen Konzentrationen bzw. *ratios* in Terzile eingeteilt. Hierfür wurden drei statistische Modelle erstellt. Das erste Modell wurde nicht auf Risikofaktoren adjustiert, das zweite Modell wurde auf das Geschlecht und das Alter der Dialysepatient*innen adjustiert und das dritte Modell ist zusätzlich zum Geschlecht und Alter auch auf die etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren, wie BMI-Wert, Bluthochdruck, CRP und Therapiegruppe (Rosuvastatin oder Placebo) adjustiert. Dadurch wird der Einfluss der Risikofaktoren auf die HR berücksichtigt. Als Referenz zur Berechnung der HR und den 95% Konfidenzintervallen wird die erste Terzile verwendet. Die berechneten Ergebnisse für Lathosterol, Cholestanol, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio* sind in Tabelle 8 aufgelistet.

Die Lathosterolkonzentration zeigt die stärkste signifikante Assoziation mit der kardiovaskulären Mortalität im höchsten Terzil des dritten Modells. Der Zusammenhang bleibt auch im ersten und zweiten Modell nach dem Adjustieren auf das Alter und Geschlecht in den höchsten Terzilen signifikant. Nach Adjustieren auf die etablierten Risikofaktoren liegt die HR bei 0,71 (95% CI: 0,58-0,88, $p = 0,001$). Die Lathosterolkonzentration zeigt somit eine Assoziation mit der kardiovaskulären Mortalität mit oder ohne Adjustierung auf Risikofaktoren.

Die Cholestanolkonzentration hingegen zeigt keine signifikanten Assoziationen auf die kardiovaskuläre Mortalität in sämtlichen Modellen. Auch das HR im höchsten Terzil im nicht-adjustierten Modell liegt bei 1,20 (95% CI: 0,99-1,46, $p = 0,066$), wodurch eine Assoziation ausgeschlossen werden kann.

Das Lathosterol/Cholesterin *ratio* zeigt in allen Modellen in den höchsten Terzilen Assoziationen mit der kardiovaskulären Mortalität. Die stärkste Assoziation zeigt sich im dritten Modell im höchsten Terzil. Hier liegt die HR bei 0,78 (95% CI: 0,64-0,96, $p = 0,019$).

Als letztes werden die Ergebnisse der Cholestanol/Cholesterin *ratio* auf ihre Signifikanz getestet. Das Cholestanol/Cholesterin *ratio* zeigt Assoziationen mit der

kardiovaskulären Mortalität in allen Modellen in den höchsten Terzilen. Nach Adjustieren auf Alter und Geschlecht bleibt die HR gleich, während sie im dritten Modell etwas abgeschwächt wird, aber dennoch signifikant bleibt. Die stärkste Assoziation wird in dem nicht-adjustierten Modell in der höchsten Terzile gemessen, bei einem HR bei 1,36 (95% CI: 1,11-1,65, $p = 0,002$).

Zusammengefasst zeigt sich eine erhöhte kardiovaskuläre Mortalität bei einer niedrigen Lathosterol/Cholesterin *ratio* und bei einer hohen Cholestanol/Cholesterin *ratio*.

Als nächstes werden mögliche Assoziationen der Lathosterolkonzentration, Cholestanolkonzentration, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio*, unter Berücksichtigung der Risikofaktoren, mit der Gesamtmortalität berechnet. Hierfür werden sämtliche Todesursachen mitberücksichtigt.

Tabelle 8: Assoziationen der Steroiderivate mit dem kardiovaskulären Tod. Die Ergebnisse sind in Terzile aufgeteilt, wobei das erste Terzil als Referenzwert verwendet wird.

	<i>N_{CV death}</i> / <i>N</i> (%)	Modell 1		Modell 2		Modell 3	
		HR (CI 95%)	<i>p</i> -value	HR (CI 95%)	<i>p</i> -value	HR (CI 95%)	<i>p</i> -value
Lathosterol							
First tertile (ref.)	219/782 (28.0%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	203/782 (26.0%)	0.89 (0.74 - 1.08)	0.23	0.87 (0.72 - 1.05)	0.15	0.87 (0.72 - 1.06)	0.16
Third tertile	176/781 (22.5%)	0.75 (0.61 - 0.91)	0.004	0.73 (0.60 - 0.89)	0.002	0.71 (0.58 - 0.88)	0.001
Cholestanol							
First tertile (ref.)	191/782 (24.4%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	192/782 (24.6%)	1.02 (0.84 - 1.25)	0.82	1.02 (0.83 - 1.25)	0.85	1.03 (0.84 - 1.26)	0.75
Third tertile	215/781 (27.5%)	1.20 (0.99 - 1.46)	0.066	1.18 (0.97 - 1.43)	0.099	1.08 (0.88 - 1.31)	0.47
Lathosterol/Cholesterol							
First tertile (ref.)	213/778 (27.4%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	200/777 (25.7%)	0.92 (0.76 - 1.11)	0.38	0.89 (0.73 - 1.08)	0.24	0.88 (0.72 - 1.07)	0.20
Third tertile	182/777 (23.4%)	0.81 (0.67 - 0.99)	0.041	0.80 (0.65 - 0.97)	0.027	0.78 (0.64 - 0.96)	0.019
Cholestanol/Cholesterol							
First tertile (ref.)	183/778 (23.5%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	189/777 (24.3%)	1.06 (0.87 - 1.30)	0.55	1.05 (0.86 - 1.29)	0.64	1.06 (0.86 - 1.30)	0.60
Third tertile	223/777 (28.7%)	1.36 (1.11 - 1.65)	0.002	1.33 (1.09 - 1.62)	0.004	1.24 (1.02 - 1.52)	0.034

Modell 1: Nicht angepasst.

Modell 2: Angepasst an Alter und Geschlecht.

Modell 3: Angepasst an Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, systemische Hypertonie, Diabetes, Rauchen, log hsCRP und Behandlungsgruppe (Rosuvastatin vs. Placebo).

3.4 Gesamtmortalität

Auch hier wurden die Lathosterolkonzentration, Cholestanolkonzentration, Lathosterol/Cholesterin *ratio* und Cholestanol/Cholesterin *ratio* in Terzile und drei Modelle eingeteilt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 9 aufgelistet.

Die Lathosterolkonzentration zeigt eine signifikante Assoziation mit der Gesamtmortalität in der höchsten Terzile in allen drei Modellen. Der Zusammenhang bleibt auch signifikant im dritten Modell nach Adjustieren auf die etablierten Risikofaktoren. Die stärkste Assoziation zeigt sich aber im zweiten Modell, welches auf das Alter und das Geschlecht adjustiert wurde, bei einem HR von 0,80 (95% CI: 0,69-0,92, $p = 0,002$). Die Lathosterolkonzentration zeigt somit eine Assoziation mit der Gesamtmortalität mit oder ohne Adjustierung auf Risikofaktoren. Diese Ergebnisse sind mit den Ergebnissen der kardiovaskulären Mortalität vergleichbar. Die stärkste Assoziation bei der kardiovaskulären Mortalität lag jedoch im dritten Modell in der höchsten Terzile.

Im Gegensatz zur kardiovaskulären Mortalität zeigt die Cholestanolkonzentration in der höchsten Terzile im nicht-adjustierten Modell und im Alter und Geschlecht adjustiertem Modell eine signifikante Assoziation. Die stärkste Assoziation zeigt sich hier beim nicht-adjustierten Modell in der höchsten Terzile mit einem HR von 1,23 (95% CI: 1,07-1,42, $p = 0,005$).

Bei der Lathosterol/Cholesterin *ratio* sind keine signifikanten Assoziationen berechnet worden, wodurch eine Assoziation ausgeschlossen werden kann. Während bei der kardiovaskulären Mortalität hingegen sehr wohl eine Assoziation in den höchsten Terzilen in allen Modellen berechnet wurde.

Die Cholestanol/Cholesterin *ratio* zeigt in den höchsten Terzilen in allen Modellen eine signifikante Assoziation mit der Gesamtmortalität. Die stärkste Assoziation weist das höchste Terzil im nicht-adjustierten Modell auf mit einem HR von 1,34 (95% CI: 1,16-1,55, $p = <0,0001$). Die Assoziationen nehmen im zweiten und dritten Modell zwar etwas ab, bleiben aber dennoch im signifikanten Bereich. Eine ähnliche Abnahme der Assoziationen kann auch bei der kardiovaskulären Mortalität beobachten werden.

Bei der Gesamtmortalität zeigt sich eine Erhöhung im höchstem Cholestanol/Cholesterin *ratio* Terzil.

Tabelle 9: Assoziationen der Sterolderivate mit der Gesamtmortalität Die Ergebnisse sind in Terzile aufgeteilt, wobei das erste Terzil als Referenzwert verwendet wird.

	N _{death} /N (%)	Modell 1		Modell 2		Modell 3	
		HR (CI 95%)	p-value	HR (CI 95%)	p-value	HR (CI 95%)	p-value
Lathosterol							
First tertile (ref.)	388/782 (49.6%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	365/782 (46.7%)	0.89 (0.77 - 1.03)	0.12	0.87 (0.76 - 1.01)	0.064	0.88 (0.76 - 1.02)	0.085
Third tertile	341/781 (43.7%)	0.81 (0.70 - 0.94)	0.005	0.80 (0.69 - 0.92)	0.002	0.81 (0.70 - 0.95)	0.007
Cholestanol							
First tertile (ref.)	344/782 (44.0%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	353/782 (45.1%)	1.04 (0.90 - 1.21)	0.59	1.04 (0.90 - 1.21)	0.60	1.04 (0.89 - 1.20)	0.65
Third tertile	397/781 (50.8%)	1.23 (1.07 - 1.42)	0.005	1.21 (1.05 - 1.40)	0.010	1.10 (0.95 - 1.28)	0.20
Lathosterol/Cholesterol							
First tertile (ref.)	376/778 (48.3%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	358/777 (46.1%)	0.92 (0.80 - 1.06)	0.26	0.90 (0.77 - 1.04)	0.14	0.89 (0.77 - 1.03)	0.12
Third tertile	353/777 (45.4%)	0.89 (0.77 - 1.03)	0.11	0.87 (0.76 - 1.01)	0.070	0.90 (0.77 - 1.04)	0.16
Cholestanol/Cholesterol							
First tertile (ref.)	342/778 (44.0%)	1.00	-	1.00	-	1.00	-
Second tertile	334/777 (43.0%)	1.01 (0.87 - 1.17)	0.94	0.99 (0.85 - 1.15)	0.92	0.98 (0.85 - 1.15)	0.83
Third tertile	411/777 (52.9%)	1.34 (1.16 - 1.55)	<0.0001	1.31 (1.14 - 1.52)	0.0002	1.21 (1.05 - 1.40)	0.009

Modell 1: Nicht angepasst.

Modell 2: Angepasst an Alter und Geschlecht.

Modell 3: Angepasst an Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, systemische Hypertonie, log hsCRP und Behandlungsgruppe (Rosuvastatin vs. Placebo).

3.5 Phytosterole

Für die AURORA Studie wurden die Plasmakonzentrationen von Campesterol, Cholestanol, Lathosterol und Sitosterol gemessen. Statistisch wurden danach die Assoziationen der Sterolderivate mit möglichen Risikofaktoren, mit der kardiovaskulären Mortalität und der Gesamtmortalität berechnet. Zusätzlich wurden auch mögliche Assoziationen in Bezug auf die *ratios* von allen Sterolderivaten mit Cholesterin berechnet. Bei der Beschreibung der Ergebnisse wurde auf Campesterol und Sitosterol verzichtet, weil keine Assoziationen zwischen den Risikofaktoren, der kardiovaskulären Mortalität und der Gesamtmortalität beobachtet wurden.

Campesterol und Sitosterol sind Phytosterole, welche im menschlichen Körper nicht synthetisiert, aber absorbiert werden, wodurch sie als wichtige Marker für die Cholesterinabsorption verwendet werden können. [2, 54]

Da die Ergebnisse von Campesterol und Sitosterol nicht signifikant waren, wurde auf die Interpretationen der Ergebnisse verzichtet.

3.6 Prognose

Als nächstes wird eine mögliche Assoziation der Lathosterol/Cholesterin *ratio* und der Cholestanol/Cholesterin *ratio* mit dem prognostischen Verlauf der Dialysepatient*innen, bezogen auf die kardiovaskuläre Mortalität, berechnet. Hierfür wurden zwei klinische Modelle erstellt. Im ersten klinischen Modell konzentriert man sich auf das Alter und das Geschlecht der Dialysepatient*innen und im zweiten Modell fokussiert man sich auf das Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, systemische Hypertonie, log hsCRP und Behandlungsgruppe (Rosuvastatin vs. Placebo). Die berechneten Werte sind in Tabelle 10 aufgelistet.

Der *p-value* des cNRI der Lathosterol/Cholesterin *ratio* zeigt im zweiten Modell keine Signifikanz, aber im dritten Modell ist eine signifikante Assoziation im prognostischen Verlauf zu sehen. Die *p-values* der IDI der Lathosterol/Cholesterin *ratio* zeigen sowohl im zweiten als auch im dritten Modell eine signifikante Assoziation im prognostischen Verlauf der kardiovaskulären Mortalität.

Bei diesen Ergebnissen wird die Annahme deutlich, dass das Einbeziehen von mehreren Risikofaktoren die Prognose signifikant verbessert.

Zu guter Letzt sollten auch die *p-values* der cNRI und IDI der Cholestanol/Cholesterin *ratio* betrachtet werden. Es ergeben sich nur im zweiten Modell signifikante Assoziationen im prognostischen Verlauf. Das dritte Modell weist keine signifikanten Assoziationen im Hinblick auf die Prognose auf.

Hier wird die Annahme deutlich, dass das Alter und das Geschlecht bei der Cholestanol/Cholesterin *ratio* eine wichtige Rolle in der Prognose spielen.

Tabelle 10: Hier werden die prognostischen Werte Lathosterol/Cholesterol und Cholestanol/Cholesterol *ratio* in Bezug auf klinische Variablen (primärer Endpunkt) dargestellt. Hier werden der *net reclassification index (NRI)* und der *integrated discrimination index (IDI)* verwendet um den prognostischen Verlauf von 3,5 Jahren, bezogen auf die kardiovaskuläre Mortalität, zu berechnen.

	C-index for clinical model + sterol	cNRI at 3.5 years		IDI at 3.5 years	
		Value (CI 95%)	p-value	Value (CI 95%)	p-value
Clinical model 2*					
Lathosterol/Cholesterol	59.4 (57.0 to 61.7)	17.3 (-0.4 to 22.5)	0.056	0.2 (0.0 to 0.8)	0.028
Cholestanol/Cholesterol	59.7 (57.4 to 62.0)	17.2 (5.1 to 26.6)	0.006	0.4 (0.1 to 1.1)	0.004
Clinical model 3**					
Lathosterol/Cholesterol	64.6 (62.4 to 66.9)	10.8 (0.2 to 21.6)	0.046	0.3 (0.0 to 0.9)	0.026
Cholestanol/Cholesterol	64.7 (62.4 to 67.0)	16.7 (-1.1 to 25.1)	0.058	0.2 (0.0 to 0.8)	0.064

* Klinisches Modell 2 umfasste Alter, Geschlecht.

** Das klinische Modell 3 umfasste Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, systemische Hypertonie, log hsCRP, Behandlungsgruppe (Rosuvastatin vs. Placebo).

Als letztes müssen Assoziationen des prognostischen Verlaufs bezogen auf die Gesamtmortalität mit Berücksichtigung klinischer Aspekte berechnet werden. Die berechneten Werte sind in Tabelle 11 aufgelistet. Auch hier werden dieselben zwei klinische Modelle für die Berechnung des prognostischen Verlaufs verwendet, wie bei der kardiovaskulären Mortalität zuvor.

Beim Lathosterol/Cholesterin *ratio* sind für den *p-value* vom cNRI und für den *p-value* vom IDI in beiden klinischen Modellen keine signifikanten Assoziationen berechnet worden.

Im Cholestanol/Cholesterin *ratio* hingegen befinden sich die *p-values* vom cNRI und IDI in beiden klinischen Modellen unterhalb des signifikanten Niveaus. Somit hat die Cholestanolkonzentration im Verhältnis zur Gesamtcholesterinkonzentration im Blutplasma eine signifikante Assoziation mit der klinischen Prognose.

Auch hier wird deutlich, dass das Alter und Geschlecht die wichtigsten Risikofaktoren für die Prognose in Bezug auf die Cholestanol/Cholesterin *ratio* sind.

Im folgenden Kapitel werden nicht nur die Ergebnisse näher erläutert, es werden auch mögliche Erklärungen besprochen, welche eventuell zu diesen Ergebnissen geführt haben könnten.

Tabelle 11: Hier werden die prognostischen Werte der Steroiderivate, mit Berücksichtigung auf klinische Variablen, dargestellt. Hier werden der *net reclassification index (NRI)* und der *integrated discrimination index (IDI)* verwendet um den prognostischen Verlauf von 3,5 Jahren, bezogen auf die Gesamtmortalität, zu berechnen.

	C-index for clinical model + steroid	cNRI at 3.5 years		IDI at 3.5 years	
		Value (CI 95%)	p-value	Value (CI 95%)	p-value
Clinical model 2*					
Lathosterol/Cholesterol	59.7 (58.0 to 61.4)	4.1 (-1.8 to 17.1)	0.15	0.1 (0.0 to 0.6)	0.094
Cholestanol/Cholesterol	60.2 (58.5 to 61.9)	16.6 (8.0 to 25.0)	0.004	0.6 (0.2 to 1.4)	<0.0001
Clinical model 3**					
Lathosterol/Cholesterol	65.0 (63.3 to 66.7)	5.8 (-4.1 to 15.0)	0.24	0.1 (0.0 to 0.5)	0.14
Cholestanol/Cholesterol	65.3 (63.6 to 67.0)	16.3 (0.7 to 24.2)	0.042	0.3 (0.0 to 0.8)	0.028

* Klinisches Modell 2 umfasst Alter, Geschlecht.

** Das klinische Modell 3 umfasst Alter, Geschlecht, Body-Mass-Index, systemische Hypertonie, log hsCRP, Behandlungsgruppe (Rosuvastatin vs. Placebo).

4 Diskussion

In dieser Studie wurden prospektiv die Assoziationen verschiedener Parameter der Cholesterinbiosynthese und der Cholesterinabsorption mit der Gesamtmortalität und der kardiovaskulären Mortalität bei Patient*innen mit terminaler Niereninsuffizienz untersucht. Die Lathosterolkonzentration und das Lathosterol/Cholesterin *ratio* dienten dabei als Biomarker für die Cholesterinbiosynthese, während die Cholestanolkonzentration und das Cholestanol/Cholesterin *ratio* als Biomarker für die Cholesterinaufnahme verwendet wurden. Eine direkte Bestimmung der Cholesterinbiosynthese ist aufwändig und methodisch sehr schwierig. Die non-Cholesterin Sterole und insbesondere die *ratios* mit Cholesterin gelten als gute Surrogatmarker. In klinischen Studien korrelierten sie sehr gut mit der direkten Bestimmung der Cholesterinbiosynthese.

Die Ergebnisse der Studie zeigten, dass die Cholesterinbiosynthese und die Cholesterinabsorption unterschiedlich mit der kardiovaskulären Mortalität assoziiert sind. Es ist wichtig hier zu erwähnen, dass die Assoziation der Sterole unabhängig von den bisher etablierten Risikomarkern ist. Nichtsdestotrotz sind andere Risikofaktoren wie z. B. Rauchen, Diabetes, Adipositas und erhöhter CRP nicht zu vernachlässigen. Demzufolge wurden alle wichtigen Risikofaktoren für die statistischen Analysen in diese Kohortenstudie miteinbezogen. Aus den ausgewerteten Ergebnissen, ersichtlich in Tabelle 2 bis 11, wird deutlich, dass die Lathosterol/Cholesterin *ratio* sowie die Cholestanol/Cholesterin *ratio* mit der kardiovaskulären Mortalität assoziiert ist. Je niedriger das Verhältnis von Lathosterol zu Cholesterin ist, umso günstiger ist der prognostische Verlauf der kardiovaskulären Erkrankungen, während sich bei einem hohen Verhältnis zwischen Cholestanol zu Cholesterin das Risiko einer kardiovaskulären Erkrankung erhöht. Das deutet darauf hin, dass das Verhältnis von Cholesterinbiosynthese und Cholesterinabsorption einen Einfluss auf die Entwicklung kardiovaskulärer Erkrankungen hat und als entsprechender Biomarker die Risikovorhersage verbessern könnte. Es sei noch zu erwähnen, dass die Lathosterolkonzentration und das Lathosterol/Cholesterin *ratio* für die Risikoabschätzung bei der kardiovaskulären Mortalität am genauesten ist, wenn viele

Risikofaktoren mitberücksichtigt werden. Die Cholestanolkonzentration und das Cholestanol/Cholesterin *ratio* hingegen scheinen bei der Risikoabschätzung der Gesamtmortalität unabhängiger von den Risikofaktoren zu sein. [2; 3; 14; 62; 65]

Bei den Dialysepatient*innen der AURORA-Studie besteht eine Assoziation zwischen hoher Cholesterinabsorption, niedriger Cholesterinbiosynthese und dem Schweregrad der kardiovaskulären Mortalität. Andere Sterolderivate, wie die Phytosterole, Campesterol und Sitosterol zeigten hinsichtlich der Ergebnisse und der statistischen Auswertung keinen signifikanten Zusammenhang mit der kardiovaskulären Mortalität, Gesamtmortalität oder mit den prognostischen Werten beider Mortalitäten.

Es ist zurzeit noch umstritten, ob Phytosterole ein kardiovaskuläres Risiko darstellen oder nicht. Es gibt klinische Studien, die einen positiven Einfluss auf die Prognose bei kardiovaskulären Erkrankungen beschreiben. In weiteren Studien wird einer erhöhten Cholesterinabsorption eine Atherosklerose verstärkende Wirkung zugeschrieben, während andere Studien Phytosterole ebenfalls als potenziell gefährlich ansehen. Diesbezüglich sollten zwei Studien, nämlich die *Dallas Heart Study* und die *European Prospective In-Investigation of Cancer-Norfolk-Studie*, genannt werden, welche einen positiven Effekt auf den kardiovaskulären Tod nachweisen konnten. Auch die LURIC-Studie konnte keinen nachteiligen Einfluss von Phytosterolen auf die kardiovaskuläre Mortalität belegen. Phytosterole sind nur dann als gefährlich einzustufen, wenn Patient*innen an Sitosterolämie leiden und dadurch eine 100-fach erhöhte Plasmakonzentration von Phytosterolen im Blutplasma aufweisen. Ansonsten haben Phytosterole in Tiermodellen einen positiven Einfluss auf den Verlauf der Atherosklerose gezeigt. An dieser Stelle sei erwähnt, dass die regelmäßige Einnahme von Phytosterolen zu einer Senkung des LDL-Cholesterins um ca. 10% führen kann. Phytosterole akkumulieren in Plaques offensichtlich nicht überproportional im Vergleich zu Cholesterin, was die nachgesagte Atherosklerose-fördernde Eigenschaft für unwahrscheinlich erscheinen lässt. [67 - 85]

Die Ergebnisse der AURORA Studie stehen im Einklang mit den Ergebnissen der LURIC-Studie aus dem Jahre 2009, welche ebenfalls eine Assoziation einer hohen Cholesterinabsorption und einer niedrigen Cholesterinbiosynthese mit dem

prognostischen Verlauf von kardiovaskulären Erkrankungen bei Dialysepatient*innen mit normaler bis moderater Niereninsuffizienz berichtet. Die pathophysiologischen Mechanismen einer Atherosklerose und die darauffolgenden vaskulären Erkrankungen sind noch nicht vollständig geklärt. Gewiss ist, dass die therapeutische Behandlung mit Statinen nur zu einer Reduktion der Cholesterinbiosynthese führt und keine Reduktion der Cholesterinabsorption bewirkt. Die Konzentration der Plasmakonzentration des LDL-Cholesterins hängt von der Cholesterinbiosynthese und der Cholesterinabsorption ab. Demzufolge wäre eine Behandlung von kardiovaskulären Erkrankungen effizienter, wenn man sowohl die Cholesterinbiosynthese als auch die Cholesterinabsorption senken würden. [2; 3; 11; 50; 52; 62; 64; 65; 66]

Um eine Senkung der Cholesterinabsorption zu erhalten, wird Ezetimib verwendet. Die LDL-Cholesterinkonzentration im Blutplasma kann durch eine Kombination von Ezetimib und Statinen effizient gesenkt werden. Dies wurde in Studien getestet, welche nachweisen konnten, dass die duale Hemmung der Cholesterinabsorption und Cholesterinbiosynthese zu einer hochwirksamen und gut verträglichen Lipidsenkung bei Patient*innen mit primärer Hypercholesterinämie geführt haben. Die aktuellen Erkenntnisse legen nahe, dass im Falle einer chronischen Niereninsuffizienz und Nierentransplantation die Zugabe von Ezetimib zu Statin wirksam und sicher ist. Ezetimib kann somit auch bei Patient*innen mit chronischer Niereninsuffizienz therapeutisch verwendet werden, dies bestätigen die Ergebnisse der *Renal and Vascular Protective Effects of Ezetimibe in Chronic Kidney Disease* Studie, die zeigen, dass Ezetimib einen protektiven Schutz vor kardiovaskulären Erkrankungen bei diesen Patient*innen bietet. Zudem ist es auch wichtig im Vorfeld zu erfahren, ob diese Patient*innen eine hohe Cholesterinbiosynthese oder Cholesterinabsorption aufweisen, weil auch hier eine Therapie mit Statinen und Ezetimiben in unterschiedlichen Konzentrationen eingesetzt werden muss. [2; 38, 39, 86; 87; 88; 89, 90]

Abschließend lässt sich sagen, dass Risikofaktoren wie CRP, HDL-Konzentration, LDL-Konzentration und totale Cholesterinkonzentration mit der Cholesterinabsorption assoziiert sind, während andere Risikofaktoren wie z. B. BMI, totale Cholesterinkonzentration, Triglyzeridkonzentration und die Myokardnekrose

Labormarker (Troponin I, Galectin 3 und BNP) mit der Cholesterinbiosynthese assoziiert sind.

Diese Informationen und Erkenntnisse bieten wichtige Hinweise auf potenziell zukünftige Therapiemöglichkeiten für Dialysepatient*innen mit kardiovaskulären Erkrankungen. Es ist zwar bekannt, dass ein Großteil der Risikofaktoren in den Tabellen 4 bis 7 zu einer schlechten Prognose von kardiovaskulären Erkrankungen führen kann, jedoch ist noch sehr wenig darüber bekannt, wie sich die Prognosen dieser Patient*innen verändern würden, wenn alle Risikofaktoren therapeutisch behandelt werden. Es wäre interessant eine klinische Kohortenstudie durchzuführen, die genau diese Aspekte berücksichtigt und die Prognosen nach eingeleiteter Therapiemaßnahmen berechnet.

5 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der AURORA Studie stützen die Hypothese, dass die Cholesterinbiosynthese und die Cholesterinabsorption einen wichtigen Einfluss auf die kardiovaskuläre Mortalität und Gesamtmortalität von Dialysepatient*innen haben. Für eine optimale Behandlung wäre es also vom Vorteil bei Dialysepatient*innen sowohl die Cholesterinbiosynthese als auch die Cholesterinabsorption medikamentös zu behandeln.

Nichtsdestotrotz konnte mit dieser Kohortenstudie die wichtige Rolle der Sterolderivate für die kardiovaskuläre Mortalität und Gesamtmortalität bestätigt werden. Es konnte auch bestimmt werden mit welchen Risikofaktoren die gemessenen Sterolderivate assoziiert sind. Wie aus den Ergebnissen ersichtlich, sind die Lathosterolkonzentration und das Lathosterol/Cholesterin *ratio* für die Risikoabschätzung bei der kardiovaskulären Mortalität am besten geeignet. Allerdings hängt die Genauigkeit dieser Risikoabschätzung von der Berücksichtigung vieler Risikofaktoren ab. Die Cholestanolkonzentration und das Cholestanol/Cholesterin *ratio* hingegen scheinen geeigneter für die Risikoabschätzung der Gesamtmortalität zu sein, unter anderem auch deswegen, weil diese Risikoabschätzung am genauesten ohne Miteinbeziehung von anderen Risikofaktoren zu sein scheint. Somit könnte durch die Cholesterinabsorption und Cholesterinbiosynthese die Risikoabschätzung für die kardiovaskuläre Mortalität und Gesamtmortalität im klinischen Alltag verbessert werden.

Wie diese Parameter mit Risikomodellen eingehen könnten, muss aber in weiteren Studien noch genauer untersucht werden. Die hier verwendeten Methoden und die statistische Auswertung ist viel zu aufwändig und nicht für Routinelabors geeignet. Es benötigt eine Vereinfachung dieser Methoden, um schnelle und aussagekräftige Messwerte zu erhalten.

Eine Standardisierung bzw. Verbesserung dieser verwendeten Methoden, um vergleichbare Ergebnisse zu erhalten, wird noch als wichtige Fragestellung für zukünftige klinische Studien erhalten bleiben.

I. Literaturverzeichnis

- [1] Bengt C. Fellström, Alan G. Jardine, Roland E. Schmieder, Hallvard Holdaas, Kym Bannister, Jaap Beutler, Dong-Wan Chae, Alejandro Chevaile, Stuart M. Cobbe, Carola Grönhagen-Riska, José J. De Lima, Robert Lins. Rosuvastatin and Cardiovascular Events in Patients Undergoing Hemodialysis, *New England Journal of Medicine*. 2009; 360: 1395-1407.
- [2] Günther Silbernagel, Günter Fauler, Wilfried Renner, Eva M. Landl, Michael M. Hoffmann, Bernhard R. Winkelmann, Bernhard O. Boehm and Winfried März. The relationships of Cholesterin metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease, *Journal of Lipid Research*. 2009; 50(2): 334-341.
- [3] Bernhard R. Winkelmann, Winfried März, Bernhard O. Boehm, Rainer Zotz, Jörg Hager, Peter Hellstern, Jochen Senges. Rationale and design of the LURIC study - a resource for functional genomics, pharmacogenomics and long-term prognosis of cardiovascular disease. 2004 November; 2(1): 1-73.
- [4] Miettinen TA, Tilvis RS, Kesäniemi YA. Serum plant sterols and Cholesterin precursors reflect Cholesterin synthesis and absorption in volunteers of a randomly selected male population, *Am J Epidemiol*. 1990; 131: 20-31.
- [5] Nissinen MJ, Miettinen TE, Gylling H, Miettinen TA. Applicability of non-Cholesterin sterols in predicting response in Cholesterin metabolism to simvastatin and fluvastatin treatment among hypercholesterinemic men, *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*. 2010; 20: 308-16.
- [6] Gerald Salen, Virgie Shore, G. S. Tint, T. Forte, Sarah Shefer, Ivan Hod, Eva Hod, B. Dayal, L. Nguyen, A. K. Batta, F. T. Lindgren, and Peter O. Kwiterovich, Jr.. Increased sitosterol absorption, decreased removal, and expanded body pools compensate for reduced Cholesterin synthesis in sitosterolemia with xanthomatosis, *The Journal of Lipid Research*. 1989; 30: 1319-1330
- [7] Gerald Salen, Sarah Shefer, Lien Nguyen, Gene C. Ness, G. S. Tint, and Virgie Shore. Sitosterolemia (minireview), *The Journal of Lipid Research*. 1992; 33: 945-955.

- [8] Eun-Gyong Yoo. Sitosterolemia: a review and update of pathophysiology, clinical spectrum, diagnosis, and management, *Annals of Pediatric Endocrinology & Metabolism*. 2016; 21(1): 7–14.
- [9] Gerd Herold und Mitarbeiter (2016): *Innere Medizin*. Verlag: Gerd Herold, Köln. S. 210-218, 303-319, 640-654, 658, 712 ff., 726-753.
- [10] E. Meyer zu Stieghorst-Kastrup (Überarbeitet und Ergänzt) Margaret Minker (1992): *Medizinisches Wörterbuch*. Verlag: Basserman Niederhausen. S. 118.
- [11] Donald J. Voet, Judith G. Pratt, Charlotte W. (2010): *Lehrbuch der Biochemie*. 2. Auflage. Verlag: WILEY-VCH. S. 735 ff.
- [12] Francois Mach, Colin Baigent, Alberico L. Catapano, Konstantinos C. Koskinas, Manuela Casula, Lina Badimon, M. John Chapman, Guy G. De Backer, Victoria Delgado, Brian A. Ference, Ian M. Graham, Alison Halliday, Ulf Landmesser, Borislava Mihaylova, Terje R. Pedersen, Gabriele Riccardi, Dimitrios J. Richter, Marc S. Sabatine, Marja-Riitta Taskinen, Lale Tokgozoglu, Olov Wiklund. 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk. The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS), *European Heart Journal*. 2020; 41: 111-188.
- [13] Elina Ikonen. Mechanisms for Cellular cholesterol Transport: Defects and Human Disease, *Physiological Reviews*. 2006; 86(4): 1237-1261.
- [14] Daniel Steinberg. Atherogenesis in perspective: Hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime, *Nature Medicine*. 2002; 8(11): 1211–1217.
- [15] Stefan Silbernagl, Florian Lang (2009): *Taschenatlas Pathophysiologie*. 3. Auflage. Verlag: Georg Thieme Verlag KG. S. 308-315, 238-243
- [16] Klaus Aktories, Ulrich Förstermann, Franz Bernhard Hofmann, Klaus Starke (2017): *Allgemeine und spezielle Pharmakologie und Toxikologie: Begründet von W. Forth, D. Henschler, W. Rummel*. 12. Auflage. Verlag: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH. S. 374-385, S. 428-432, S. 533-542, S. 545-571.

[17] Florian Horn (2015): Biochemie des Menschen. 6. Auflage. Verlag: Thieme. S: 126 ff.; 156 ff.; 157.

[18] Eckhard Beubler (2011): Kompendium der Pharmakologie, Gebräuchliche Arzneimittel in der Praxis. 3. Auflage. Verlag: Springer Wien New York. S. 63-81, S. 103- 117.

[19] Susanne Andreae, Peter Avelini, Melanie Berg, Ingo Blank, Annelie Burk (2008): Lexikon der Krankheiten und Untersuchungen. 2. Auflage. Verlag: Thieme. S. 462-465.

[20] Keikawus Arastéh, Hanns-Wolf Baenkler, Christiane Bieber, Roland Brandt, Tushar Chatterjee, Thorsten Dill, Tilmann Ditting, Wolfgang Eich, Sabine Ernst, Dieter Fritze, Hermann S. Fießl, Gerd Goeckenjan, Johannes-Martin Hahn, Christian W. Hamm, Job Harenberg, Jürgen H. Hengstmann, Wolfgang Herzog, Thomas Hofmann, Nicole Holzapfel, Kurt Huck, Jan Kähler, Monika Keller, Dietrich Klingmüller, Ralf Köster, Susann Kowol, Karl-Heinz Kuck, Bernd Löwe, Axel Matzdorff, Thomas Müller-Tasch, Christoph A. Nienaber, Christoph Nikendei, Jürgen Pausch, Michael Petzsch, Wolfgang Rösch, Nina Sauer, Brigitte Schlehofer, Michael Schmidt, Henrik Schneider, Andreas Schuchert, Michael Schwab, Hans-Udo Schweikert, Heiko Stern, Adrienne Teschner, Christian Träder, Klaus-Henning Usadel, Roland Veelken, Peter Wahl, Arne Zastrow, Reinhard Ziegler, Stephan Zipfel (2009): Innere Medizin. 2. Auflage. Verlag: Thieme, Duale Reihe. S. 1000-1022, 73-87, 985 ff.

[21] Erland Erdmann (2011): Klinische Kardiologie: Krankheiten des Herzens, des Kreislaufs und der herznahen Gefäße. 8. Auflage. Verlag: Springer. S. 113-179.

[22] Ulrike Didjurgeit, Doris Hemmann, Ute Sternenbergl (2005): Herzinsuffizienz: Patientratgeber - Leben mit der Erkrankung. Verlag: Deutscher Ärzte-Verlag. S. 1-65.

[23] Massimo Fioranelli, Anna G. Bottaccioli, Francesco Bottaccioli, Maria Bianchi, Miriam Rovesti and Maria G. Rocca: Stress and Inflammation in Coronary Artery Disease. A Review Psychoneuroendocrineimmunology-Based, *Frontiers in Immunology*. 2018; 9: 2031.

[24] André Pacheco Silva, Jaqueline Scholz, Tania Ogawa Abe, Gabriela Gouveia Pinheiro, Patricia Viviane Gaya, Alexandre Costa Pereira, and Paulo Caleb Junior Lima

Santos. Influence of smoking cessation drugs on blood pressure and heart rate in patients with cardiovascular disease or high risk score: real life setting, BMC Cardiovascular Disorders. 2016; 16: 2.

[25] Hunter Mwansa, Sula Mazimba. A Review of Heart Failure and Current Therapeutic Strategies, Primary Care Reports. 2018; Edition 3.

[26] Werner Böcker, Helmut Denk, Philipp U. Heitz, Holger Moch, Gerald Höfler, Hans Kreipe (2012): Pathologie. 5. Auflage. Verlag: Urban & Fischer Verlag/Elsevier GmbH. S. 398-404.

[27] Peter Schwandt, Klaus Parhofer (2012): Handbuch der Fettstoffwechselstörungen: Dyslipoproteinämien und Atherosklerose: Diagnostik, Therapie und Prävention. 3. Auflage. Verlag: Georg Thieme. S. 411-654, S. 732-828.

[28] Asier Benito-Vicente, Kepa B. Uribe, Shifa Jebari, Unai Galicia-Garcia, Helena Ostolaza, and Cesar Martin. Familial Hypercholesterolemia: The Most Frequent Cholesterol Metabolism Disorder Caused Disease, International Journal of Molecular Sciences. 2018; 19(11): 3426.

[29] Robert Thomas, Abbas Kanso and John R. Sedor. Chronic Kidney Disease and it's Complications, Primary Care: Clinics in Office Practice. June 2008; 35(2): 329-344.

[30] Christine K. Keller, Steffen K. Geberth (2007): Praxis der Nephrologie. 2 vollständige überarbeitete und erweiterte Auflage. Verlag Springer Medizin. S. 227-281.

[31] Matthias Klingele, Doreen Brodmann (2017): Einführung in die Nephrologie und Nierenersatzverfahren: Für Pflegende, Medizinstudenten und Assistenzärzte. 1. Auflage. Verlag: Springer. S. 46-47.

[32] Ulrich Kuhlmann, Dieter Walb, Joachim Böhler, Friedrich C. Luft, D. M. Alscher, R. Kettritz, B. Krumme, C. Maschleidt, T. Mettang (2008): Nephrologie: Pathophysiologie-Klinik-Nierenersatzverfahren. 5. Überarbeitete und erweiterte Auflage. Verlag: Thieme. S. 223-226, 308-412.

- [33] V. Schwenger, B. A. Remppis, R. Westenfeld, T. Weinreich, R. Brunkhorst, G. Schieren, B. Krumme, H. Haller, R. Schmieder, G. Schlieper, B. Frye, U. C. Hoppe, J. Hoyer, T. Keller, M. Blumenstein, H. Schunkert, F. Mahfoud, L. C. Rump. Dialysis and ultrafiltration therapy in patients with cardio-renal syndrome: recommendations of the working group “heart-kidney” of the German Cardiac Society and the German Society of Nephrology, *Deutsche Medizinische Wochenschrift*. 2014; 139(07): 1-8
- [34] Savvas Hadjiphilippou and Sui Phin Kon. Cardiorenal syndrome: review of our current understanding, *JOURNAL OF THE ROYAL SOCIETY OF MEDICINE*. 2016; 109(1): 12-17.
- [35] Mikko Haapio, Andrew A. House, Nagesh Anavekar, Rinaldo Bellomo. Cardiorenal Syndrome, *Journal of the American College of Cardiology*. 2008; 52(19): 1527-1539.¶
- [36] V. Schwenger, B. A. Remppis, R. Westenfeld, T. Weinreich, R. Brunkhorst, G. Schieren, B. Krumme, H. Haller, R. Schmieder, G. Schlieper, B. Frye, U. C. Hoppe, J. Hoyer, T. Keller, M. Blumenstein, H. Schunkert, F. Mahfound, L. C. Rump. Dialyse- und Ultrafiltrationsverfahren bei kardiorenalem Syndrom: Empfehlung der Arbeitsgemeinschaft „Herz-Niere“ der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie-Herz- und Freislaufforschung e. V. und der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie e. V., *Der Kardiologe*. 2014; 8: 26-35.
- [37] I. Holme, B. C. Fellström, A. G. Jardine, R. E. Schmieder, F. Zannad and H. Holdaas. Prognostic model for total mortality in patients with haemodialysis from the Assessments of Survival and Cardiovascular Events (AURORA) study, *Journal of Internal Medicine*. 2012; 271(5): 463–471.
- [38] Bengt C. Fellström, Alan G. Jardine, Roland E. Schmieder, Hallvard Holdaas, Kym Bannister, Jaap Beutler, Dong-Wan Chae, Alejandro Chevaile, Stuart M. Cobbe, Carola Grönhagen-Riska, José J. De Lima, Robert Lins, Gert Mayer, Alan W. McMahon, Hans-Henrik Parving, Giuseppe Remuzzi, Ola Samuelsson, Sandor Sonkodi, Gultekin Süleymanlar, Dimitrios Tsakiris, Vladimir Tesar, Vasil Todorov, Andrzej Wiecek, Rudolf P. Wüthrich, Mattis Gottlow, Eva Johnsson, and Faiez Zannad, for the AURORA Study

Group. Rosuvastatin and Cardiovascular Events in Patients Undergoing Hemodialysis, *The New England Journal of Medicine*. 2009; 360(14): 1395-1407.

[39] Günther Silbernagel, Günter Fauler, Bernd Genser, Christiane Drechsler, PHD, Vera Krane, Hubert Scharnagl, Tanja B. Grammer, Iris Baumgartner, Eberhard Ritz, Christoph Wanner, Winfried März. Intestinal Cholesterin Absorption, Treatment With Atorvastatin, and Cardiovascular Risk in Hemodialysis Patients, *JOURNAL OF THE AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY*. 2015; 65(21): 2291-2298.

[40] Jürgen Sökeland, Herbert Rübber (2007): Taschenlehrbuch Urologie. 14 vollständig überarbeitete Auflage. Verlag: Thiemen. S. 380-390.

[41] Alexander Muacevic, John R Adler, Sabitha Vadakedath and Venkataramana Kandi. Dialysis: A Review of the Mechanisms Underlying Complications in the Management of Chronic Renal Failure, *Cureus Journal of Medical Science*. August 2017; 9(8): e1603.

[42] Siegfried Hünig, Peter Kreitmeier, Gottfried Märkl, Jü Sauer (2007): Arbeitsmethoden in der organischen Chemie: Mit Einführungsprogramm. 2. Auflage. Verlag: Lehmanns. S. 222 ff.

[43] S. L. Abidi, Edited by E. Heftmann. Chromatographic analysis of plant sterols in foods and vegetable oils, *Journal of Chromatography A*. 2001 November; 935(1–2): 173-201.

[44] Leslie S. Ettre. Nomenclature for Chromatography (IUPAC Recommendations). *Pure and Applied Chemistry*. 1993; 65(4): 819-872.

[45] Friedrich Lottspeich, Joachim W. Engels (2006): Bioanalytik. 2. Auflage. Verlag: Spektrum Akademischer Verlag Heidelberg. S.216 ff.; 329 ff.; 338 ff.; 357 ff.; 589 ff.; 590 ff.

[46] Karl Cammann (2001): Instrumentelle Analytische Chemie: Verfahren, Anwendungen, Qualitätssicherung. 1. Auflage. Verlag: Spektrum Akademischer Verlag. S. 5-55.

- [47] Andreas Bruchmann, Majlinda R. Lahaniatis, Rudolf Schwabe, Michael Tschickardt, Antonius Kettrup. GC/MS analysis [Air Monitoring Methods, 2007], Wiley Online Library. 2012.
- [48] Jürgen H. Gross (2013): Massenspektrometrie Ein Lehrbuch. Auflage. Verlag: Springer Spektrum. S. 24-28; 32-33; 97 ff.
- [49] Manfred Hesse, Herbert Meier, Bernd Zeeh (2005): Spektroskopische Methoden in der organischen Chemie. 7. Auflage. Verlag: Thieme. S. 242-245.
- [50] Samir Sadiku (2019): Masterarbeit: Phytosterole im Blutplasma von Dialysepatient/-innen, Karl-Franzens-Universität Graz. S. 2-52.
- [51] Bruno Kolb (2012): Gaschromatographie in Bildern: Eine Einführung. 2. Überarbeitete Auflage. Verlag: WILEY-VCH. S. 1 ff.
- [52] Herman Jan M. Kempen, Jan F. C. Glat, Jan A. Gevers Leuven, Herman A. van der Voort, and Martijn B. Katan. Serum lathosterol concentration is an indicator of whole-body Cholesterin synthesis in humans, the Journal of Lipid Research. 1988; 29(9): 1149-1155.
- [53] Yousuke Seyama: Cholestanol metabolism, molecular pathology, and nutritional implications, Journal of Medicinal Food. 2004 July; 6(3): 217-224.
- [54] Martijn B. Katan, Scott M. Grundy, Peter Jones, Malcolm Law Tatu Miettinen, Rodolfo Paoletti. Efficacy and Safety of Plant Stanols and Sterols in the Management of Blood Cholesterin Levels, Mayo Clin Proc.. 2003; 78(8): 965–978.
- [55] Hans D Bruhn, Ralf Junker, Heiner Schäfer und Stefan Schreiber (2011): Labormedizin: Indikationen, Methodik und Laborwerte Pathophysiologie und Klinik, 3. Auflage. Verlag: Schattauer Verlag (Thieme) Stuttgart. S. 77-78.
- [56] Gabriele Halwachs-Baumann (2011): Labormedizin: Klinik – Praxis – Fallbeispiele, 2. aktualisierte und erweiterte Auflage. Verlag: Springer Verlag Wien/New York. S. 38-44, S. 49-52, S. 472-473.

- [57] Christel Weiß (2013): Basiswissen Medizinische Statistik. 6., überarbeitete Auflage. Verlag: Springer-Verlag Berlin Heidelberg. S. 53-71, S. 115-143, S. 151-156, S.162-168, S.179-215, S. 283-290.
- [58] Harrell Jr FE, Lee KL, Mark DB. Multivariable prognostic models: issues in developing models, evaluating assumptions and adequacy, and measuring and reducing errors, *Stat Med.* 1996; 15:361–87.
- [59] Kang L, Chen W, Petrick NA, Gallas BD. Comparing two correlated C indices with right-censored survival outcome: a one-shot nonparametric approach, *Stat Med.* 2015; 34(4):685–703.
- [60] Pencina MJ, D'Agostino Sr RB, D'Agostino Jr RB, Vasan RS. Evaluating the added predictive ability of a new marker: from area under the ROC curve to reclassification and beyond, *Stat Med.* 2008; 27(2):157–72. discussion 207–112.
- [61] Uno H, Tian L, Cai T, Kohane IS, Wei LJ. A unified inference procedure for a class of measures to assess improvement in risk prediction systems with survival data, *Stat Med.* 2013; 32(14):2430–42.
- [62] Rainer P. Woitas, Marcus E. Kleber, Andreas Meinitzer, Tanja B. Grammer, Günther Silbernagel, Stefan Pilz, Andreas Tomaschitz, Gisela Weihrauch, Harald Dobnig, Winfried März, Hubert Scharnagl. Cystatin C is independently associated with total and cardiovascular mortality in individuals undergoing coronary angiography. The Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health (LURIC) study. *Atherosclerosis-journal.* 2013; 229(2): 541-548.
- [63] Umesh C. Sharma, Saraswati Pokharel, Thomas J. van Brakel, Jop H. van Berlo, Jack P.M. Cleutjens, Blanche Schroen, Sabine André, Harry J.G.M. Crijns, Hans -J. Gabius, Jos Maessen, and Yigal M. Pinto. Galectin-3 Marks Activated Macrophages in Failure-Prone Hypertrophied Hearts and Contributes to Cardiac Dysfunction. *Circulation.* 2004; 110(19): 3121–3128.
- [64] Francisco B Ortega, Xuemei Sui, Carl J Lavie and Steven N Blair. Body Mass Index, the Most Widely Used but also Widely Criticized Index: Would a Gold-Standard

Measure of Total Body Fat be a Better Predictor of Cardiovascular Disease Mortality? Mayo Clinic Proceedings. 2016; 91(4): 443-455.

[65] Cecilia C. Low Wang, Connie N. Hess, William R. Hiatt, and Allison B. Goldfine. Atherosclerotic Cardiovascular Disease and Heart Failure in Type 2 Diabetes – Mechanisms, Management, and Clinical Considerations. *Circulation*. 2016; 133(24): 2459-2502.

[66] Srisakul Chirakarnjanakorn, Sankar D. Navaneethan, Gary S. Francis, and W.H. Wilson Tang. Cardiovascular Impact in Patients Undergoing Maintenance Hemodialysis: Clinical Management Considerations. *International Journal of Cardiology*. 2017; 232: 12-23.

[67] Wilund, K. R., L. Yu, F. Xu, G. Vega, S. Grundy, J. C. Cohen, and H. H. Hobbs. 2004. Plant sterol levels are not associated with atherosclerosis in mice and men. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 24: 2326–2332.

[68] Bhattacharyya, A., and W. E. Connor. 1974. b-Sitosterolaemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters. *J. Clin. Invest.* 53: 1033–1043.

[69] Salen, G., I. Horak, M. Rothkopf, J. L. Cohen, J. Speck, G. S. Tint, V. Shore, B. Dayal, T. Chen, and S. Shefer. 1985. Lethal atherosclerosis associated with abnormal plasma and tissue sterol composition in sitosterolaemia with xanthomatosis. *J. Lipid Res.* 26: 1126–1133.

[70] Glueck, C. J., J. Speirs, T. Tracy, P. Streicher, E. Illig, and J. Vandegrift. 1991. Relationships of serum plant sterols (phytosterols) and Cholesterin in 595 hyperCholesterinemic subjects, and familial aggregation of phytosterols, Cholesterin and premature coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives. *Metabolism*. 40: 842–848.

[71] Sutherland, W. H. F., M. J. A. Williams, E. R. Nye, N. J. Restieaux, S. A. de Jong, and H. L. Walker. 1998. Associations of plasma nonCholesterin sterol levels with severity of coronary artery disease. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 8: 386–391.

- [72] Sudhop, T., B. M. Gottwald, and K. von Bergmann. 2002. Serum plant sterols as a potential risk factor for coronary heart disease. *Metabolism*. 51: 1519–1521.
- [73] Assmann, G., P. Cullen, J. Erbey, D. R. Ramey, F. Kannenberg, and H. Schulte. 2006. Plasma sitosterol elevations are associated with an increased incidence of coronary events in men: results of a nested case-control analysis of the Prospective Cardiovascular Munster (PROCAM) study. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 16: 13–21.
- [74] Pinedo, S., M. N. Vissers, K. von Bergmann, M. D. Elharchaoui, D. Lutjohann, R. Luben, N. J. Wareham, J. J. P. Kastelein, K. T. Khaw, and S. M. Boeckholdt. 2007. Plasma levels of plant sterols and the risk of future coronary artery disease in apparently healthy men and women: The Prospective Epic-Norfolk Population Study. *J. Lipid Res.* 48: 139–144.
- [75] Rajaratnam, R. A., H. Gylling, and T. A. Miettinen. 2000. Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women. *J. Am. Coll. Cardiol.* 35: 1185–1191.
- [76] Matthan, N. R., J. M. LaRoque, M. Pencina, R. B. D'Agostino, E. J. Schaefer, and A. H. Lichtenstein. 2005. Increased cholesterol absorption and decreased cholesterol synthesis characterize Framingham Offspring study participants with coronary heart disease. *Circulation*. 112: II-816–II-817 (abstract).
- [77] Strandberg, T. E., R. S. Tilvis, K. H. Pitkala, and T. A. Miettinen. 2006. Cholesterol and glucose metabolism and recurrent cardiovascular events among elderly. *J. Am. Coll. Cardiol.* 48: 708–714.
- [78] Weingärtner, O., D. Lütjohann, S. Ji, N. Weisshoff, F. List, T. Sudhop, K. von Bergmann, K. Gertz, J. König, H. J. Schäfers, et al. 2008. Vascular effects of diet supplementation with plant sterols. *J. Am. Coll. Cardiol.* 51: 1553–1561.
- [79] Mellies, M. J., T. T. Ishikawa, C. J. Glueck, K. Bove, and J. Morrison. 1976. Phytosterols in aortic tissue in adults and infants. *J. Lab. Clin. Med.* 88: 914–921.

- [80] Miettinen, T. A., M. Railo, M. Lepäntalo, and H. Gylling. 2005. Plant sterols in serum and in atherosclerotic plaques of patients undergoing carotid endarterectomy. *J. Am. Coll. Cardiol.* 45: 1794–1801.
- [81] Miettinen, T. A., P. Puska, H. Gylling, H. Vanhanen, and E. Vartiainen. 1995. Serum Cholesterin lowering by sitostanol ester margarine in a mildly hyperCholesterinemic random population. *N. Engl. J. Med.* 333: 1308–1312.
- [82] Weststrate, J. A., and G. W. Meijer. 1998. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-Cholesterin concentrations in normoCholesterinaemic and mildly hyperCholesterinaemic subjects. *Eur. J. Clin. Nutr.* 52: 334–343.
- [83] Plat, J., and R. P. Mensink. 2005. Plant stanol and sterol esters in the control of blood Cholesterin levels: mechanism and safety aspects. *Am. J. Cardiol.* 96 (1A): 15D–22D.
- [84] Moghadasian, M. H., B. M. Mc Manus, D. V. Godin, B. Rodrigues, and J. J. Frolich. 1999. Proatherogenic and antiatherogenic effects of probucol and phytosterols in apolipoprotein E-deficient mice: possible mechanisms of action. *Circulation.* 99: 1733–1739.
- [85] Plat, J., I. Beugels, M. J. Gijbels, M. P. de Winter, and R. P. Mensink. 2006. Plant sterol or stanol esters retard lesion formation in LDL receptor-deficient mice independent of changes in serum plant sterols. *J. Lipid Res.* 47: 2762–2771.
- [86] Oliver Weingärtner, Michael Böhm and Ulrich Laufs. Controversial role of plant sterol esters in the management of hyperCholesterinaemia, *European Heart Journal.* 2009; 30(4): 404-409.
- [87] Anne C Goldberg, Aditi Sapre, Ji Liu, Rachel Capece, Yale B Mitchel, Ezetimibe Study Group. Efficacy and safety of ezetimibe coadministered with simvastatin in patients with primary hyperCholesterinemia: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Mayo Clinic Proceedings.* 2004 May; 79(5): 620-9.

[88] Mohamed H Ahmed, Atif A Khalil. Ezetimibe as a potential treatment for dyslipidemia associated with chronic renal failure and renal transplant, Saudi Journal of Kidney Deases and Transplantation. 2010; 21(6): 1021-1029.

[89] Tatsuyori Morita, Satoshi Morimoto, Chikara Nakano, Rika Kubo, Yoshiki Okuno, Maiko Seo, Kazunori Someya, Mitsutaka Nakahigashi, Hiroko Ueda, Nagaoki Toyoda, Makiko Kusabe, Fusakazu Jo, Nobuyuki Takahashi, Toshiji Iwasaka and Ichiro Shiojima. Renal and Vascular Protective Effects of Ezetimibe in Chronic Kidney Disease, Internal Medicine. 2014; 53(4): 307-314.

[90] Christopher P. Cannon, Michael A. Blazing, Robert P. Giugliano, Amy McCagg, Jennifer A. White, Pierre Theroux, Harald Darius, Basil S. Lewis, Ton Oude Ophuis, J. Wouter Jukema, Gaetano M. De Ferrari, Witold Ruzyllo, Paul De Lucca, KyungAh Im, Erin A. Bohula, Craig Reist, Stephen D. Wiviott, Andrew M. Tershakovec, Thomas A. Musliner, Eugene Braunwald and Robert M. Califf. Ezetimibe added to statin therapy after acute coronary syndromes. New England Journal of Medicine. 2015; 372: 2387-2397.

II. Anhang

