

Aus den Universitätskliniken des Saarlandes  
Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin

Univ.-Professor Dr. Wolfgang Herrmann

---

**Bedeutung von  
Homocystein und B-Vitaminen  
in dem Schweregrad von chronischer Herzinsuffizienz**

Dissertation zu Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin  
der medizinischen Fakultät  
der Universität des Saarlandes

vorgelegt von Laureen Gunther

geboren am 15.12.1984 in Forbach, Frankreich

## Inhaltsverzeichnis

1. Zusammenfassung .....	3
2. Einleitung .....	5
2.1. Krankheitsbild und pathophysiologische Aspekte .....	5
2.2. Natriuretische Peptide und CHI .....	8
2.3. Ätiologie und Risikofaktoren .....	10
2.4. Homocystein und B-Vitamine.....	11
2.5. B-Vitamine und CHI .....	16
2.6. Zielsetzung der Arbeit .....	20
3. Patienten und Methodik .....	21
3.1. Studienaufbau .....	21
3.2. Klinische und apparative Untersuchungen.....	21
3.3. Blutanalytik .....	23
3.4. Statistische Auswertung .....	28
4. Ergebnisse .....	29
4.1. Charakterisierung des Patientenkollektivs .....	29
4.2. Medikamentöse Therapie .....	30
4.3. HCY und B-Vitamine.....	31
4.4. HCY, B-Vitamine und NYHA-Stadium .....	32
4.5. HCY, B-Vitamine und Ejektionsfraktion.....	35
4.6. HCY, B-Vitamine und NT-pro BNP .....	37
4.7. Multivariate Regressionsanalysen.....	39
4.8. Leberfunktion .....	41
5. Diskussion .....	43
5.1. Klassische Risikofaktoren .....	43
5.2. Korrelation zwischen HHCY und CHI .....	44
5.3. HHCY und CHI in experimentellen Studien.....	48
5.4. HHCY, CHI und B-Vitamine.....	50
5.5. Extrakardiale Einflussfaktoren auf HCY und CHI .....	51
5.6. Therapeutische Aspekte .....	53
5.7. Schlussfolgerung .....	55
6. Referenzverzeichnis .....	56
7. Publikation .....	65
8. Danksagung .....	66
9. Lebenslauf .....	67
10. Anhang .....	68

## Abkürzungsverzeichnis

<i>ACE-Hemmer</i>	Angiotensin-converting-Enzymhemmer
<i>AHA</i>	American Heart Association
<i>ALAT</i>	Alanin-Aminotransferase
<i>ASAT</i>	Aspartat-Aminotransferase
<i>ASS</i>	Aspirin
<i>BNP</i>	Brain-natriuretic-peptide
<i>CHE</i>	Cholinesterase
<i>CHI</i>	Chronische Herzinsuffizienz
<i>CRP</i>	C-reaktives Protein
<i>EF</i>	Linksventrikuläre Ejektionsfraktion
<i>GFR</i>	Glomeruläre Filtrationsrate
<i>GGT</i>	Gamma-Glutamyltransferase
<i>HCY</i>	Homocystein
<i>HHCY</i>	Hyperhomocysteinämie
<i>HZV</i>	Herzzeitvolumen
<i>KHK</i>	Koronare Herzkrankheit
<i>Krea</i>	Kreatinin
<i>MMP</i>	Metalloproteinasen der Matrix
<i>NYHA</i>	New York Heart Association
<i>PAVK</i>	Periphere arterielle Verschlusskrankheit

## 1. Zusammenfassung

Chronische Herzinsuffizienz ist eine weit verbreiterte Krankheit, die trotz Fortschritte der Medizin weiterhin mit einer hohen Morbidität und Mortalität assoziiert ist. Ihrer Prävention durch die Erkennung und Modifikation von Risikofaktoren kommt deshalb eine große Bedeutung zu. Vor wenigen Jahren wurde Hyperhomocysteinämie als zusätzlicher Risikofaktor für chronische Herzinsuffizienz erkannt. Es war jedoch unklar, ob es sich dabei um einen kausalen Risikofaktor oder nur um einen Risikoindikator handelte. Die pathogenetischen Mechanismen sind bis jetzt nur unvollständig bekannt. Die besondere Bedeutung der Hyperhomocysteinämie beruht auf den einfachen therapeutischen Möglichkeiten. Die häufigsten Ursachen für erhöhte Homocysteinkonzentrationen bei Erwachsenen sind Mängel an Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und/oder Vitamin B<sub>6</sub>. Es wurde wiederholt nachgewiesen, dass Hyperhomocysteinämie mittels einer nebenwirkungsarmen und kostengünstigen Vitaminsupplementation effizient therapiert werden kann.

Für diese Arbeit bestand die Frage, ob Homocystein und B-Vitamine mit dem Schweregrad der chronischen Herzinsuffizienz assoziiert sind. In einem Kollektiv von 987 Patienten wurden klinische, echographische und laborchemische Parameter der Herzinsuffizienz erfasst, sowie Homocystein, Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> im Blut bestimmt. Homocystein korrelierte mit den Parametern der chronischen Herzerkrankung, und zeigte eine Assoziation mit dem Schweregrad der CHI. Vitamin B<sub>12</sub> nahm mit der NYHA-Klasse und NT-proBNP zu und wies eine negative Korrelation mit der linksventrikulären Ejektionsfraktion auf. Folsäure zeigte keine signifikante Assoziation mit diesen Parametern. Da der Vitaminstatus von der hepatischen Funktion beeinflusst wird, wurde diese anhand von laborchemischen Parametern zusätzlich beurteilt. In der Patientengruppe mit Vitamin B<sub>12</sub> über dem Median waren Alanin-Aminotransferase, Aspartat-Aminotransferase, und  $\gamma$ -Glutamyltransferase signifikant höher, als Hinweis für eine leichte Störung der hepatischen Zellintegrität.

Die Ergebnisse dieser Arbeit bestätigen die Bedeutung von Hyperhomocysteinämie als Risikofaktor für chronische Herzinsuffizienz, und scheinen auf einen kausalen Zusammenhang hinzuweisen. Die fehlende direkte Korrelation zwischen CHI und den Vitaminen betont die Tatsache, dass CHI und HCY auch durch extrakardiale Faktoren beeinflusst werden. Zu diesen gehört insbesondere die Störung der Leberfunktion sowie der Nierenfunktion.

## Summary

Despite medical advances is chronic heart failure still a current disease, associated with an important morbidity and mortality. Consequently, the prevention of this disease by identifying and modifying risk factors is an important issue. Recently, hyperhomocysteinemia has been suggested as new recognized risk factor for chronic heart failure. However, it was not clear, if hyperhomocysteinemia is a causal risk factor or only a risk indicator for chronic heart failure. Furthermore, the pathogenetic mechanisms are largely unknown. The particular importance of hyperhomocysteinemia is due to the simple therapeutic possibilities. The most common causes for elevated homocystein-levels among adults are deficiencies of folic acid, vitamin B<sub>12</sub> and / or vitamin B<sub>6</sub>. It has repeatedly been demonstrated that hyperhomocysteinemia can efficiently be treated by a harmless and cheap supplementation with vitamins.

An open question of the present study was, if B-vitamins and homocysteine are associated with the severity of chronic heart failure. In a group of 987 patients clinical, echocardiographic and laboratory parameters of heart failure were obtained. Serum homocystein, folate and vitamin B<sub>12</sub> were measured. Homocysteine was correlated to the parameters of chronic heart failure and showed a relationship with the severity of chronic heart failure. Vitamin B<sub>12</sub> increased with NYHA-class and NT-ProBNP, and exhibited a negative correlation with the left ventricular ejection fraction. Folate showed no relation with these parameters. As the vitamin status depends on hepatic function, we additionally evaluated this one on the basis of laboratory parameters. Alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, and  $\gamma$ -glutamyltransferase were significantly higher in the group with vitamin B<sub>12</sub> above the median, which indicated a slight disturbance in hepatic cell integrity.

The results confirm the importance of hyperhomocysteinemia as risk factor for chronic heart failure and potentially indicate a causal relationship. The missing direct association between chronic heart failure and vitamins underline the fact, that chronic heart failure and homocysteine are also influenced by extracardiac factors. Among these ones is a pertubated hepatic function or renal function.

## **2. Einleitung**

„Vorbeugung vor Behandlung“ sollte ein Ziel der heutigen Medizin sein. Trotz jahrelangem Bemühen in diesem Sinne sind viele seit langem bekannte Erkrankungen weiterhin weit verbreitert. Dies gilt auch für die chronische Herzinsuffizienz (CHI), deren Inzidenz im letzten Jahrzehnt trotz erheblicher Bemühungen nicht erfolgreich reduziert werden konnte (89). Als Herzinsuffizienz bezeichnet man die Unfähigkeit des Herzens, trotz ausreichender Füllung, ein dem Sauerstoffbedarf entsprechendes Herzzeitvolumen bereitzustellen. Dadurch kommt es zu einer Unterversorgung der Endorgane mit Sauerstoff (46).

Die Weltgesundheitsorganisation gibt die Prävalenz der CHI mit 1,4 % beziehungsweise 5.3 Millionen betroffenen Personen in Europa an. Seitens der European Society of Cardiology wird die Prävalenz auf 0,4 bis 2 % für die symptomatische CHI geschätzt. (109). Eine vergleichbare Situation wird auch in vielen außereuropäischen Ländern gefunden. In den USA beispielsweise liegt die Inzidenz der CHI über 600.000/Jahr. Die durch CHI verursachten Kosten wurden für das Jahr 2006 auf 29 Billionen Dollars Kosten geschätzt. Für das Jahr 2008 wurden die direkten und indirekten Kosten von CHI in den USA bereits auf 34 Billionen Dollars geschätzt (2,78, 42).

Neben materiellen Kosten ist die CHI mit erheblichen Symptomen (zum Beispiel Leistungsminderung und Dyspnoe) sowie einer Einschränkung der Lebensqualität und einer schlechten Prognose für die Betroffenen verbunden. Die Erkrankung gehört außerdem zu den häufigsten Ursachen für stationäre Behandlungen bei Personen über 65 Jahren. In den USA stiegen die Herzinsuffizienz-Todesfälle zwischen 1994 und 2004 um 28%, während die gesamte Anzahl der Todesfälle im gleichen Zeitraum um 2% abstieg (90).

### **2.1. Krankheitsbild und pathophysiologische Aspekte**

Die Leitsymptome der CHI sind verminderte körperliche Leistungsfähigkeit, Dyspnoe, Orthopnoe, Ödeme, Nykturie,... Die Betroffenen sind durch eine Verschlechterung des Allgemeinzustandes gekennzeichnet. Klassischerweise wird zur Stadieneinteilung der CHI die NYHA-Klassifikation angewendet: (109,46).

- NYHA I : Beschwerdefreiheit unter Belastung und in Ruhe. Belastbarkeit bis 150W und mehr (>1,5-2 W/kg)

- NYHA II : leichte Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Belastbarkeit bis 100W (> 1-1,5 W/kg)
- NYHA III : deutliche Leistungseinschränkung, jedoch Beschwerdefreiheit in Ruhe. Belastbarkeit bis 50W (1 W/kg)
- NYHA IV : Beschwerden bereits in Ruhe. Permanente Dyspnoe. Belastungsuntersuchung nicht möglich

Ergänzend zur NYHA-Klassifikation hat sich mittlerweile auch die ABCD-Einteilung der American Heart Association (AHA) im klinischen Alltag etabliert (46).

- Gruppe A: Patienten ohne Symptome einer Herzinsuffizienz, aber mit Risikofaktoren für eine Herzinsuffizienz
- Gruppe B: Keine Symptome der Herzinsuffizienz, aber Zeichen einer strukturellen Herzschädigung
- Gruppe C: Strukturelle Herzschäden in Verbindung mit Symptomen einer Herzinsuffizienz
- Gruppe D: Terminale Herzinsuffizienz

Ist die Kontraktionskraft des Myokards erniedrigt, so entwickelt sich eine Störung der systolischen Funktion. Bei der diastolischen Dysfunktion ist die Dehnbarkeit des Herzens erniedrigt, oder seine Entspannung gestört. In der Folge ist die Fähigkeit des Herzens, sich bei einer normalen Frequenz zu füllen, beeinträchtigt. Bei vielen Patienten mit gestörter diastolischer Füllung ist die systolische Funktion initial erhalten. Die meisten Patienten mit systolischer Dysfunktion weisen jedoch auch Veränderungen der diastolischen Funktion auf (109,24)

Als Vorwärtsversagen bezeichnet man eine Verminderung des Herzzeitvolumens (HZV) mit inadäquatem Blutdruck und peripherer Minderperfusion. Bei einem Rückwärtsversagen kommt es zur Stauung des venösen Blutes vor dem linken oder dem rechten Herzen. Dadurch steigen die Drücke stromaufwärts.

Ein Vorwärtsversagen mit Verminderung des HZV kennzeichnet die Low-output-failure. Die arteriovenöse Sauerstoffdifferenz ist vergrößert.

Im Unterschied dazu bedeutet ein High-output-failure die mangelhafte Blut-Sauerstoff-Versorgung der Peripherie bei erhöhtem HZV. Ursachen können Anämie, Hyperthyreose oder arteriovenöse-Fisteln sind. Die arteriovenöse Differenz ist normal oder vermindert.

Man unterscheidet zwischen Links-, Rechts- und Globalherzinsuffizienz, abhängig von der bevorzugt betroffenen Herzkammer. Nykturie, Herzvergrößerung und Tachykardie gehören zu den gemeinsamen Symptomen bei Links- und Rechtsherzinsuffizienz.

Bei der Linksherzinsuffizienz mit Rückwärtsversagen steigen der enddiastolische Druck im linken Ventrikel und die pulmonalen Kapillardrücke. Dadurch kommt es zu Dyspnoe und Orthopnoe. Eine Linksherzinsuffizienz mit Vorwärtsversagen verursacht eine Leistungsminderung, ein Schwächegefühl und besonders bei älteren Patienten zerebrale Funktionsstörungen. Rechtsherzinsuffizienz mit Rückstauung in den großen Kreislauf kann unter anderem zu sichtbarer Venenstauung, Ödembildung und Stauungsleber führen.

Im Rahmen der CHI kommt es gehäuft zu einer Beeinträchtigung der Leberfunktion. Die Assoziation zwischen CHI und Leberfunktionsstörungen ist bereits seit den 1950er Jahren bekannt und wird häufig als kardiale Hepatopathie bezeichnet (94). Sie wird als Folge der chronischen Blutstauung und/oder der verminderten arteriellen Perfusion betrachtet. Selten kommen kardiale Zirrhosen, als Ausdruck einer fortgeschrittenen Leberschädigung vor.

Das insuffiziente Herz verfügt über Kompensationsmechanismen mit denen es versucht, ein ausreichendes Herzzeitvolumen aufrecht zu erhalten. Zu diesen Mechanismen gehören:

- die Erhöhung der kardialen Frequenz sowie der Myokardkontraktilität, die durch Aktivierung des sympathoadrenergen Systems erreicht werden.
- die ventrikuläre Hypertrophie, die bei chronischer Belastung des Herzens entsteht. Eine Volumenbelastung führt zu exzentrischer Hypertrophie (mit Dilatation). Druckbelastung führt zu konzentrischer Hypertrophie (ohne Dilatation)
- die Erhöhung der Vorlast, die über die Aktivierung neurohumoraler Regulationssysteme zustande kommt. Dabei wird antidiuretisches Hormon (ADH) ausgeschüttet und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System aktiviert, was zur Wasser- und Natriumretention sowie Vasokonstriktion führt. (110, 7)

Diese Mechanismen sind jedoch begrenzt und führen letztendlich selbst zu einer Senkung des Herzzeitvolumens, zu einer Minderung der Kontraktionskraft oder zu einer Beeinträchtigung der diastolischen Funktion. Im Verlauf der Herzinsuffizienz führen die Kompensationsmechanismen zur Verschlechterung der hämodynamischen Situation und führen so zu einem Circulus vitiosus (21, 46).

## 2.2. Natriuretische Peptide und CHI

Die Präzision in der Diagnostik von CHI kann frühe und adäquate therapeutische Maßnahmen ermöglichen. Die Bestimmung von brain natriuretic peptide (BNP) und N-terminal-proBNP im Blut, wurde neulich als diagnostisches Werkzeug eingeführt und hat die Diagnostik von CHI signifikant verbessert.

Atriales natriuretisches Peptid (ANP), BNP und Typ C natriuretisches Peptid (CNP) gehören zu den Neurohormonen und bilden eine Familie von strukturell ähnlichen Peptiden, die an der Kontrolle der renalen und kardiovaskulären Funktion teilnehmen. C-terminales-ANP und N-terminales-ANP werden überwiegend im Vorhof freigesetzt, als Antwort auf die Dehnung, die durch erhöhten linksatrialen Druck bei CHI entsteht.

BNP wurde ursprünglich im Hirn identifiziert, befindet sich aber auch im Herz, insbesondere in den Ventrikeln. Dieses Peptid wird aus proBNP in Kardiomyozyten synthetisiert und bei Dehnung der Herzkammern unter Abspaltung von NT-proBNP in die Zirkulation freigesetzt (109, 11). Ventrikuläre Zellen werden zur Sekretion von BNP rekrutiert als Antwort auf hohen ventrikulären Füllungsdruck. Somit ist BNP bei chronischer und fortgeschrittener Herzinsuffizienz erhöht. In kürzlichen Arbeiten von unserer Gruppe (Herrmann et al.) wurde in Superfusionsexperimenten darüber hinaus gezeigt, dass BNP aus Herzgewebe auch durch erhöhtes Homocystein als Faktor des oxidativen Stress freigesetzt werden kann. Im klinischen Alltag wird üblicherweise NT-proBNP, das eine längere Halbwertszeit, mehr Stabilität und weniger Variabilität zwischen den Patienten aufweist, gemessen (9).

Als physiologische Rolle von BNP gilt der Schutz des Herzens gegen Schädigungen im Bereich der enzymatischen Systeme, die die Regulation von Wasser und Elektrolyten beeinflussen. BNP hemmt das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System und reguliert somit die Ausscheidung von Wasser und Elektrolyten. Zudem weist BNP antifibrotische und zytoprotektive Eigenschaften auf, und hemmt ungünstiges Myokardial-Remodelling.

Bei diastolischer Dysfunktion, bei der die linksventrikuläre Ejektionsfraktion noch normal ist, sowie bei milder systolischer Dysfunktion ist BNP häufig erhöht (82,119). Es weist regulatorische Aktivitäten auf, bereits vor Auftreten von klinischen Symptomen.

Die initiale Messung von plasmatischem BNP bei einem Patienten liefert prognostische Hinweise bei Patienten mit CHI, auch bei Durchführung einer Therapie mit Beta-Blocker und

ACE-Hemmern, sowie bei denen mit asymptotischer oder minimal symptomatischer linksventrikulärer Dysfunktion.

Ein hoher plasmatischer BNP-Spiegel ist prognostisch bedeutungswert, insbesondere hinsichtlich kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität sowie Hospitalisation, und identifiziert Risikopatienten auch in Abwesenheit von systolischer oder diastolischer Dysfunktion (11).

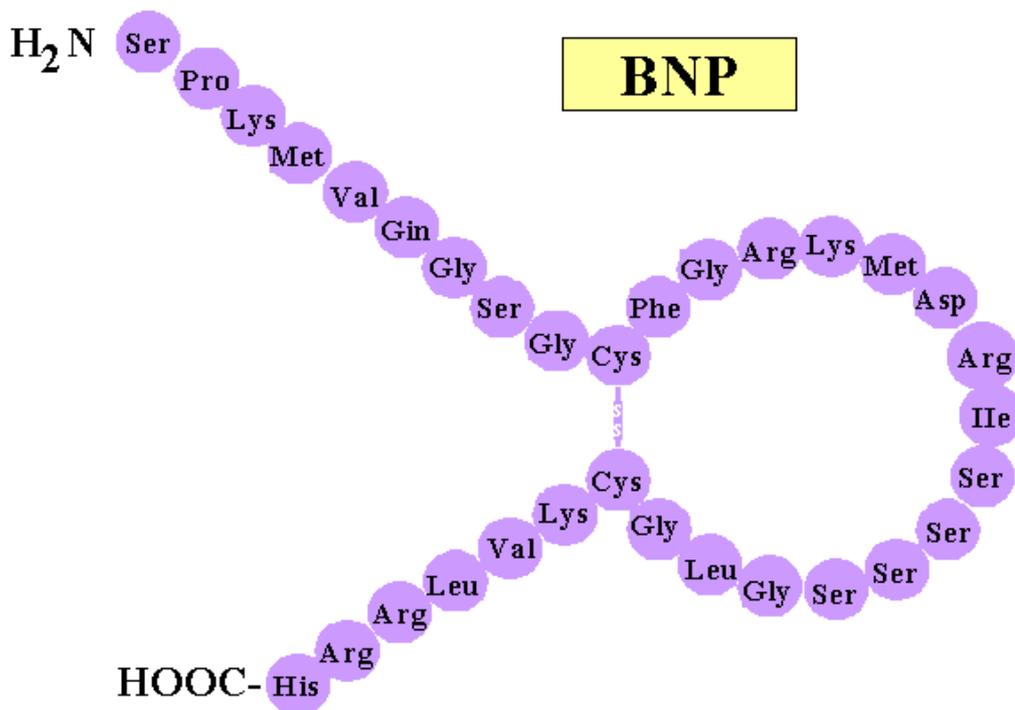


Abb. 1: Schematische Darstellung von BNP

### 2.3. Ätiologie und Risikofaktoren

Die CHI wird mittlerweile nicht mehr als Erkrankung sondern viel mehr als klinisches Syndrom mit vielen verschiedenen Ursachen angesehen. Prozentual gesehen sind die koronare Herzkrankheit mit 70% und die dilatative Kardiomyopathie mit 20% die häufigsten Ursachen einer CHI (109,24,7,34). Sie gehen mit einer Kontraktionsschwäche einher, was in aller Regel zu einer systolischen Funktionsstörung führt. Eine Erhöhung der Ventrikelwandspannung, die zum Beispiel durch Klappeninsuffizienzen, Shuntvitien, Klappenstenosen und arterielle Hypertonie hervorgerufen wird, führt ebenfalls zu einer systolischen Dysfunktion (109,7,65). Eine Behinderung der Ventrikelfüllung führt zu einer diastolischen Dysfunktion und wird durch restriktive Kardiomyopathie (zum Beispiel im Rahmen einer arteriellen Hypertonie), konstriktive Perikarditis und Herzbeutelamponaden hervorgerufen. Außerdem führen Rhythmusstörungen häufig zu einer ineffektiven Pumpfunktion mit entsprechender Symptomatik. Häufig kommt es aufgrund von Vorlasterhöhungen (arterielle Hypertonie, Klappenstenosen,...) oder Volumenbelastungen zu Kontraktionsschwäche, Füllungsbehinderung und Rhythmusstörungen, was konsekutiv auch zu einer Nachlasterhöhung führt.

Aufgrund der bisher genannten Ursachen lässt sich ableiten, dass die CHI mit zahlreichen Risikofaktoren assoziiert ist. Hierzu gehören die klassischen Risikofaktoren des kardiovaskulären Systems wie Nikotinabusus, Diabetes mellitus oder Hyperlipidämie (96,61). Aber auch andere metabolische Störungen, sowie Autoimmunerkrankungen mit Herzbeteiligung gelten als Risikofaktoren der CHI (41). Dazu zählen beispielsweise Hyperthyreoidismus, Hypothyreoidismus, sowie Amyloidose und Hämochromatose, durch welche restriktiv-infiltrative Cardiomyopathien entstehen können.

In den 60er-Jahren sind schädigende Wirkungen im menschlichen Organismus durch erhöhte Homocysteinspiegel entdeckt worden. Es ist inzwischen gut bekannt, dass Hyperhomocysteinämie (HHCY) mit zahlreichen Erkrankungen assoziiert ist. Darunter gehören atherosklerotische Erkrankungen, Thrombose, neurologische Erkrankungen (wie kognitive Dysfunktion und Demenz), schwangerschaftsassozierte Erkrankungen (wie Neuralrohrdefekte oder Aborte), Hypertonie und Tumoren (50,49,48,38).

Atherosklerotische Gefäßerkrankungen wie KHK und Schlaganfall sowie thrombotische Erkrankungen gehören zu den am Besten untersuchtesten HHCY-assoziierten Erkrankungen. Zahlreiche retro- und prospektive Studien fanden eine unabhängige Beziehung zwischen einer moderaten HHCY und kardiovaskulären Erkrankungen sowie der Gesamtmortalität (117,39). So wurden bei 20-50% der Patienten mit KHK, Schlaganfall, peripherer arterieller

Verschlusskrankheit und venöser Thrombose eine HHCY gefunden (62,14,116,124,98,84). Ein erhöhtes koronares Risiko wurde konzentrationsabhängig für HCY-Konzentrationen > 10 µmol/l nachgewiesen. Das Herzinfarkttrisiko nimmt zunächst nur moderat zu, steigt aber bei HCY-Spiegeln > 14 µmol/l exponentiell an (69). Der HHCY werden etwa 10% des kardiovaskulären Gesamtrisikos zugeschrieben (117, 23).

Neben diesen Aspekten wurde in den letzten Jahren eine Assoziation zwischen HHCY und CHI entdeckt und näher untersucht. Jüngste Studienergebnisse belegen, dass ein erhöhter HCY-Spiegel in der Zirkulation einen unabhängigen Risikofaktor der CHI darstellt, dem wahrscheinlich auch eine kausale Rolle bei der Entstehung der CHI zukommt (6,115,114).

#### **2.4. Homocystein und B-Vitamine**

Ein Zusammenhang zwischen erhöhten Homocysteinspiegeln in der Zirkulation und kardiovaskulären Veränderungen wurde erstmals im Jahr 1962 an Patienten mit Homocystinurie beschrieben. Carson und Neil berichteten über das gehäufte Auftreten von deutlich erhöhten HCY-Konzentrationen im Urin von geistig retardierten Kindern in Belfast. Die Erkrankung erhielt den Namen Homocystinurie und wurde simultan auch noch von zwei weiteren Gruppen in Philadelphia und Milwaukee entdeckt (13,33).

Neben den gut bekannten klassischen Aspekten der HHCY als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen, neurologische Erkrankungen und schwangerschaftsassozierte Erkrankungen wurde erst in den letzten Jahren ein starker Zusammenhang zwischen moderater HHCY und dem Risiko für osteoporotische Frakturen festgestellt (113,71). Ähnlich dazu wurde erst vor wenigen Jahren bekannt, dass ein Zusammenhang zwischen HHCY und CHI existiert. Aufgrund der Prävalenz und Inzidenz dieser Erkrankung ist dieser neue Aspekt von hohem Allgemeininteresse.

Homocystein ist eine nicht proteinbildende schwefelhaltige Aminosäure und tritt im Plasma in drei Formen auf. Abbildung 2 gibt einen Überblick über die verschiedenen Formen von HCY in der Zirkulation.

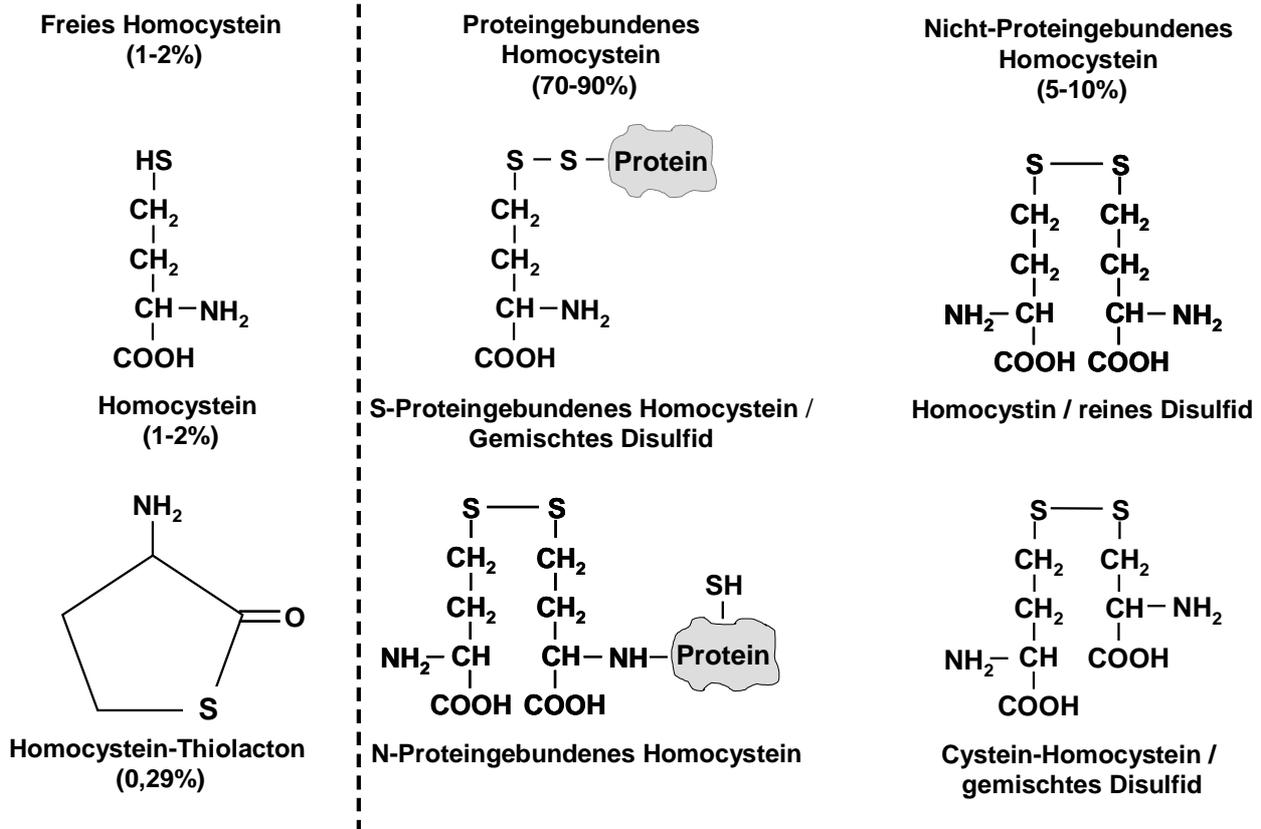


Abb. 2: HCY-Formen in der Zirkulation

HCY entsteht als Intermediärprodukt im Stoffwechsel der Aminosäure Methionin. Als essentielle proteinogene Aminosäure wird Methionin im menschlichen Körper nicht gebildet, sondern muss über die Nahrung aufgenommen werden. Methionin spielt eine zentrale Rolle bei der Bereitstellung von Methylgruppen für zahlreiche Akzeptoren, wie z.B. Desoxyribonukleinsäure (DNA), Ribonukleinsäure (RNA), Epinephrin, Melatonin oder Kreatin (16). Ferner dient die bei dem Abbau entstehende freie Sulfhydrylgruppe der Synthese von Cystein, einer anderen proteinogene Aminosäure.

Im ersten Schritt wird ein Adenosylrest von einem Adenosintriphosphat (ATP)-Molekül auf Methionin übertragen. Dabei wird energiereiches S-Adosylmethionin (SAM) gebildet, das seine Methylgruppe leicht übertragen kann und den wichtigsten Methylgruppendonor im Zellstoffwechsel darstellt.

Bei der Methylgruppenübertragung (Transmethylierung) werden meist Stickstoff- oder Sauerstoffatome methyliert.

Nach Abgabe der Methylgruppe bleibt S-Adenosylhomocystein (SAH) übrig, das durch Hydrolyse in Adenosin und HCY aufgespalten wird. Diese Hydrolyse wird durch SAH-Hydrolase katalysiert.

HCY ist zytotoxisch, weswegen seine Konzentration in der Zelle niedrig gehalten werden muss. Unter normalen Bedingungen kann dies über drei möglichen Mechanismen gewährleistet werden: den irreversiblen Abbau über den Transsulfurierungsweg zu Cystein und Glutathion, die Remethylierung zu Methionin oder den Export aus der Zelle.

Bei der Transsulfurierung entsteht aus HCY und Serin das Kondensationsprodukt Cystathionin. Dieser Schritt wird durch die Cystathionin- $\beta$ -Synthase (CBS) katalysiert. Diese benötigt Vitamin B<sub>6</sub> als Kofaktor. Das entstandene Cystathionin wird anschließend durch die  $\gamma$ -Cystathionase (CS) irreversibel in Cystein und Glutathion abgebaut. CS ist ebenfalls ein Vitamin B<sub>6</sub>-abhängiges Enzym.

Bei der Remethylierung wird eine Methylgruppe durch das Vitamin B<sub>12</sub>-abhängige Enzym Methioninsynthase (MS) auf HCY übertragen. Dabei wirkt 5-Methyltetrahydrofolsäure (5-MTHF) als Methylgruppendonor. Alternativ kann die Methylgruppe auch von Betain geliefert werden und mittels der Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT) auf das HCY übertragen werden. Diese Reaktion ist jedoch auf die Leber beschränkt.

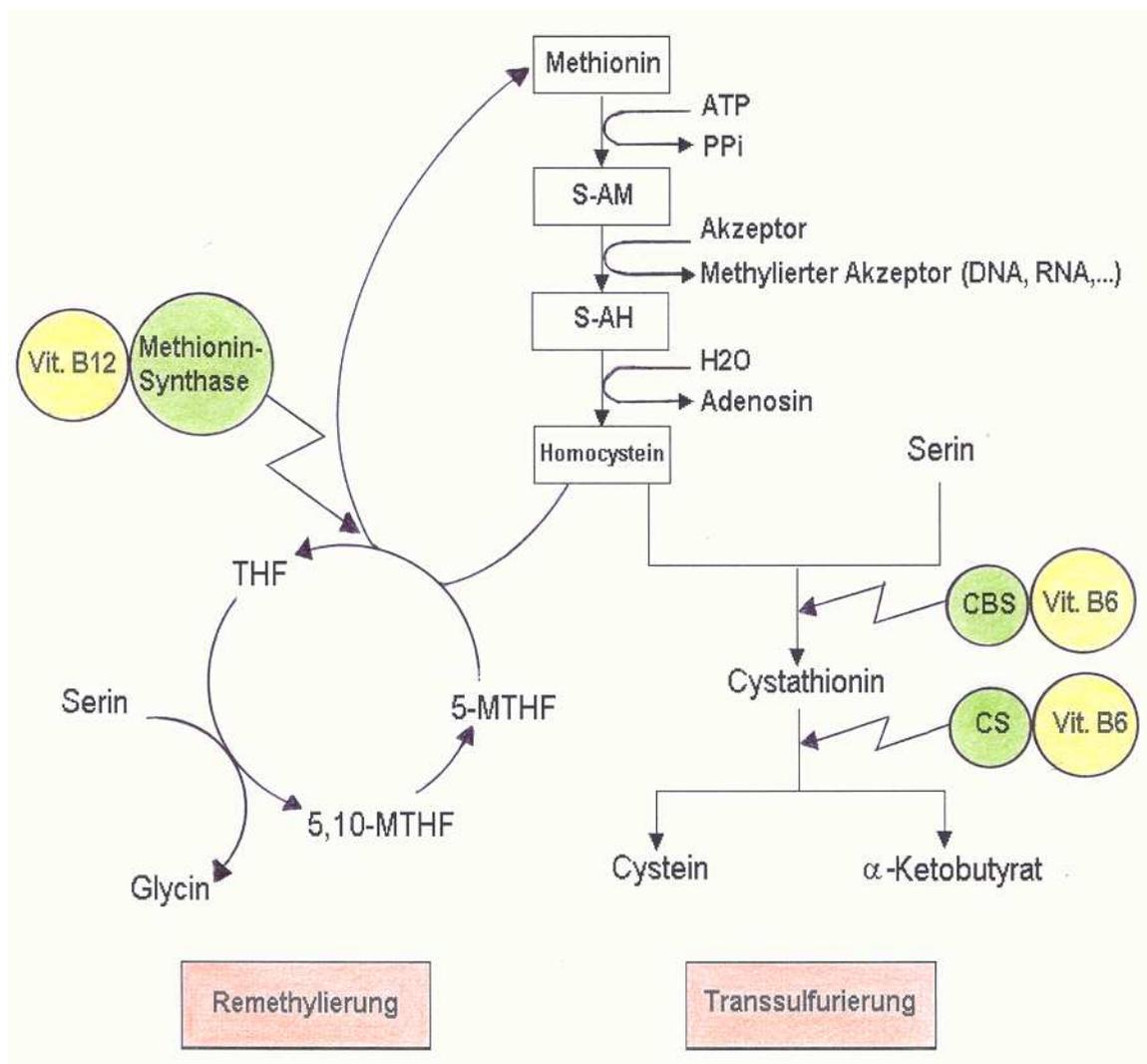


Abb. 3: Stoffwechsel von Methionin und Homocystein. ATP: Adenosintriphosphat, Vit. B-6: Vitamin B<sub>6</sub>, Vit. B-12: Vitamin B<sub>12</sub>, CBS: Cystathionin-β-Synthase, CS: Cystathionase, Ppi: Pyrophosphat, SAM: S-Adenosylmethionin, SAH: S-Adenosylhomocystein, THF: Tetrahydrofolat, 5-MTHF: 5-Methyltetrahydrofolat, 5,10-MTHF: 5,10-Methyltetrahydrofolat

Da sowohl bei der Transsulfurierung als auch bei der Remethylierung Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und Vitamin B<sub>6</sub> an zentraler Stelle involviert sind, ist es einleuchtend, dass diese Vitamine für die Aufrechterhaltung eines niedrigen intrazellulären HCY-Gehaltes essentiell sind. Bei einer Unterversorgung mit diesen Vitaminen kommt es zu einer Einschränkung der Aktivität der entsprechenden Enzyme, wodurch der für die Zelle essentielle HCY-Abbau gehemmt wird. Wegen seiner Zytotoxizität wird HCY dann verstärkt aus der Zelle exportiert und ist im

Plasma vermehrt nachweisbar (97,28,58). Ein erhöhter HCY-Spiegel kann somit ein Indikator eines niedrigen B-Vitamin-Status sein. Andererseits sind B-Vitamin-Mängel die absolut häufigste Ursache der HHCY.

Die HHCY kann in moderate, intermediäre und schwere Formen unterteilt werden. Schwere HHCY ( $>100 \mu\text{mol/l}$ ) sind zumeist durch seltene genetische Defekte, wie sie bei der Homocystinurie vorliegen, verursacht. Bei der Homocystinurie ist aufgrund einer Mutation im CBS-Gen die Transsulfurierungskapazität eingeschränkt. Moderate ( $12\text{-}30 \mu\text{mol/l}$ ) HHCY wird hauptsächlich durch Mängel an Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und Vitamin B<sub>6</sub> hervorgerufen. Ausgeprägte Vitaminmängel sind häufig die Ursache für intermediäre ( $>30\text{-}100 \mu\text{mol/l}$ ) und schwere ( $>100 \mu\text{mol/l}$ ) HHCY. Dabei stellt Folsäuremangel den in Industrieländern am meisten verbreiteten Vitaminmangel dar. In Deutschland, Österreich und der Schweiz liegt die durchschnittliche tägliche Folsäureaufnahme mit der Nahrung unter  $300 \mu\text{g}$ , dementsprechend deutlich unter der empfohlenen Zufuhr von  $400 \mu\text{g}$  Folsäureäquivalenten pro Tag (22). Folat gehört zu den wasserlöslichen Vitaminen und ist vorwiegend in frischem Obst und Gemüse enthalten. Aufgrund der eingeschränkten Verfügbarkeit dieser Produkte, gerade in den Wintermonaten, und des damit verbundenen unzureichenden Konsums sowie Verlusten bei Lagerung und Verarbeitung (hitze- und lichtempfindlich) ist die Folataufnahme unzureichend (104,107).

Ursächlich für einen Mangel an Vitamin B<sub>12</sub>, das durch Lagerung oder Lebensmittelzubereitung kaum zerstört wird, sind oft Störungen der Resorption. Trotz ausreichender Zufuhr über die Nahrung kann Vitamin B<sub>12</sub> durch altersbedingte Veränderungen der Magensäuresekretion und eine damit verbundene pH-Erhöhung oder einen Intrinsic Faktor-Mangel nicht adäquat resorbiert werden. Eine gestörte Vitamin B<sub>12</sub>-Resorption betrifft 30-40% der älteren Bevölkerung (50,12).

Da HCY zu einem Großteil in der Niere metabolisiert wird, geht eine gestörte Nierenfunktion ebenfalls mit erhöhten HCY-Konzentrationen in der Zirkulation einher. Mit zunehmendem Alter nimmt die Nierenfunktion stetig ab. Aufgrund dessen steigt bei älteren Menschen die Prävalenz der HHCY stetig an.

Angesichts dieser Situation stellt die potentielle Möglichkeit einer einfachen und kostenarmen Behandlung dieser Vitaminmängel durch eine gezielte Supplementation eine überaus interessante Option in der Therapie und Prophylaxe der HHCY und somit der CHI dar. Der klinische Nutzen einer Vitaminsupplementation in der Primär- und Sekundärprävention ist für viele Erkrankungen aber noch nicht hinreichend belegt und deshalb Gegenstand aktueller Studien.

## 2.5. B-Vitamine und CHI

Der Zusammenhang zwischen HHCY und kardiovaskulären Erkrankungen ist seit Jahrzehnten bekannt und gut belegt (85,105,48). Eine Assoziation zwischen HHCY und CHI wurde hingegen erstmals 1999 vermutet. In einer Studie mit 75 terminal nierenerkrankten Patienten zeigten Blacher et al. eine statistisch signifikante, positive Korrelation zwischen plasmatischem HCY und dem kardialen Massenindex. Zudem war HCY mit dem enddiastolischen linksventrikulären Durchmesser korreliert (6).

Eine direkte Beziehung zur CHI wurde dann 2003 durch Vasan et al. belegt (114). In dieser Subanalyse der Framingham-Studie, waren 2491 Erwachsene involviert. Individuen mit einem HCY-Spiegel über dem geschlechtsspezifischen Median zeigten eine signifikant höhere Indizenz der CHI. In der multivariaten Regressionsanalyse wurde ein hohes HCY als unabhängiger Risikofaktor der CHI bestätigt.

Aus diesen Studien konnten dennoch keine direkten Konsequenzen gezogen werden. Insbesondere blieb bei diesem festgestelltem Zusammenhang noch unklar, ob HHCY ein kausaler Risikofaktor für CHI ist, oder ein Risikoindikator ohne direkte Effekte, ein Epiphänomen.

Ventura et al. fanden bei 600 älteren stationären Patienten eine gehäufte Koexistenz von HHCY (Konzentration  $>15\mu\text{mol/l}$ ) und CHI (115). Eine Pilotstudie von Hermann et al. zeigte, dass HCY nicht nur mit der Inzidenz der CHI assoziiert ist, sondern auch mit dem Schweregrad der Erkrankung. In diesem Kollektiv von 95 Patienten und 18 gesunden Kontrollen korrelierte HCY mit klinischen, echographischen und laborchemischen Parametern der CHI (51).

Neben diesen klinischen Beobachtungen stehen einige experimentelle Daten bezüglich der Rolle von HHCY in der Pathogenese der CHI zur Verfügung. Joseph et al. behandelten hypertensive Ratten mit einer HCY angereicherten Diät beziehungsweise mit einer Kontrolldiät. Nach 10 Wochen Behandlung zeigte sich bei zunehmenden HCY-Spiegeln eine Akkumulation von Kollagen und Mastzellen, als Hinweis auf einen pathologischen kardialen Remodelling. Ferner war die Induktion einer diastolischen Dysfunktion durch HHCY zu beobachten (60). In einer weiteren Studie von Joseph et al. wurden normotensive Ratten mit der HHCY-induzierenden Diät, beziehungsweise mit der Kontrolldiät für 10 Wochen behandelt. Die Ergebnisse waren mit den Beobachtungen an den hypertensiven Ratten übereinstimmend. Parallel zur Entwicklung einer HHCY fanden sich Hypertrophie und Remodelling der beiden Ventrikeln, sowie eine diastolische Dysfunktion (59).

In einer ähnlich aufgebauten Studie zeigten Herrmann et al. eine gesteigerte Induktion des BNP, biochemischer Marker der CHI, durch HHCY. Nach einer 12-wöchigen HCY-angereicherten Diät wiesen die untersuchten Ratten signifikant höhere BNP-Konzentrationen im Gewebe als die Kontrollgruppe (52).

Walker et al. behandelten Ratten mit täglichen Injektionen von HCY über 2 Wochen. Hierunter stieg das plasmatische HCY etwa um das Zweifache an. Echokardiographisch waren bei den behandelten Tieren die diastolischen und systolischen Dimensionen des linken Ventrikels signifikant erhöht. Diskrete Veränderungen der Ejektionsfraktion und der fraktionellen Verkürzung traten auf, waren jedoch statistisch nicht signifikant oder ähnlich zu den Veränderungen bei Kontrolltieren (118).

Aus diesen ersten Daten lassen sich die Induktion eines pathologischen kardialen Remodellings, einer Hypertrophie und einer diastolischen Dysfunktion unter isolierter HHCY vermuten.

Die existierenden Daten bezüglich HCY und CHI lassen vermuten, dass B-Vitamine, aufgrund ihrer Rolle im HCY-Metabolismus, insbesondere im Falle eines Mangels, mit der CHI assoziiert sind. Bislang existieren diesbezüglich allerdings kaum Studien.

Gorelik et al. verglichen in einer Querschnittsstudie die Nahrungsaufnahme, auch bezüglich Folsäure, von 57 konsekutiv hospitalisierten CHI-Patienten mit 40 Kontrollen (37). Zwischen den zwei Gruppen wurde kein Unterschied bezüglich der Nahrungsaufnahme festgestellt. In beiden Kollektiven lag jedoch die Folsäureaufnahme unter dem empfohlenen Tagesbedarf.

In einer weiteren Studie fanden Herzlich et al. eine reduzierte EF bei Individuen mit einem Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel (55).

Ferner können auch epidemiologische Daten aus den USA vor und nach 1998 verglichen werden, da in diesem Jahr eine flächendeckende Lebensmittelfortifikation mit Folsäure eingeführt wurde. Dabei wurde im Rahmen des Rochester Epidemiology Projektes herausgefunden, dass die Inzidenz der CHI zwischen 1991 und 2000 unverändert hoch war, aber die CHI-bedingte Sterblichkeit deutlich abnahm (89).

Tab. 1: Übersicht über die Studien zum Thema CHI, HCY und B-Vitamine.

[HCY]-plasmatische HCY-Konzentration, LVEDD-linksventrikulärer enddiastolischer Druck

Klinische Studien

	Betrachtete Population	Ergebnis / Schlussfolgerung
Blacher et al.	75 terminal nierenerkrankten Patienten	Positive Korrelation zwischen [HCY] und kardialen Massenindex, sowie [HCY] und LVEDD
Vasan et al.	2491 Erwachsene aus der Framingham-Population	Signifikant höhere CHI-Inzidenz bei Individuen mit [HCY] über dem Median
Ventura et al.	600 ältere stationäre Patienten	Gehäufte Koexistenz von HHCY und CHI
Herrmann et al.	95 CHI-Patienten, 18 gesunde Kontrollen	Korrelation von [HCY] mit dem CHI-Schweregrad
Gorelik et al.	57 CHI-Patienten, 40 Kontrollen	Folataufnahme über die Nahrung in beiden Gruppen unter dem empfohlenen Tagesbedarf
Herzlich et al.	367 ältere Patienten	Vitamin B12-Mangel mit einer signifikant niedrigeren Ejektionsfraktion assoziiert
Rochester Epidemiology Project	Einführung der Folsäurefortifikation von Lebensmitteln in der USA-Population	CHI-Inzidenz unverändert, Abnahme der CHI-bedingten Sterblichkeit

Experimentalstudien

	Betrachtete Population	Experiment / Intervention	Ergebnis
Joseph et al.	Hypertensive Ratten	HHCY-induzierende Diät bzw. Kontrolldiät	Diastolische Dysfunktion induziert durch HHCY
Joseph et al.	Normotensive Ratten	HHCY-induzierende Diät bzw. Kontrolldiät	Hypertrophie und Remodelling mit diastolischer Dysfunktion durch HHCY
Herrmann et al.	Ratten, mit Kontrollen	HCY-angereicherte Diät	Erhöhung der BNP-Konzentration
Walker et al.	Ratten, mit Kontrollen	HHCY-induzierende Diät bzw. Kontrolldiät	Zunahme der Ventrikeldimensionen

Die Leber spielt eine zentrale Rolle im Metabolismus der Vitamine: Wasserlösliche Vitamine sind in beträchtlicher Menge in der Leber enthalten. Etwa die Hälfte des Folsäure-Bestandes des Organismus wird hier gespeichert. Vitamin B<sub>12</sub> wird in Hepatozyten als Holohaptocorrin (auch Holotranscobalamin I genannt), eine inaktive Form des Vitamins, gespeichert (126,45). Im Serum wird ca. 20% des Vitamin B<sub>12</sub> an Transcobalamin II gebunden und stellt als Holotranscobalamin II die aktive Form des Vitamins B<sub>12</sub>. Die anderen 80% im Serum werden an Haptocorrin (Transcobalamin I und III) gebunden und stellen inaktive Formen dar.

Ferner spielen sich in der Leber auch ein Teil der Reaktionen im Rahmen des Vitamin B<sub>6</sub>-Stoffwechsels ab. Daraus lässt sich ableiten, dass eine suffiziente Leberfunktion für eine adäquate Versorgung mit zahlreichen Vitaminen, wie Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub>, unerlässlich ist. Dies könnte bei CHI, im Rahmen einer kardialen Hepatopathie, möglicherweise kompromittiert sein. Dieses Gebiet wurde seit der erstmaligen Beschreibung allerdings kaum systematisch untersucht, so dass die Mechanismen weitgehend unerforscht sind.

Eine Störung der hepatischen Funktion manifestiert sich oft wenn der Druck im rechten Vorhof über 10mmHg steigt und der kardiale Index unter 1,5l/min/m<sup>2</sup> sinkt (26). Bei histologischen Analysen der Leberschädigung wurden Hyperämie, Kollagenablagerung sowie Fibrose gefunden. Bei der Messung der Leberfunktionsparameter im Blut wird ein cholestatisches Profil der Leberenzyme erwartet, das durch einen Anstieg der  $\gamma$ -Glutamyl-Transferase und der alkalischen Phosphatase gekennzeichnet ist (18). Batin et al. untersuchten die Leberfunktion herzinsuffizienter Patienten mittels laborchemischen Parametern, um deren prognostischen Signifikanz zu kennzeichnen. Zur Leberfunktionsprüfung wurden Bilirubin, Aspartat-Aminotransferase,  $\gamma$ -Glutamyl-Transpeptidase und die alkalische Phosphatase bestimmt. Die Patienten wurden über einen maximalen Zeitraum von 13 Jahren beobachtet. Auffällige Leberwerte waren alle signifikant mit der Mortalität korreliert (4).

## **2.6. Zielsetzung der Arbeit**

Mehrere klinische und experimentelle Studien konnten nachweisen, dass eine HHCY einen Risikofaktor der CHI darstellt. Eine Unterversorgung mit Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und B<sub>6</sub> ist die häufigste Ursache der HHCY im Erwachsenenalter. Es besteht somit die Frage, ob Mängel an Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und B<sub>6</sub> über die Entwicklung einer HHCY in den Pathomechanismen der CHI involviert sind. Das Ziel der vorliegenden Arbeit bestand daher in der Untersuchung der Bedeutung des Mangels an B-Vitaminen für die Entwicklung der Herzinsuffizienz.

In einem Kollektiv von herzinsuffizienten Patienten sollten das NYHA-Stadium als klinisches sowie BNP und die Ejektionsfraktion als funktionelle Zeichen der Herzinsuffizienz erfasst werden und zu den plasmatischen B-Vitaminspiegeln in Verhältnis gesetzt werden. Darüber hinaus sollte durch die Messung der hepatischen Funktionsmarker analysiert werden, ob Auffälligkeiten im B-Vitamin-Status von CHI-Patienten mit einer Beeinträchtigung der Leberfunktion einhergehen.

### **3. Patienten und Methodik**

#### **3.1. Studienaufbau**

Im Rahmen der vorliegenden Studie wurden 987 herzinsuffiziente Patienten untersucht, die zwischen Oktober 2003 und September 2004 in der Klinik für Innere Medizin III behandelt wurden. Bei allen Patienten wurde eine ausführliche Anamnese erhoben und eine körperliche Untersuchung durch einen erfahrenen Kardiologen durchgeführt, der in Bezug auf die Studie verblindet war. Ausgenommen der laborchemischen Analysen wurden alle Parameter im Rahmen des Routinebetriebes erhoben. Neben körperliche Untersuchung und Anamnese wurde eine standardisierte venöse Blutentnahme um 8.00 Uhr morgens bei allen Probanden durchgeführt. 929 Teilnehmer erhielten eine Koronarangiographie, die nach den Richtlinien der American Heart Association durchgeführt wurde. Eine Untergruppe von 460 Patienten wurde einer Echokardiographie unterzogen. Aus den Blutproben wurden folgende Parameter bestimmt: HCY, Vitamin B<sub>12</sub>, Folsäure, NT-proBNP, Kreatinin, glomeruläre Filtrationsrate, Alanin-aminotransferase, Aspartat-aminotransferase,  $\gamma$ -Glutamyltransferase, Cholinesterase, C-reaktives Protein. Anschließend wurden die Blutparameter und die klinischen Befunden durch statistische Verfahren auf potentielle Zusammenhänge hin untersucht.

#### **3.2. Klinische und apparative Untersuchungen**

Alle Patienten wurden durch einen erfahrenen Kardiologen befragt und körperlich untersucht. Bei der Anamnese wurden insbesondere folgende Punkte berücksichtigt: klinische Symptomatik, Risikofaktoren, Medikamente, Vor- und Begleiterkrankungen. Anhand der Ergebnisse von Anamnese und Untersuchung wurde das Stadium der CHI nach der Klassifikation der NYHA festgelegt (siehe Einleitung).

Bei 929 Patienten wurde eine standardisierte Herzkatheteruntersuchung nach den Richtlinien der AHA durchgeführt. Koronarangiographie und Ventrikulographie erfolgten in rechtsanterioren Schrägprojektion (RAO 30°/0°).

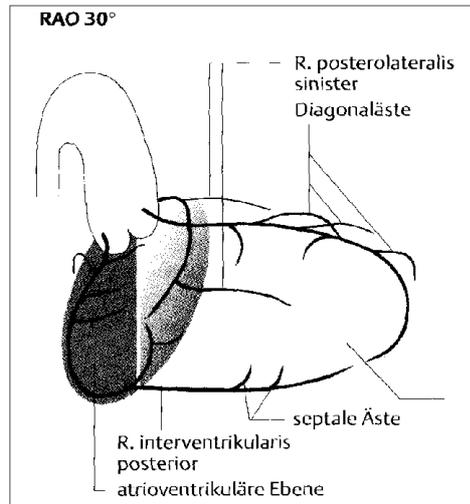


Abb. 4: Darstellung der RAO-Projektion aus Kardiologie compact, Mewis et al. Thieme 2006

Bei der Ventrikulographie, die sich zur Quantifizierung von globaler und regionaler Ventrikelfunktion sowie zu hämodynamischen Messungen eignet, wurde der linksventrikuläre enddiastolische Füllungsdruck (LVEDP) ermittelt. Mit Hilfe einer speziellen Software (Phillips, Digital Cardiac Imaging, relais 5) wurden das linksventrikuläre enddiastolische und endsystolische Volumen bestimmt und die Ejektionsfraktion berechnet.

In einer Subgruppe von 460 Patienten erfolgte zusätzlich eine Echokardiographie mit Bestimmung des linksventrikulären Durchmessers, der Ejektionsfraktion, der interventrikulären Wanddicke, sowie der fraktionellen Verkürzung (FS). Diese Parameter können im M-Mode in der standardisierten parasternalen Längsachse, sowie in der 2D-Echokardiographie im apikalen 4-Kammer-Blick evaluiert werden.

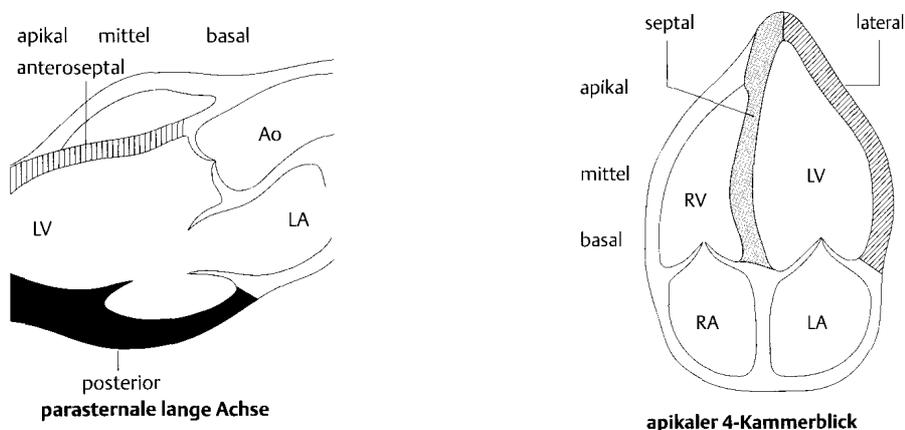


Abb. 5 : Standardprojektionen in der Echokardiographie aus Wilkenshoff, Kruck (1998) Handbuch der Echokardiographie. Blackwell

Für Erwachsene werden folgende Werte als Normalbereiche betrachtet (30):

Ejektionsfraktion >60%

Linksventrikulärer enddiastolischer Diameter LVEDD 36-55 mm

Linksventrikulärer endsystolischer Diameter LVESD 23-40 mm

Interventrikuläres Septum, IVS 7-12 mm

Fraktionelle Verkürzung, FS >25%

### **3.3. Blutanalytik**

Bei allen Probanden wurde um 8.00 Uhr morgens eine venöse Nüchternblutentnahme durchgeführt (EDTA-Plasma und Serum Proben). Das Blut wurde innerhalb von 30 Minuten gekühlt ins Labor transportiert. Innerhalb von 45 Minuten nach Entnahme wurden die Blutproben zentrifugiert, Serum bzw. Plasma von den zellulären Bestandteilen getrennt und anschließend bis zum Zeitpunkt der Messung bei -20°C gelagert.

#### Vitamin B<sub>12</sub>

Die quantitative Vitamin B<sub>12</sub>-Bestimmung erfolgte mit einem kompetitiven Chemilumineszenz Immunoassay auf einem ACS Centaur Analysegerät (Bayer Diagnostics, Fernwald). Dabei konkurriert Vitamin B<sub>12</sub> in der Patientenprobe mit Acridiniumester markiertem Vitamin B<sub>12</sub> aus dem zugegebenen Reagenz um eine begrenzte Menge an gereinigtem Intrinsic-Faktor. Dieser ist kovalent an paramagnetische Partikel in der festen Phase gebunden. Zuvor wird der Probe jedoch ein Releasing Agens (Natriumhydroxid) und DTT (Dithiothreitol) zugegeben, die eine Freisetzung von Vitamin B<sub>12</sub> aus endogenen Bindungsproteinen bewirken. Anschließend werden feste Phase und das Acridiniumester-markierte Vitamin B<sub>12</sub> zugegeben und bei 37°C inkubiert. Zugewetztes Cobinamid verhindert eine Rückbindung von Vitamin B<sub>12</sub> an endogene Bindungsproteine. Nach gründlichem Waschen mit entionisiertem Wasser wird durch Zugabe von Säure und Base die Chemilumineszenz-Reaktion ausgelöst. Zwischen der Menge an Vitamin B<sub>12</sub> in der Probe und den vom System gemessenen Lichteinheiten besteht eine umgekehrt-proportionale Beziehung. Intra- und Interassay Variationskoeffizient dieser Methode betragen < 4.0% und < 4.4%.

### Folsäure

Folsäure wurde mit einem kompetitiven Chemilumineszenz Immunoassay gemessen (Bayer Diagnostics, Fernwald). Folsäure in der Patientenprobe und Acridiniumester-markierte Folsäure im zugegebenen Reagenz konkurrieren um eine begrenzte Menge an Folsäurebindendem Protein, das mit Biotin markiert ist. Dieses Protein bindet an Avidin, das kovalent an paramagnetische Partikel in der Festphase gebunden ist. Die Proben werden, zur Trennung der Folsäure von den endogenen Bindeproteinen, mit einem Releasing Agens das DTT enthält, vorbehandelt. Nach Zugabe und Inkubation (37°C) des Folsäure-Bindeproteins und der festen Phase wird Acridiniumester-markierte Folsäure zugegeben und inkubiert (37°C). Nach gründlichem Waschen mit entionisiertem Wasser wird durch Zusatz von Säure und Base die Chemilumineszenz ausgelöst. Zwischen der Folsäure-Menge in der Patientenprobe und den vom System gemessenen relativen Lichteinheiten besteht eine umgekehrt-proportionale Beziehung. Die Analyse erfasst 5-Methyltetrahydrofolsäure. Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen < 5.3% und < 5.5%.

### Homocystein

Plasma-Homocystein wurde mit einem enzymatischen Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassay von Abbott auf einem AxSYM Analysengerät (Abbott, Wiesbaden) gemessen. Gesamt-HCY im Plasma bildet die Summe aus gebundenem oxidiertem HCY, reduziertem HCY und dem Disulfid Homocystin. Im Test werden Homocystin und proteingebundene Formen von HCY in der Probe durch DTT zu freiem HCY reduziert. Das freie HCY wird dann durch S-Adenosyl-L-Homocystein-Hydrolase (SAH-Hydrolase) und überschüssiges Adenosin zu SAH umgewandelt.

SAH und ein SAH-markierter Fluoreszein-Tracer konkurrieren um die Bindungsstellen an monoklonalen Antikörpermolekülen (Anti-S-Adenosyl-L-Homocystein). Die Intensität des polarisierten Fluoreszenzlichtes wird mit einem optischen Messsystem gemessen.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen < 4.5% und < 5.1%.

### NT-proBNP

NT-proBNP wurde mittels eines Chemilumineszenz Immunoassay an einem Elecsys Modul E170 quantifiziert (PPE-Modul, Roche Diagnostics). Der Test enthält biotinylierte polyklonale NT-proBNP spezifische Antikörper und Ruthenium-Komplex markierte polyklonale NT-proBNP spezifische Antikörper, die mit Antigenen aus der Patientenprobe

Sandwich-Komplexe bilden. Nach Zugabe von Steptavidin beschichteten Mikropartikeln werden die Komplexe an die Festphase gebunden. In der Messzelle werden die Partikel durch magnetische Wirkung auf der Oberfläche der Elektrode fixiert. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 2.7\%$  und  $< 3.2\%$ .

### Creatinin

Creatinin wurde mittels eines kinetischen Farbtests mit kommerziellen Reagenzien von Roche Diagnostics (Deutschland) an einem Hitachi 917 (Roche Diagnostics, Deutschland) Analysengerät gemessen. Natronlauge wird zur Patientenprobe zugegeben. Nach Zugabe von Pikrinsäure startet die Reaktion:



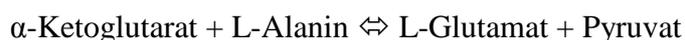
In alkalischer Lösung bildet Creatinin mit Pikrinsäure einen gelb-orange gefärbten Komplex. Die Farbintensität des Komplexes ist direkt proportional zur Creatininkonzentration und wird photometrisch gemessen.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 5\%$  und  $< 5\%$ .

Die glomeruläre Filtrationsrate wurde mittels der von der „Modification of Diet in Renal Disease Study Group“ vorgeschlagenen Formel (MDRD-Formel) berechnet (64).

### Alanin-Aminotransferase

Alanin-Aminotransferase (ALAT) wurde in einem kinetischen UV-Test mit kommerziellen Reagenzien von Roche Diagnostics (Deutschland) auf einem Hitachi 917 Analysengerät (Roche Diagnostics, Deutschland) gemessen. L-Alanin, NADH, Lactat-Dehydrogenase (LDH) und ein Puffer werden zur Patientenprobe zugegeben. Nach Zugabe von  $\alpha$ -Ketoglutarat startet die ALAT-katalysierte Gleichgewichtsreaktion:



Die Pyruvatzunahme wird dann in einer Lactat-Dehydrogenase-katalysierten Indikatorreaktion bestimmt:

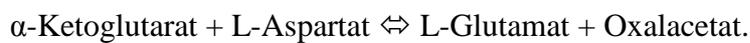


Die Geschwindigkeit der photometrisch gemessenen NADH-Abnahme ist direkt proportional zu der Bildungsgeschwindigkeit von Pyruvat und somit von der ALAT-Aktivität.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 5\%$  und  $< 5\%$ .

#### Aspartat-Aminotransferase

Aspartat-Aminotransferase (ASAT) wurde in einem kinetischen UV-Test, mit kommerziellen Reagenzien von Roche Diagnostics Deutschland, auf einem Hitachi 917 Analysengerät (Roche Diagnostics, Deutschland) bestimmt. Zur Patientenprobe werden L-Aspartat, NADH, Malat-Dehydrogenase (MDH), LDH und ein Puffer zugegeben. Anschließend wird  $\alpha$ -Ketoglutarat hinzugefügt und die ASAT-katalysierte Reaktion eingeleitet:



Die Oxalacetatzunahme wird in einer MDH katalysierten Indikatorreaktion bestimmt:

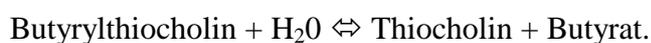


Die Geschwindigkeit der photometrisch gemessenen NADH-Abnahme ist direkt proportional zu der Oxalacetatbildungsgeschwindigkeit und somit der ASAT-Aktivität.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 5\%$  und  $< 5\%$ .

#### Cholinesterase

Cholinesterase (CHE) wurde mittels eines kinetischen Farbtests, mit kommerziellen Reagenzien von Roche Diagnostics, Deutschland, auf einem Hitachi 917 Analysengerät (Roche Diagnostics, Deutschland) quantifiziert. Dabei werden Puffer und Kaliumhexacyanoferrat (III) zur Probe zugegeben. Durch Butyrylthiocholin startet die CHE-katalysierten Reaktion:

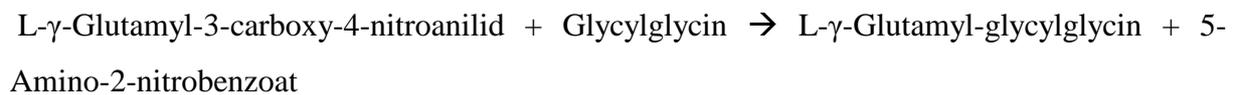


Das gelbe Hexacyanoferrat (III) wird durch Thiocholin sofort zu dem fast farblosen Hexacyanoferrat (II) reduziert. Die Farbabnahme wird bei Wellenlängen zwischen 405 und 415 nm gemessen.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 5\%$  und  $< 5\%$ .

### Gamma-Glutamyltransferase

Gamma-Glutamyltransferase ( $\gamma$ GT) wurde in einem enzymatischen Farbttest, mit kommerziellen Reagenzien von Roche Diagnostics, Deutschland, auf einem Hitachi 917 Analysengerät (Roche Diagnostics, Deutschland) gemessen. Zunächst werden ein Puffer und Glycylglycin zur Probe zugegeben, gefolgt von L- $\gamma$ -Glutamyl-3-carboxy-4-nitroanilid, mit Start der  $\gamma$ GT-abhängigen Reaktion:



Das gebildete 5-Amino-2-nitrobenzoat ist proportional zu der  $\gamma$ GT-Aktivität und wird photometrisch gemessen.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 5\%$  und  $< 5\%$ .

### C-reaktives Protein

C-reaktives Protein (CRP) wurde in einem immunturbidimetrischen Test, mit kommerziellen Reagenzien von Roche Diagnostics, Deutschland, auf einem Hitachi 917 Analysengerät (Roche Diagnostics, Deutschland) quantitativ bestimmt. Nach Puffer-Zugabe zur Probe werden Latexpartikel, die mit einem monoklonalen Anti-CRP-Antikörper beschichtet sind, hinzugefügt. Die an Latex-Mikropartikel gebundenen Anti-CRP-Antikörper reagieren mit dem CRP aus der Patientenprobe unter Bildung eines Antigen-Antikörper-Komplexes. Dieser wird nach der Agglutination turbidimetrisch gemessen.

Intra- und Interassay Variationskoeffizient betragen  $< 5\%$  und  $< 5\%$ .

Die analytische Qualität aller Methoden wurde durch die Ermittlung der Präzision und Richtigkeit, mittels der von den Herstellern der einzelnen Tests empfohlenen Kontrollmaterialien, kontrolliert.

### 3.4. Statistische Auswertung

Die erhobenen Merkmale von jedem Patient und die gemessenen Laborwerte wurden in einer Tabelle im Computerprogramm Excel (Microsoft Excel 2000, Microsoft Corp., 2000) gespeichert. Für die weitere Analyse und Verarbeitung der Daten wurde das SPSS-Statistikprogramm verwendet (SPSS 11.0 für Windows; SPSS Inc., Chicago, USA).

Die anthropometrischen Daten und die deskriptive Statistik wurden als Mittelwerte inklusiv der zugehörigen Standardabweichung angegeben. Anschließend wurden die errechneten Mittelwerte mittels des Mann-Whitney-U-Tests verglichen. Zum Vergleich von mehr als zwei Mittelwerten wurde ein Kruskal-Wallis-Test durchgeführt.

Vor der weiterführenden statistischen Auswertung wurden alle Messgrößen mit einem Kolmogorov-Smirnov-Test auf das Vorliegen einer Normalverteilung hin überprüft. Nicht normalverteilte Daten wurden zur weiteren Auswertung logarithmisch transformiert ( $\lg_{10}$ ). Diese logarithmisch transformierten Variablen wurden anschließend in eine Spearman Korrelationsanalyse eingesetzt. Abschließend wurden verschiedene multivariate Regressionsmodelle errechnet. Als abhängige Variable wurden  $\lg_{10}$ (Ejektionsfraktion EF),  $\lg_{10}$ (NT-proBNP),  $\lg_{10}$ (VitaminB<sub>12</sub>) und  $\lg_{10}$ (ASAT) eingesetzt. Ein p-Wert  $<0.05$  wurde als signifikant betrachtet.

## 4. Ergebnisse

### 4.1. Charakterisierung des Patientenkollektivs

Die Patientenpopulation bestand aus 987 Probanden. Davon befanden sich 362 im NYHA-Stadium I, 389 im Stadium II, 201 im Stadium III und 35 im Stadium IV. Die anthropometrischen Kenngrößen in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Übersicht über die anthropometrischen Kenngrößen des Patientenkollektivs

	Alle Patienten (n = 987)	Männer (n = 685)	Frauen (n = 302)
<b>Alter (Jahre)</b>	63±12	62±12	65±12
<b>Gewicht (kg)</b>	81±16	85±14	74±16
<b>Größe (cm)</b>	170±8	174±7	162±6

Erwartungsgemäß nahm das mittlere Alter mit zunehmendem NYHA-Stadium zu (p=0,004)

NYHA I: 62±12 Jahre

NYHA II: 64±11 Jahre

NYHA III + IV: 64±12 Jahre.

### Risikofaktoren des kardiovaskulären Systems

Die Verteilung der kardialen Risikofaktoren wie Hypertonus, Nikotinabusus, Diabetes mellitus und Hyperlipidämie, sowie der vaskulären Erkrankungen ist in Tabelle 3 zusammengefasst.

Tabelle 3 : Verteilung wichtiger kardialer Risikofaktoren innerhalb des Patientenkollektivs

	<b>Anzahl</b>	<b>Männer</b>	<b>Frauen</b>	<b>Prozent</b>
<b>Hypertonus</b>	789	543	246	80%
<b>Raucher / ehemalige Raucher</b>	177 / 399	143 / 332	34 / 67	18 / 40 %
<b>Diabetes mellitus</b>	236	151	85	24%
<b>Hyperlipidämie</b>	708	497	211	72%
<b>Koronare Herzerkrankung</b>	653	487	166	66%
<b>Myokardinfarkt</b>	283	226	57	29%
<b>Apoplex</b>	78	58	20	8%
<b>pAVK</b>	121	103	18	12%

Erwartungsgemäß waren koronare Herzerkrankung, Hypertonus und Hyperlipidämie die häufigsten kardiovaskulären Risikofaktoren. Die meisten Patienten mit koronarer Herzerkrankung wiesen drei stenosierten Gefäße auf. Diabetes mellitus war der zweithäufigste Risikofaktor und 29% der Patienten hatten bereits einen Infarkt erlitten.

#### **4.2. Medikamentöse Therapie**

Mehr als 95% der Patienten nahmen zum Zeitpunkt der Untersuchung kardiovaskulär relevante Medikamente ein. 42 % der Patienten erhielten eine Medikation seit mehr als einem Jahr. Erwartungsgemäß waren ACE-Hemmer, Beta-Blocker und Diuretika die am häufigsten angewandten Medikamente. Dies kann als Hinweis auf eine medikamentöse Therapie gemäß den geltenden Empfehlungen gewertet werden. In der begleitenden Therapie nahmen ASS und Statine eine herausragende Position ein. Herzglykoside spielten mit 5% nur noch eine marginale Rolle.

Tabelle 4 : Medikamenteneinnahme im Patientengut

	Anzahl Patienten	Männer	Frauen	Prozent
<b>ACE-Hemmer</b>	693	499	194	70%
<b>Beta-Blocker</b>	799	569	230	81%
<b>ASS</b>	611	448	163	62%
<b>Antiarrhythmika</b>	46	39	7	5%
<b>Vitamin K-Antagonisten</b>	89	70	19	9%
<b>AT1-Rez-Blocker</b>	97	60	37	10%
<b>Statine</b>	625	442	183	63%
<b>Digoxin/Digitoxin</b>	52	42	10	5%
<b>Diuretika</b>	650	491	164	66%

### 4.3. HCY und B-Vitamine

Die mittlere HCY-Konzentration betrug 13,8µmol/l (siehe Tabelle 5) und lag damit deutlich über dem von der DACH-LIGA Homocystein empfohlenen Cut-off von 12µmol/l (105). Erwartungsgemäß wiesen Männer signifikant höhere Konzentrationen auf als Frauen. Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> waren mit 6,9mg/l und 379ng/l normwertig. Die Folsäure-Konzentration lag allerdings eher im unteren Referenzbereich.

Tab. 5 : Mittelwert und Standardabweichung der HCY- und Vitaminkonzentrationen

	Alle Patienten	Männer	Frauen
Homocystein (µmol/l)	13,8 ± 7,5	14,2 ± 8,0	12,7 ± 6,2**
Folsäure (mg/l)	6.9 ± 6.3	6.6 ± 6.2	7.5 ± 6.4*
Vitamin B12 (ng/l)	379 ± 276	365 ± 222	411 ± 370

\* p<0,05 vs Männer, \*\*p<0,01 vs Männer

#### 4.4. HCY, B-Vitamine und NYHA-Stadium

##### HCY

Die mittlere HCY-Konzentration war bei den NYHA I-Patienten am niedrigsten und stieg mit zunehmendem NYHA-Stadium signifikant an (Abbildung 6). Die mediane HCY-Konzentration in den NYHA-Stadien I-II lag unterhalb des von der DACH-Liga-Homocystein empfohlenen Cut-offs von 12  $\mu\text{mol/l}$ . Die Patienten der NYHA-Stadien III und IV hingegen wiesen im Mittel HCY-Spiegel oberhalb dieses Wertes auf.

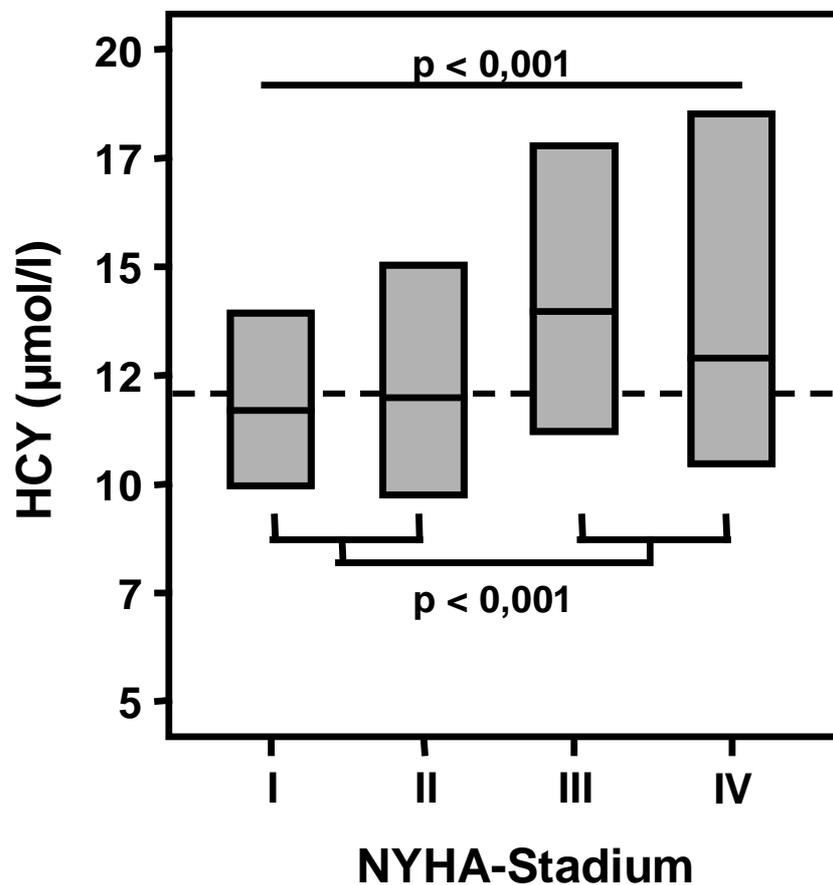


Abb. 6: Boxplot der medianen HCY-Konzentrationen (25.-75. Perzentile) in Abhängigkeit vom NYHA-Stadium I-IV.

## Vitamin B<sub>12</sub>

Die Patienten im NYHA I-Stadium wiesen die niedrigste Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentration. Die Patienten mit höherem NYHA-Stadium signifikant höhere Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen auf (Abb. 7).

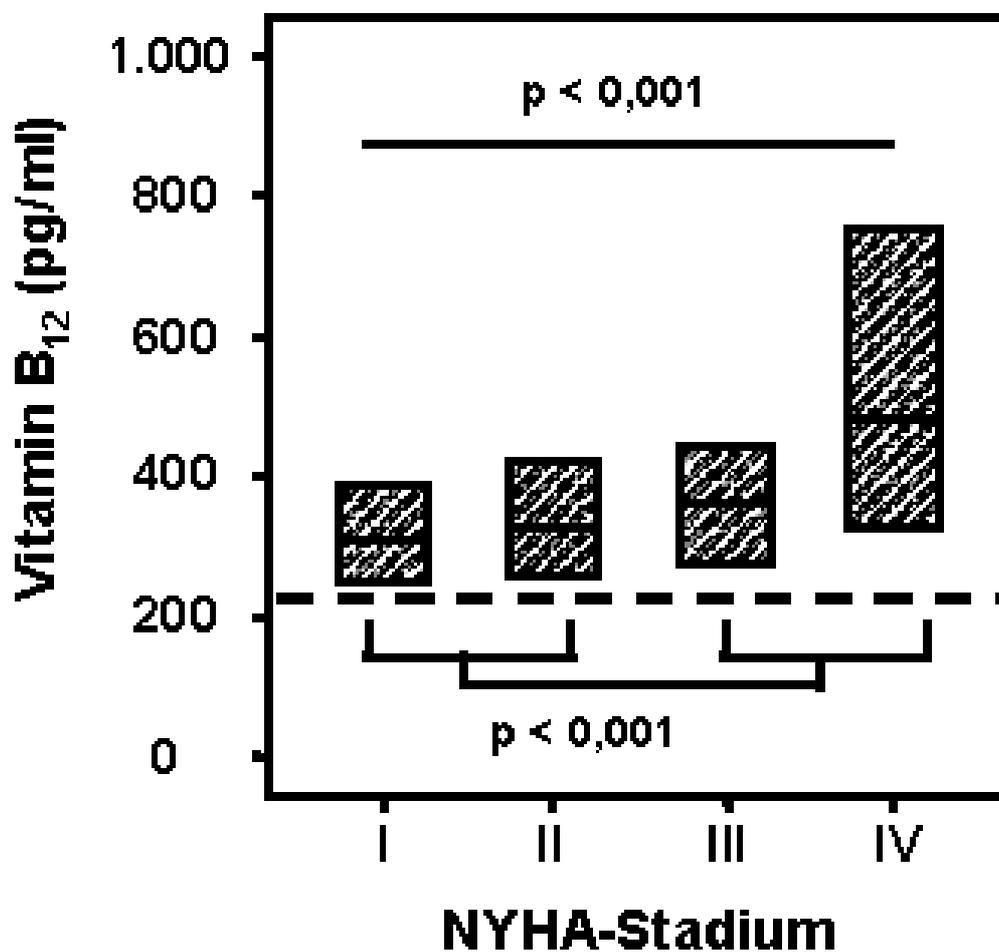


Abb. 7: Boxplot der medianen Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentrationen (25.-75. Perzentile) in Abhängigkeit von den NYHA-Stadien.

## Folsäure

In unserem Patientenkollektiv konnte kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem klinischen Parameter der CHI NYHA-Stadium, und dem Folsäure-Spiegel im Serum nachgewiesen werden. (Abbildung 8).

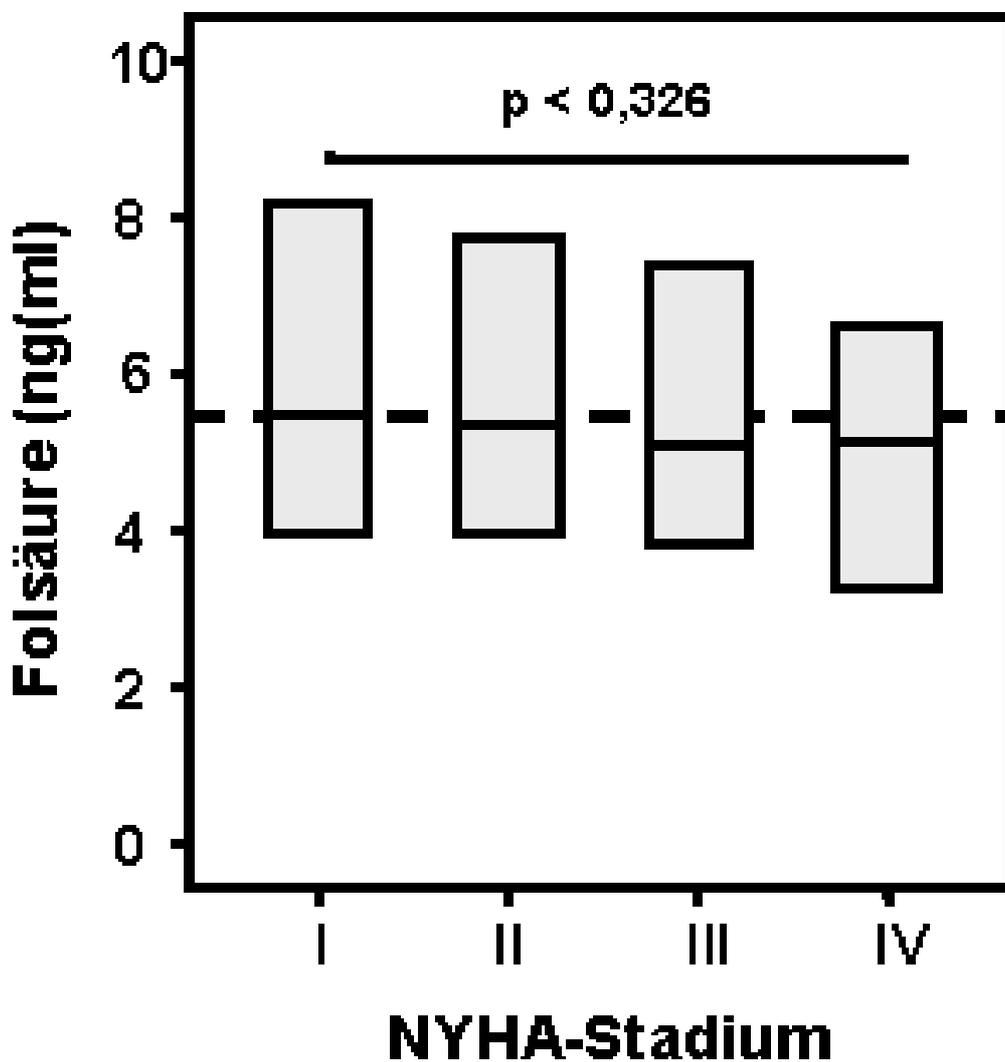


Abb. 8: Boxplot der medianen Folsäure-Konzentrationen (25.-75. Perzentile) in Abhängigkeit von den NYHA-Stadien.

#### 4.5. HCY, B-Vitamine und Ejektionsfraktion

Als nächstes wurde die Ejektionsfraktion als funktioneller Parameter der kardialen Pumpfunktion analysiert. Im gesamten Studienkollektiv betrug die mittlere Ejektionsfraktion  $60,5 \pm 20,7$  %. Männer wiesen mit  $58 \pm 21$  % eine signifikant niedrigere Ejektionsfraktion auf als Frauen ( $65 \pm 18$  %).

#### HCY

Bei der Analyse der Ejektionsfraktion konnte das zuvor mittels NYHA-Stadium gewonnene Ergebnis bestätigt werden, da die Ejektionsfraktion mit zunehmender HCY-Konzentration abnahm (Abbildung 9). Die Korrelationsanalyse ergab eine schwache aber signifikante Korrelation zwischen EF und HCY ( $r = -0,150$ ,  $p < 0,001$ ).

Diese Korrelation war darüber hinaus signifikant stärker in Patienten ohne KHK als in Patienten mit KHK ( $p < 0,001$ ).

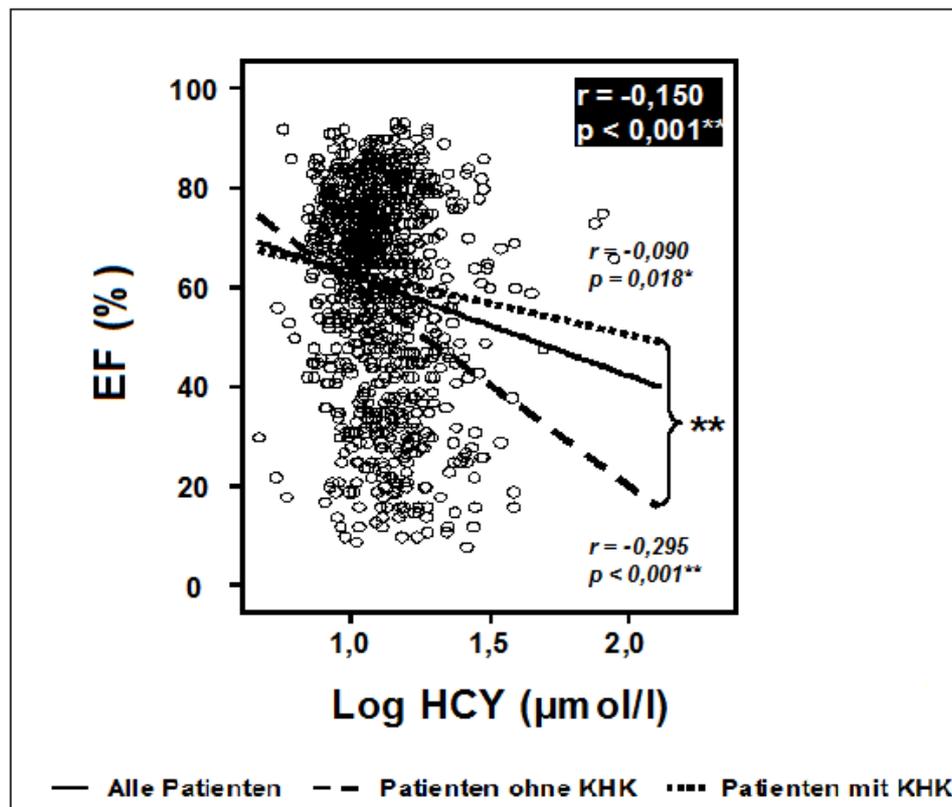


Abb. 9 : Korrelationsanalyse von HCY mit der Ejektionsfraktion. r-Korrelationskoeffizient, p-p-Wert. \*\* $p < 0,01$

## Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure

Bei der Korrelationsanalyse zwischen Folsäure und der Ejektionsfraktion beziehungsweise Vitamin B<sub>12</sub> und der Ejektionsfraktion waren die Ergebnisse vergleichbar mit denen vom NYHA-Stadium. Beim Vitamin B<sub>12</sub> fand sich eine schwache negative Korrelation (Abbildung 10B). Folsäure zeigte keinen statistisch signifikanten Zusammenhang mit der Ejektionsfraktion (Abbildung 10A).

Die Subgruppenanalyse für Patienten mit und ohne koronarer Herzerkrankung ergab keine abweichenden Resultate.

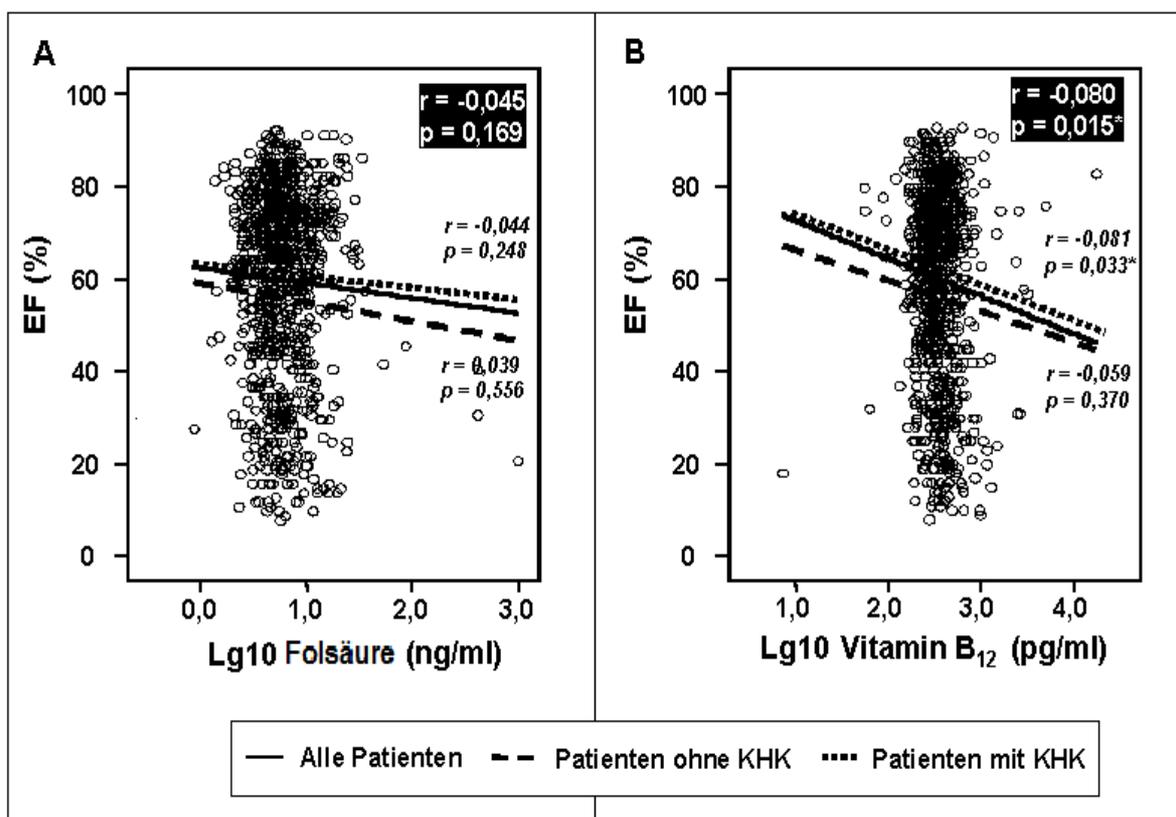


Abb. 10: Korrelationsanalysen von Folsäure (A) und Vitamin B<sub>12</sub> (B) (nach logarithmischer Transformation) mit der Ejektionsfraktion. r-Korrelationskoeffizient, p- p-Wert, EF- Ejektionsfraktion. \*p<0,05

#### 4.6. HCY, B-Vitamine und NT-pro BNP

Neben dem NYHA-Stadium und der Ejektionsfraktion wurde NT-proBNP als biochemischer Marker der CHI gemessen. In der gesamten Patientenpopulation lag der Mittelwert der NT-proBNP-Spiegel bei  $1245 \pm 2768$  pg/ml, wobei Männer mit  $1185 \pm 2543$  pg/ml etwas niedrigere Werte als Frauen mit  $1373 \pm 3224$  pg/ml aufwiesen.

#### HCY

HCY war in dieser Analyse hoch signifikant mit NT-proBNP korreliert. Vergleichbar mit der Ejektionsfraktion war der Zusammenhang in nicht-KHK Patienten signifikant stärker als in KHK-Patienten (Abbildung 11).

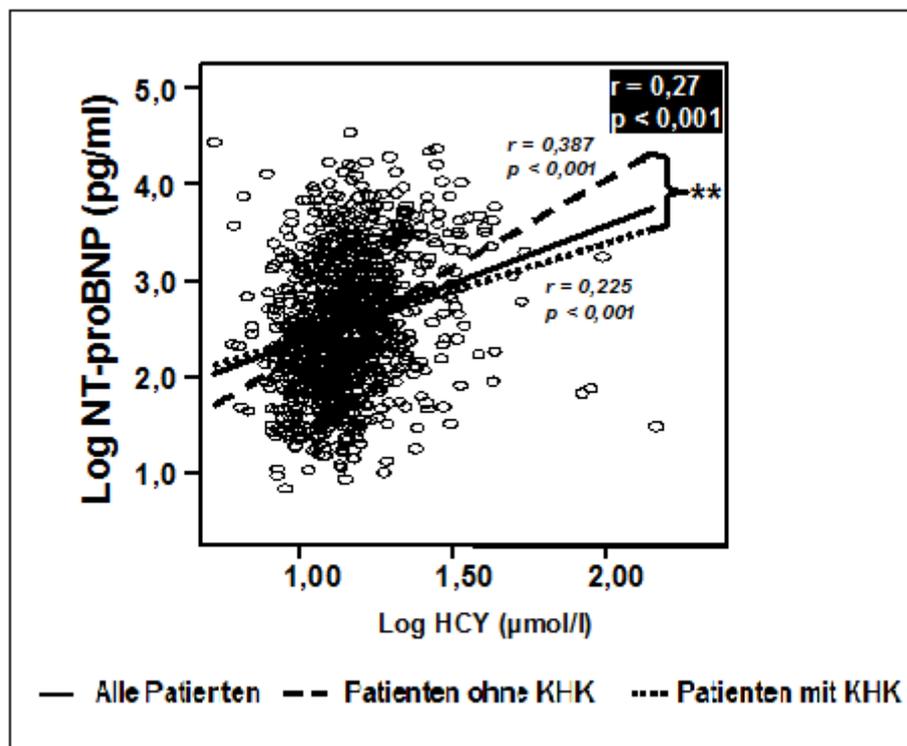


Abb. 11 : Korrelationsanalysen von HCY mit NT-proBNP. r-Korrelationskoeffizient, p- p- Wert. \*\*p<0,01

## Vitamin B<sub>12</sub> und Folsäure

Vitamin B<sub>12</sub> wies wie schon mit dem NYHA-Stadium und der Ejektionsfraktion auch mit dem NT-proBNP einen paradoxen Zusammenhang auf ( $r=0.091$ ,  $p=0.004$ ): NT-proBNP nahm mit abnehmenden Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegeln ebenfalls ab (Abbildung 12B). Für Folsäure ließ sich keine signifikante Korrelation mit NT-proBNP nachweisen (Abbildung 12A).

Die Subgruppenanalyse erbrachte keine Unterschiede zwischen Patienten mit beziehungsweise ohne koronare Herzerkrankung.

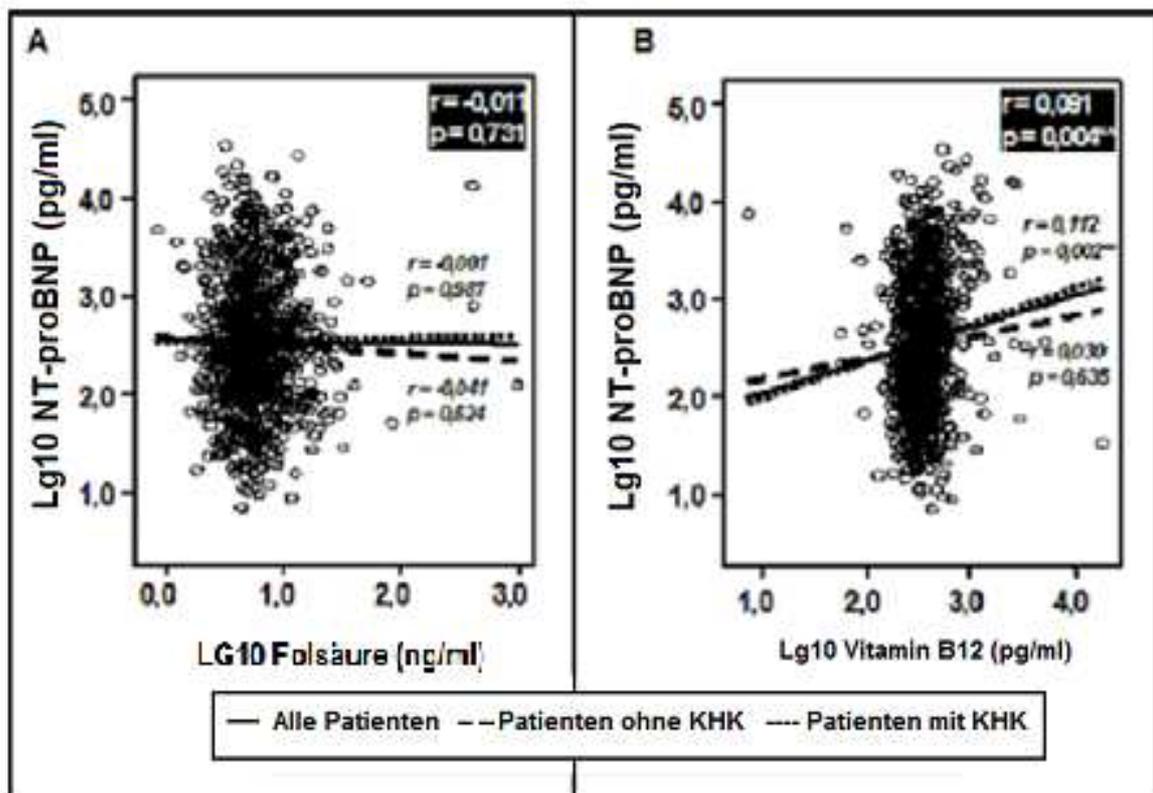


Abb. 12: Korrelationsanalysen von Folsäure (A) und Vitamin B<sub>12</sub> (B) mit NT-proBNP (nach logarithmischer Transformation).  $r$ -Korrelationskoeffizient,  $p$ -  $p$ -Wert.  $**p < 0,01$

#### 4.7. Multivariate Regressionsanalysen

Im nächsten Schritt wurden mehrere multivariate Regressionsmodelle berechnet, bei denen die Ejektionsfraktion und NT-proBNP als abhängige Variablen verwendet wurden. Zunächst wurden HCY, Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub>, das Geschlecht, das Alter, die GFR, kardiale Risikofaktoren wie Hypertonus und Diabetes mellitus, sowie die Medikation als unabhängige Variablen in die Kalkulation einbezogen (Tabelle 6).

Beide Modelle bestätigten starke und hoch signifikante Zusammenhänge zwischen HCY und NT-proBNP sowie zwischen HCY und der Ejektionsfraktion. Die Assoziationen zwischen Vitamin B<sub>12</sub> und NT-proBNP sowie zwischen Vitamin B<sub>12</sub> und der Ejektionsfraktion waren von grenzwertiger Signifikanz. Folsäure zeigte einen schwachen aber signifikanten Zusammenhang mit der Ejektionsfraktion.

Tabelle 6: Multivariate Regressionsanalyse mit der EF und NT-proBNP als abhängige Variablen. Unabhängige Variablen waren HCY, Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub>, die GFR, anthropometrische und laborchemische Variablen, kardiale Risikofaktoren und die Medikation.

Modell	Abhängige Variable	Eingeschlossene unabhängige Variablen	Unabhängige Variablen von Interesse	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Wert
1	lg10 NT-proBNP	HCY, GFR, Vitamin B <sub>12</sub> , Folsäure, Alter, Geschlecht, Gewicht, Größe, Hypertonus, Diabetes mellitus, $\beta$ -Blocker, Diuretika, ACE-Hemmer, Aspirin	lg10 HCY	0,556	0,142	<0,001**
			lg10 Folsäure	0,034	0,073	0,643
			lg10 Vitamin B <sub>12</sub>	0,189	0,093	0,044*
2	lg10 EF	HCY, GFR, Vitamin B <sub>12</sub> , Folsäure, Alter, Geschlecht, Gewicht, Größe, Hypertonus, Diabetes mellitus, $\beta$ -Blocker, Diuretika, ACE-Hemmer, Aspirin	Lg10 HCY	-0,127	0,045	0,005**
			lg10 Folsäure	-0,049	0,022	0,030*
			lg10 Vitamin B <sub>12</sub>	-0,057	0,031	0,064

\*p<0,05, \*\*p<0,01

Um die Frage zu beantworten, ob es relevante Unterschiede zwischen Patienten mit und ohne KHK gibt wurden zwei weiteren Regressionsanalysen durchgeführt, bei denen der Koronarstatus, HCY, Vitamin B<sub>12</sub>, Folsäure, das Alter, das Geschlecht und ein zusätzlicher Interaktionsterm als unabhängige Variablen eingesetzt wurden (Tabelle 7).

In diesen Modellen war HCY der jeweils stärkste Prädiktor für NT-proBNP und die EF bei Patienten ohne KHK. Der Einfluss von HCY auf die Ejektionsfraktion und NT-proBNP war signifikant schwächer in KHK-Patienten.

Die Assoziationen von Vitamin B<sub>12</sub> und der EF sowie Vitamin B<sub>12</sub> und NT-proBNP waren nicht länger signifikant. Folsäure blieb ein schwacher unabhängiger Einflussfaktor auf die Ejektionsfraktion in diesem Modell.

Tabelle 7: Multivariate Regressionsanalyse mit EF und NT-proBNP als abhängige Variablen. Unabhängige Variablen waren der Koronarstatus, HCY, GFR, Vitamin B<sub>12</sub>, Folsäure, Alter und Geschlecht, laborchemische Variablen, ein Interaktionsterm, kardiale Risikofaktoren und die Medikation.

Modell	Abhängige Variable	Eingeschlossene unabhängige Variablen	Unabhängige Variablen von Interesse	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Wert
1	lg10 NT-proBNP	KHK, HCY, GFR, Vitamin B12, Folsäure, Alter, Geschlecht	lg 10 HCY o. KHK	1,216	0,247	<0,001**
			Lg10 Folsäure o. KHK	0,004	0,15	0,98
			lg10 Vitamin B12 o. KHK	0,18	0,149	0,226
			Δlg10 HCY o. KHK -lg10 HCY m. KHK	-0,590	0,259	0,023*
			Δlg10 Folsäure o. KHK -lg10 Folsäure m. KHK	0,173	0,175	0,324
			Δlg10 Vitamin B12 o. KHK -lg10 Vitamin B12 m. KHK	0,081	0,145	0,576
2	lg10 EF	KHK, HCY, GFR, Vitamin B12, Folsäure, Alter, Geschlecht	Lg10 HCY o. KHK	-0,335	0,077	<0,001**
			lg10 Folsäure o. KHK	-0,092	0,045	0,043*
			lg10 Vitamin B12 o. KHK	-0,022	0,045	0,622
			Δlg10 HCY o. KHK -lg10 HCY m. KHK	0,227	0,080	0,005**
			Δlg10 Folsäure o. KHK -lg10 Folsäure m. KHK	0,027	0,053	0,611
			Δlg10 Vitamin B12 o. KHK -lg10 Vitamin B12 m. KHK	-0,045	0,044	0,306

\*p<0,05

#### 4.8. Leberfunktion

Störungen der Leberfunktion werden zu den möglichen Folgen einer chronischen Herzinsuffizienz gezählt. Darüber hinaus spielt die Leber eine wichtige Rolle im Vitamin B<sub>12</sub>-Metabolismus. Im nächsten Schritt wurden diverse Funktionsparameter der Leber in die Analyse mit einbezogen. ASAT, ALAT,  $\gamma$ GT, CHE sowie CrP als akutes Phasenprotein waren im Mittel normwertig. Signifikante Unterschiede zwischen Männer und Frauen bestanden nicht (Tabelle 8)

Tabelle 8 : Mittlere Leberwerte innerhalb des Patientenkollektivs

	<b>Alle Patienten</b>	<b>Männer</b>	<b>Frauen</b>
<b>ASAT (U/l)</b>	33 ± 35	35 ± 41	29 ± 20
<b>ALAT (U/l)</b>	19 ± 23	20 ± 25	16 ± 17
<b><math>\gamma</math>GT (U/l)</b>	52 ± 72	59 ± 80	36 ± 45
<b>CHE (kU/l)</b>	8,5 ± 2	8,4 ± 2,1	8,6 ± 1,8
<b>CrP (mg/l)</b>	6,0 ± 12,7	5,7 ± 11,3	6,6 ± 15,5

Zunächst wurden die Patienten anhand des medianen Vitamin B<sub>12</sub>-Wertes in zwei Gruppen eingeteilt (unter beziehungsweise über dem Median).

In der Subgruppe mit Vitamin B<sub>12</sub> oberhalb des Medianes waren ASAT, ALAT und  $\gamma$ GT signifikant höher als in der Subgruppe mit Vitamin B<sub>12</sub> unterhalb des Medianes (Tabelle 9).

Tabelle 9 : Verteilung der Leberwerte in Patienten mit Vitamin B<sub>12</sub> oberhalb bzw. unterhalb des Medianes (379ng/l)

	<b>Patienten mit Vitamin B12 unterhalb des Medianes</b>	<b>Patienten mit Vitamin B12 oberhalb des Medianes</b>
<b>ASAT (U/l)</b>	<b>29 ± 12</b>	<b>37 ± 49</b>
<b>ALAT (U/l)</b>	<b>16 ± 10</b>	<b>22 ± 31</b>
<b><math>\gamma</math>GT (U/l)</b>	<b>44 ± 69</b>	<b>60 ± 74</b>
<b>CHE (kU/l)</b>	<b>8 ± 2</b>	<b>8 ± 2</b>
<b>CRP (mg/l)</b>	<b>6 ± 14</b>	<b>6 ± 11</b>

Um einen potentiellen Zusammenhang zwischen erhöhter Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentration und einer gestörten Leberfunktion zu zeigen wurden anschließend zwei weiteren multivariate Regressionsmodelle berechnet, bei denen Vitamin B<sub>12</sub> beziehungsweise ASAT als abhängige Variable verwendet wurden (Tabelle 10). Im ersten Modell erwies sich ASAT als stärkster Prädiktor der Vitamin B<sub>12</sub>-Konzentration. Das zweite Modell ergab NT-proBNP als stärksten Prädiktor für ASAT. Diese Konstellation deutet auf eine CHI-bedingte milde Leberstörung hin, die zu einer Freisetzung von gespeichertem Vitamin B<sub>12</sub> führt.

Tabelle 10: Multivariate Regressionsanalyse mit Einbeziehung der Leberfunktionsparameter.

Modell	abhängige Variable	eingeschlossene unabhängige Variablen	unabhängige Variablen von Interesse	Regressionskoeffizient	Standardfehler	p-Wert
1	<i>Ig10 Vitamin B<sub>12</sub></i>	<i>EF, NT-proBNP, HCY, Krea, Folsäure, CRP, CHE, ASAT, ALAT, gGT</i>	Ig10 ASAT	0.214	0.063	0.001**
			Ig10 Krea	0.198	0.063	0.002**
			Ig10 HCY	-0.322	0.053	<0.001**
			Ig10 Folsäure	0.081	0.026	0.002**
			Ig10 EF	<0.001	0.00	0.865
			Ig10 CRP	0.021	0.014	0.134
			Ig10 CHE	-0.32	0.066	0.628
			Ig10 NT-proBNP	0.22	0.014	0.114
			Ig10 ALAT	-0.024	0.044	0.579
			Ig10 gGT	0.029	0.023	0.196
2	<i>Ig10 ASAT</i>	<i>EF, NT-proBNP, HCY, Krea, Folsäure, CRP, CHE, ASAT, ALAT, gGT</i>	Ig10 NT-proBNP	0.030	0.008	0.001**
			Ig10 ALAT	0.481	0.018	<0.001**
			Ig10 CRP	0.22	0.008	0.007**
			Ig10 Krea	0.084	0.036	0.022*
			Ig10 Vitamin B <sub>12</sub>	<0.001	0.00	0.865
			Ig10 HCY	0.024	0.031	0.448
			Ig10 EF	0.000	0.000	0.627
			Ig10 gGT	0.026	0.013	0.042
						Ig10 Folsäure

\* p < 0.05, \*\* p < 0.01

## 5. Diskussion

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigten signifikante Zusammenhänge zwischen HCY und CHI, und deuten insbesondere auf eine Assoziation zwischen dem HCY-Spiegel und dem Schweregrad der CHI hin. Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub>, deren Mangel die häufigste Ursache für HHCY bildet, zeigten keine bzw. paradoxe Beziehungen zu den klinischen (NYHA-Stadium), echokardiographischen (LVDD, Ejektionsfraktion) und laborchemischen Parametern (NT-proBNP) der CHI. Ursache dafür könnte möglicherweise ein kardiohepatisches Syndrom im Rahmen der CHI sein, das zu einem gestörten Vitamin B<sub>12</sub>-Stoffwechsel und somit auch zu einer gestörten Folsäureverwertung führt.

### 5.1 Klassische Risikofaktoren

Innerhalb der Allgemeinpopulation in Deutschland, wird eine Prävalenz der arteriellen Hypertonie von 55% angegeben (83). Somit lag in unserem Patientenkollektiv die Häufigkeit dieses Risikofaktors mit 80% deutlich darüber. Da die Hypertonie zu den häufigsten Ursachen in der Entstehung von CHI zählt, ist dieses Ergebnis jedoch nicht erstaunlich (7). Es entspricht auch den Proportionen anderer CHI-Studien, wie die von Bursi et al (10). Diabetes mellitus gilt als Risikofaktor der CHI sowohl über die Entstehung von koronarer Herzerkrankung als auch über eigenständige Mechanismen (41). Erwartungsgemäß zeigte auch dieser Risikofaktor bei unseren Patienten eine höhere Prävalenz als in der Allgemeinbevölkerung. Während im Bundesdurchschnitt die Prävalenz bei 10-15% liegt, betrug sie im untersuchten Patientenkollektiv 24% und war damit 1,6- bis 2,4-mal höher (95,80).

Die Prävalenz der aktuellen Raucher in unserem Kollektiv lag erstaunlicherweise niedriger als in der allgemeinen Population (43). Unter Berücksichtigung der ehemaligen Raucher steigt jedoch die Zahl der Patienten mit positiver Raucheranamnese deutlich an und entspricht der aus anderen CHI-Studien (10,125). Dieses Ergebnis könnte möglicherweise eine Tendenz zur Lebensstiländerung nach der Diagnose CHI erkennen lassen.

Die ischämische Kardiomyopathie wird zu den Hauptursachen der CHI gezählt (7). In der großflächigen Studie von Fonarow et al., die mehr als 48000 herzinsuffizienten Patienten in USA erfasste, lag bei 42% der Patienten eine ischämische Ätiologie vor (31). In der EPICAL-

Studie lag die Prävalenz der koronaren Herzerkrankung unter den Patienten mit fortgeschrittener CHI bei 46,3% (125). In den Framingham Daten ließ sich beobachten, dass die Prävalenz der koronaren Herzerkrankung innerhalb der neuen Herzinsuffizienz-Fällen um 46% pro Jahrzehnt stieg (57). Übereinstimmend mit diesen Daten lag die Prävalenz koronarer Herzerkrankung innerhalb unserer Patientenpopulation bei 66%.

## **5.2. Korrelation zwischen HHCY und CHI**

Neben den obigen gut bekannten Risikofaktoren für CHI wird seit einigen Jahren auch Hyperhomocysteinämie mit CHI in Verbindung gesetzt. Die erste Evidenz einer Assoziation zwischen HCY-Spiegel und CHI stammte aus einer Studie mit nierenkranken Patienten. Blacher et al. zeigten eine signifikante positive Korrelation zwischen HCY und dem kardialen Massenindex, sowie HCY und dem linksventrikulären enddiastolischen Durchmesser (6). Die Assoziation zwischen HCY-Spiegel und kardialem Massenindex wurde von Wocial et al., in einer Studie mit hypertensiven Patienten und Kontrollen, bestätigt (121).

Andere Studien untersuchten den Zusammenhang zwischen HHCY und CHI. Cooke et al. berichteten von höheren HCY-Spiegeln bei 31 CHI-Patienten und 93 Herztransplantierten im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen (20). In Übereinstimmung mit diesen Ergebnissen fanden Ventura et al. eine gehäufte Koexistenz von HHCY (der obere Normwert betrug in dieser Studie  $15\mu\text{mol/l}$ ) und CHI bei 600 älteren Patienten (115). Daten aus der Framingham-Studie, die 2491 Erwachsene untersuchte, zeigten einen starken Anstieg der CHI-Inzidenz bei gesunden Individuen mit einem HCY-Spiegel oberhalb des geschlechtspezifischen Medians (Abbildung 13). In einer multivariaten Regressionsanalyse waren HCY-Spiegel oberhalb des geschlechtspezifischen Medians mit einer Hazard ratio für CHI von 1,93 bei Männern und 1,84 bei Frauen assoziiert (114).

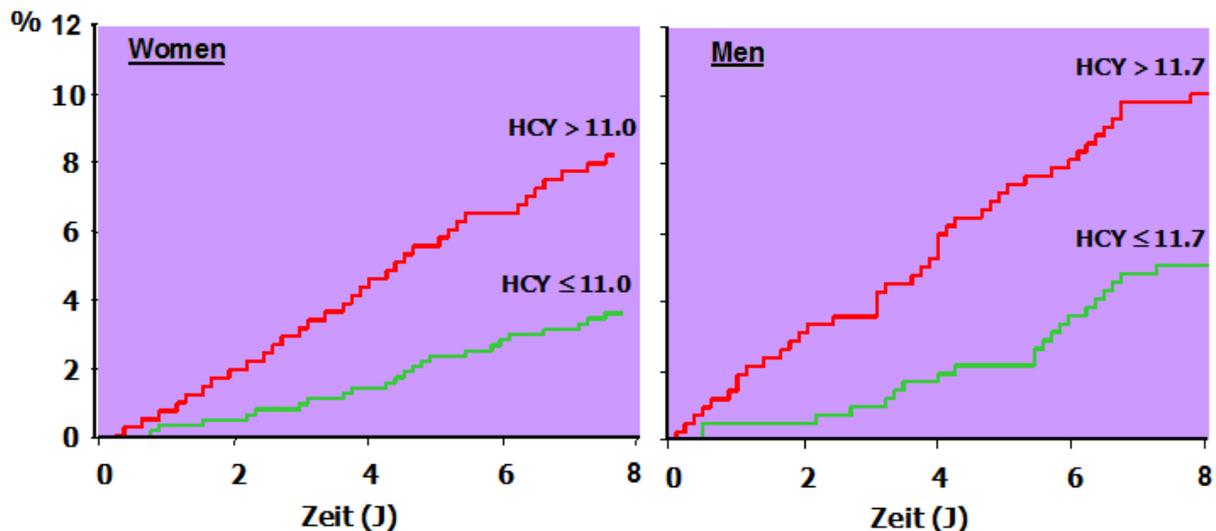


Abb. 13: Kaplan-Meier plots der kumulativen CHI-Inzidenz in Abhängigkeit von der HCY-Konzentration ( $\mu\text{mol/l}$ ). Vasan RS, JAMA2003.

Bei diesen Untersuchungen erfolgte jedoch keine Korrelationsanalyse für HCY und die bekannten Marker der CHI, wie zum Beispiel die linksventrikuläre Ejektionsfraktion, die NYHA-Klasse oder der linksventrikuläre enddiastolische Durchmesser. Demzufolge blieb es nach diesen Studien unklar, ob HHCY bei CHI-Patienten nur ein Epiphänomen oder aber der Indikator einer unabhängigen Beziehung zwischen HCY und CHI darstellt.

#### HCY und klinische Parameter der CHI

Mit dieser letzten Frage haben sich verschiedene Forschungsgruppen beschäftigt. In einer Studie von Naruszewicz et al. wurden 108 CHI-Patienten mit einem mittleren HCY-Spiegel von  $12,5\mu\text{mol/l}$  untersucht. 38 Patienten (35%) wiesen eine HHCY. Unter den klinischen und metabolischen Parametern waren insbesondere eine fortgeschrittene NYHA-Klasse und NT-proBNP im Plasma Prädiktoren eines hohen plasmatischen HCY-Spiegels (74).

In der Pilotstudie von Herrmann et al. mit 95 CHI-Patienten und 18 gesunden Kontrollen korrelierte die HCY-Konzentration nicht nur mit der Inzidenz von CHI, sondern auch mit dem Schweregrad der Erkrankung. Unter anderem zeigte sich ein schrittweise Anstieg des plasmatischen HCY-Spiegels mit steigender NYHA-Klasse (51). Die Ergebnisse dieser Studien sprechen somit für einen Zusammenhang zwischen HCY und klinischen Parametern der CHI. Insbesondere deuten hohe HCY-Konzentrationen bei hohen NYHA-Klassen auf eine Beziehung zwischen HCY und dem Schweregrad der CHI. In Übereinstimmung damit, war in unserer Studie HCY auch signifikant mit der NYHA-Klasse korreliert. Bei den Patienten der

NYHA-Klasse III lag der Median der HCY-Konzentrationen über 12  $\mu\text{mol/l}$ , bei den Patienten der NYHA-Klasse I unter 12  $\mu\text{mol/l}$ .

#### HCY, ventrikuläre Funktion und Biomarker der CHI

Neben der Assoziation zwischen HCY und NYHA-Klasse, als klinischer Parameter der CHI, ist aber auch die Korrelation von NT-proBNP und der Ejektionsfraktion mit HCY von besonderem Interesse, da sie Hinweise über die Pathomechanismen von HHCY in CHI liefert.

In unserem Patientenkollektiv war HCY signifikant mit der Ejektionsfraktion korreliert. Diese nahm mit zunehmendem HCY-Spiegel ab. Zudem zeigte sich eine signifikante positive Korrelation von NT-proBNP mit HCY. Diese Ergebnisse sprechen für einen kausalen Zusammenhang zwischen HHCY und CHI.

Der Verdacht auf Kausalität wird durch einige anderen Studien, die signifikante Zusammenhänge zwischen HCY und der linksventrikulären Funktion sowie Struktur zeigten, unterstützt. In einer prospektiven Studie von May et al. wurde HCY bei 2842 Patienten, bei denen eine Koronarangiographie erfolgte, gemessen. Bei Patienten mit HCY zwischen 13,3 und 17 $\mu\text{mol/l}$  und bei Patienten mit HCY über 17 $\mu\text{mol/l}$  fand sich gehäuft eine Ejektionsfraktion  $<$  oder  $=40\%$  alleine oder in Kombination mit klinischer Herzinsuffizienz (70).

Guéant-Rodriguez et al. beurteilten im Rahmen einer prospektiven Studie die Assoziation zwischen HCY, linksventrikulärer Funktionsstörung und NT-pro-BNP in Abhängigkeit von koronarer Herzerkrankung. Unter den 709 Patienten des Kollektivs mit diagnostischer Koronarangiographie litten 515 an koronarer Herzerkrankung. In dieser Studie war HCY mit der linksventrikulären Ejektionsfraktion und mit NT-proBNP in univariaten und in multivariaten Regressionsanalysen signifikant assoziiert. Andere Determinanten waren Creatinin und Vitamin B<sub>12</sub>, jedoch nicht Folsäure. Die 187 Patienten mit einer Ejektionsfraktion  $<40\%$  wiesen signifikant höhere HCY-spiegel. Die Ergebnisse zeigten eine Assoziation von HCY mit linksventrikulärer Funktionsstörung und NT-proBNP, unabhängig von dokumentierter koronarer Herzerkrankung (40).

Cesari et al. beobachteten eine umgekehrte Beziehung von HCY mit der Ejektionsfraktion bei hypertensiven Patienten. HCY war der stärkste Prädiktor für eine niedrige Ejektionsfraktion, vor Diabetes mellitus Typ II und Zigarettenrauchen. Zudem war HCY ein signifikanter Prädiktor von kardiovaskulärer Mortalität in hypertensiven Patienten (15). Auch zu dieser Thematik untersuchten Bokhari et al. 157 Patienten mit angiographisch definierter koronarer

Herzerkrankung. In diesem Kollektiv wurde HCY gemessen, und eine Ventrikulographie sowie eine Koronarangiographie durchgeführt. Die Patienten mit HHCY wiesen hier eine signifikant reduzierte linksventrikuläre Ejektionsfraktion auf. In einer multivariaten Regressionsanalyse imponierte der HCY-Spiegel als unabhängiger Prädiktor der linksventrikulären systolischen Funktion (8).

Zur Klärung der Assoziation zwischen HHCY und CHI hat zudem die Hordaland Homocysteinstudie, in der 587 Patienten mit koronarangiographisch definierter koronarer Herzerkrankung involviert wurden, beigetragen. Patienten mit einem HCY-Spiegel über  $15\mu\text{mol/l}$  und einer reduzierten Ejektionsfraktion wiesen die höchste Mortalitätsrate im Vergleich zu den Probanden mit normalem HCY (112).

Nasir et al. untersuchten die Beziehung zwischen HCY und der, mittels magnetischer Resonanztomographie dargestellten, regionalen linksventrikulären Funktion in einer asymptomatischen Population. 1178 Probanden mit einem durchschnittlichen Alter von  $66\pm 10$  Jahren nahmen an der Studie teil. Multiple lineare Regressionsanalysen bestätigten, dass die systolische Dysfunktion mit dem logarithmisch transformierten HCY-Spiegel assoziiert war in den links anterioren deszendierenden und links zirkumflexen Regionen. In dieser asymptomatischen Population war ein erhöhter HCY-Spiegel mit reduzierter regionaler linksventrikulärer systolischer Funktion assoziiert (75). Diese Daten deuten somit daraufhin, dass HHCY nicht einfach ein Risikoindikator für CHI, sondern vielmehr ein kausaler Faktor in der Entwicklung von CHI sein könnte.

Die epidemiologischen und klinischen Studien liefern dennoch keine detaillierte Erklärung über die zugrundeliegenden Mechanismen des negativen HCY-Einflusses auf das Myokard. Auch wenn HHCY ein bekannter Risikofaktor für koronare Herzerkrankung ist, und koronare Herzerkrankung eine wesentliche Ursache von CHI ist, wurde unter anderem nicht geklärt, ob HHCY seine Wirkung über direkte kardiotoxische oder über vaskuläre Mechanismen ausübt.

### 5.3. HHCY und CHI in experimentellen Studien

Durch die tierexperimentellen Studien wird der Hinweis auf eine kausale Rolle von HCY in der CHI verstärkt. Zudem liefern sie einige Informationen über die pathobiochemischen Hintergründen.

In ihrer Studie mit hypertensiven Ratten beobachteten Joseph et al. eine Zunahme des gesamten, perivaskulären und interstitiellen Kollagens und der Mastzellen durch Fütterung einer HHCY-induzierenden Diät (60). In der späteren, ähnlich aufgebauten, Studie mit normotensiven Ratten ließen sich eine Zunahme des ventrikulären Gewichts und der Myozytengröße, sowie eine Abnahme der myokardialen Compliance erkennen (59). Aus beiden Studien ergab sich somit der Hinweis auf einen, durch HHCY hervorgerufenen, pathologischen kardialen Remodelling, sowie, dass HHCY eine pathologische Hypertrophie in beiden Ventrikeln und eine diastolische Dysfunktion im linken Ventrikel verursacht.

In einer weiteren Studie untersuchte die Gruppe die Wirkung einer verlängerten HHCY auf die kardiale Struktur und Funktion bei hypertensiven Ratten. In dieser Studie wurde das Fortschreiten von hypertensiver Herzerkrankung zu systolischer Dysfunktion durch die moderate HHCY über 20 Wochen beschleunigt. Bei den HHCY-Hezen, in denen sich eine systolische Dysfunktion entwickelt hatte, wurden gesteigerte myokardiale Fibrose und oxidativen Stress beobachtet (25).

Die Studien von Joseph et al. demonstrieren, dass HHCY direkte schädigende Wirkungen auf die myokardialen Struktur und Funktion hat. Diese Wirkungen könnten einen direkten Zusammenhang zwischen HHCY und kardiovaskulärer Morbidität und Mortalität darstellen, unabhängig von anderen Risikofaktoren. In Übereinstimmung mit den Ergebnissen von Joseph et al. berichteten Walker et al. von einer reduzierten systolischen und diastolischen Funktion bei Ratten, nach 2 Wochen mit täglicher Injektion von HCY (118).

In der Studie von Herrmann et al. wurden normotensive Ratten wie bei Joseph et al. mit einer HCY-angereicherten Diät gefüttert. Ratten mit HHCY wiesen dann eine höhere mittlere Gewebekonzentration von BNP als die entsprechende Kontrollgruppe. Die Studie zeigte somit, dass eine Diät-induzierte HHCY die gesteigerte Expression von kardialem BNP stimuliert. Die Ergebnisse betonen, dass HHCY einen direkten kardiotoxischen Effekt aufweist, mit Induktion einer gesteigerten Freisetzung des CHI-Markers BNP. Die Expression von BNP ist ein früher Marker der CHI, der dem kardiovaskulären Remodelling vorausgeht. In kürzlichen Arbeiten von unserer Gruppe (Herrmann et al.) wurde in

Superfusionsexperimenten darüber hinaus gezeigt, dass BNP aus Herzgewebe auch durch erhöhtes Homocystein als Faktor des oxidativen Stress freigesetzt werden kann.

Zusammenbetrachtet lassen die vorhandenen Daten vermuten, dass HHCY zum pathologischen kardialen Remodelling beiträgt; dieser ist durch interstitielle und perivaskuläre Fibrose charakterisiert mit nachfolgender gesteigerter myokardialer Steifheit. Zudem scheint HHCY die Pumpfunktion des Myokards zu beeinflussen. Die Mechanismen, die von einem erhöhten HCY-Spiegel zu einer reduzierten Pumpfunktion und einem kardialen Remodelling führen, werden noch diskutiert. Eine erste Evidenz, auch durch Josephs-Gruppe dargestellt, zeigt, dass Stickstoffmonoxid-unabhängige Effekte auf das Gefäßendothelium involviert sind (25). Neben akuten Auswirkungen, könnte die HCY-verursachte Dysfunktion des Endotheliums eine gesteigerte Expression von Adhensionsmolekülen induzieren, mit anschließender Einwanderung und Aktivierung von Entzündungszellen, Freisetzung von Chemokinen, sowie eine Störung der Fibroblasten- und Kardiomyozytenfunktion und eine erhöhte Kollagensynthese hervorrufen.

#### Schädigende Mechanismen auf zellulärer Ebene

Auf zellulärer Ebene sind die zugrundeliegenden Mechanismen der negativen Effekten von HHCY auf kardialen Remodelling und Pumpfunktion nicht komplett geklärt. Ein potentieller Vorgang, durch welchen HHCY den kardialen Remodelling beeinflussen könnte, ist die Aktivierung von Metalloproteinasen der Matrix (MMP). Es wurde entdeckt, dass normales Myokard eine eigene Kollagenase, oder MMP, besitzt. Tyagi et al. zeigten, dass diese MMP im normalen Myokard latent ist, und durch Oxidantien aktiviert werden kann (111). In mehreren späteren Studien wurde die Rolle der MMPs in CHI und kardialem Remodelling gezeigt, ohne dass der in-vivo Aktivierungsmechanismus von latenter MMP komplett erklärt werden können (101,92,63,66,81,76,123). Einige Vorgänge wurden jedoch beschrieben. In der Basalmembran des Gefäßendothels liegen die latenten MMPs als Komplex mit Stickstoffmonoxid (NO) und einem Gewebeinhibitor des MMPs vor. Bei hohem HCY werden Zwischenstoffe gebildet, die den Gewebeinhibitor des MMPs und andere Proteine oxidieren. Während dieses Vorgangs wird aktive MMP gebildet (44). Über die aktivierten MMPs erfolgt eine Transduktion von schädlichen Effekten an den Zellen. Zudem wurde beschrieben, dass die Vorgänge und Mechanismen von HCY, die die Funktion von Endothel, Fibroblasten und

Entzündungszellen betreffen, den oxidativen Stress und den Weg über die Proteinkinase C einschließen könnten (106).

#### **5.4. HHCY, CHI und B-Vitamine**

Da der HCY-Spiegel stark von Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> abhängt, und deren Mangel auch die häufigste Ursache für moderate HHCY darstellt, bestand die Frage, ob eine signifikante Assoziation dieser beiden Vitamine mit der CHI besteht. Am untersuchten Patientenkollektiv konnte eine solche Korrelation jedoch nicht gefunden werden. Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> korrelierten nicht bzw. sehr schwach mit den analysierten Kenngrößen der CHI. Vitamin B<sub>12</sub> wies sogar eine paradoxe Beziehung zum NYHA-Stadium, zur Ejektionsfraktion und zur NT-proBNP-Konzentration auf, die auch nach multivariater Adjustierung knapp signifikant blieb. Ferner lagen die Spiegel des zirkulierenden Vitamin B<sub>12</sub> deutlich oberhalb des unteren Referenzwertes von 211pg/ml. Auch der Median der Folsäure-Konzentrationen lag sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen deutlich oberhalb des unteren Referenzwertes von 5,3ng/ml.

Aktuelle Studien berichten über hohe Prävalenzen für B-Vitaminen-Mangel insbesondere in älteren Kohorten oder in Ländern ohne Folsäurefortifikationsprogramm (122,29). Bei unseren, aus einem Folsäure nicht-supplementierten Gebiet stammenden Patienten lag der Median des Alters über 60 Jahre und die mittlere HCY-Konzentration über 12 µmol/l. Mit dieser Konstellation wäre diese Population für niedrige B-Vitamin-Spiegel prädisponiert. Die beobachteten Vitamin-Konzentrationen waren somit unerwartet hoch. Bezüglich dieser Ergebnisse ist ein Vergleich mit anderen Studien schwierig, da es bislang kaum derartige Untersuchungen gibt.

Hinsichtlich des Vitamin B<sub>12</sub> existiert eine Studie von Herzlich et al., die eine niedrigere EF bei Personen mit Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel nachweisen konnte. Herzlich et al. erfassten hier die Vitamin B<sub>12</sub>- und Folsäure-Konzentration, sowie die linksventrikuläre Ejektionsfraktion bei älteren Patienten, die eine Koronarangiographie erhalten sollten. Allerdings waren die gefundenen Signifikanzen nicht sehr stark und das untersuchte Probandenkollektiv mit 367 Individuen nur etwa 1/3 so groß wie unser Kollektiv (55). Im Gegensatz zu unseren Patienten waren die Probanden bei Herzlich et al. auch nicht alle herzinsuffizient.

Gibelin et al. bestimmten die Konzentrationen von HCY, Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> im Serum von 159 Patienten mit CHI. Ähnlich zu unseren Ergebnissen lag hier der HCY-Median über dem Normbereich (>12 µmol/l), ohne dass die gemessenen Vitamin-Spiegel einen Mangel erkennen ließen (36).

## **5.5. Extrakardiale Einflussfaktoren auf HCY und CHI**

### Störungen der Leberfunktion

Was könnte die Ursache für diese Ergebnisse bezüglich B-Vitamine sein?

Seit langem ist bekannt, dass CHI durch einen Rückstau des Blutes eine hepatische Schädigung verursachen kann (35). Hierdurch kann eine Störung der hepatozellulären Homöostase entstehen. Ferner ist die Leber an zentraler Stelle in den Vitaminenstoffwechsel involviert. Vitamin B<sub>12</sub> wird in großen Mengen als inaktives Holo-Transcobalamin I (Holohaptocorrin) in den hepatischen Zellen gespeichert. Aus diesem Grund wurde bei unseren Patienten in einem weiteren Schritt ALAT, ASAT und γGT als Marker der Leberzellintegrität und der Leberfunktion gemessen. Außerdem wurde das akute Phase-Protein CRP, das ebenfalls in der Leber synthetisiert wird, bestimmt. Nach Differenzierung der Patienten mit einem Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel ober- beziehungsweise unterhalb des Medians im Gesamtkollektiv, waren ASAT, ALAT, γGT und CRP signifikant höher in der Gruppe mit Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegeln oberhalb des Medians. Dies kann als Hinweis auf eine möglicherweise gestörte Zellintegrität gewertet werden. Daraufhin wurde Vitamin B<sub>12</sub> als abhängige Variable in ein multivariates Regressionsmodell eingesetzt. In diesem Modell war die ASAT der stärkste Prädiktor des Vitamin B<sub>12</sub>. Dieses Resultat unterstützt die Vermutung, dass die höheren Vitamin B<sub>12</sub>-Spiegel möglicherweise durch eine gestörte hepatische Zellintegrität verursacht sind.

Letztlich wurde dann ASAT als abhängige Variable in das selbe Regressionsmodell eingesetzt. In diesem Modell resultierte NT-proBNP als der stärkste Prädiktor von ASAT. Basierend auf diesen Untersuchungen kann hypothetisiert werden, dass die CHI eine milde Leberstauung verursacht, welche die hepatozelluläre Integrität stört. Dies führt möglicherweise zu einer Freisetzung von inaktiven Vitamin B<sub>12</sub>-Formen, die mit den gängigen Messmethoden miterfasst werden. Ein solches „kardiohepatisches Syndrom“ könnte

zumindest teilweise die fehlenden oder paradoxen Beziehungen zwischen den B-Vitaminen, HCY und dem Schweregrad der CHI erklären.

### Entzündliche Prozesse

Einen weiteren Gesichtspunkt liefern Rosen et al. Sie untersuchten das Verhältnis zwischen CRP und subklinischer linksventrikulärer Dysfunktion in asymptomatischen Patienten. Unter Benutzung von Magnetresonanztomographie wurde die regionale myokardiale Funktion von 1164, kardiovaskulär asymptomatischen, Probanden beurteilt. Hier wurde eine umgekehrte Assoziation zwischen CRP-Konzentration und regionaler linksventrikulärer Funktion bei Männern beobachtet. Diese Korrelation zeigte sich in allen Herzregionen und auch unter Berücksichtigung des Alters, der Risikofaktoren und der Medikamenteneinnahme. Bei Frauen hingegen zeigte sich dieser Zusammenhang nicht. Die Autoren weisen auf die Rolle des CRP in entzündlichen Prozessen und dessen Assoziation mit endothelialer Dysfunktion auf. Letztere könne zur ventrikulären Dysfunktion führen. Demnach könnten diese Beobachtungen auch vermuten lassen, dass die Freisetzung von hepatischen Markern und inaktiven Vitamin-Formen im Rahmen von entzündlichen Prozessen erfolgt, die selbst mit einer Verschlechterung der myokardialen Funktion assoziiert sind (91).

### Störung der Nierenfunktion:

Neben dem Vitamin B-Mangel stellt eine gestörte Nierenfunktion eine weitere häufige Ursache für HHCY dar (108,32,103). Mehrere klinische Studien brachten konsistente Beweise für eine starke Korrelation zwischen der glomerulären Filtrationsrate und HCY, für ein breites Intervall von glomerulärer Filtrationsrate (102,67). Aksoy et al. untersuchten den Zusammenhang zwischen CHI, HCY und der renalen Funktion. Bei 62 Patienten mit fortgeschrittener Herzinsuffizienz, ohne koronare Herzerkrankung, wurden die linksventrikuläre Ejektionsfraktion, HCY, Kreatinin im Serum und die glomeruläre Filtrationsrate bestimmt. In dieser Studie korrelierte HCY nicht nur mit der Ejektionsfraktion und der Erkrankungsdauer, sondern auch mit der glomerulären Filtrationsrate und der Kreatinin-Konzentration (1).

Da die HCY-Ausscheidung im Urin vernachlässigbar ist, wurde eine zentrale Rolle der Niere für den Abbau von HCY erwogen (54,77,53). Auch ein gestörter HCY-Metabolismus, durch

urämische Toxine und Vitaminmangel verursacht, scheint involviert zu sein. Zudem ist die Störung der Nierenfunktion eine gewöhnliche und fortschreitende Komplikation der CHI. Mehrere Studien haben konsequent demonstriert, dass eine begleitende Nierenfunktionsstörung einer der stärksten Risikofaktoren für Mortalität bei CHI-Patienten darstellt (5,100,27,56). Parallel zu dieser Hypothese sprechen die Daten aus der Pilotstudie von Herrmann et al. für eine Beziehung zwischen HCY und CHI, die unabhängig von der Nierenfunktion ist (51). Zudem wurde HHCY als unabhängiger Risikofaktor für koronare Herzerkrankung bei Nierenpatienten dargestellt (73,88).

Auch wenn die Pathophysiologie des kardiorenenalen Syndroms letztendlich größtenteils unklar ist, könnte HHCY ein wichtiger pathomechanistischer Faktor sein, um die den schlechten klinischen Outcome bei Patienten mit kardiorenalem Syndrom zu erklären.

## **5.6. Therapeutische Aspekte**

Letztendlich bleibt die klinische Bedeutung der erhobenen Befunde derzeit noch unklar. Zukünftige Studien müssen zeigen, ob ein erhöhtes HCY mit einer schnelleren Progression der CHI und einer schlechteren Prognose assoziiert ist. Wenn die Hypothese des "kardiohepatischen Syndroms" in CHI-Patienten bestätigt werden kann, besteht die Frage, ob eine HCY-senkende Therapie mit Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> trotz der paradoxen Befunde möglicherweise doch als interessante Option zur Verlangsamung der Progression und zur Verbesserung der Prognose zu betrachten ist. Die Effektivität einer B-Vitamin-Supplementation im Hinblick auf deren HCY-senkenden Effekt wurde durch mehrere Studien sowie durch Daten aus Ländern mit Folsäurefortifikationsprogramm belegt (17,93,79,87).

### Vitaminsupplementation bei CHI

Zur Rolle einer Therapie mit B-Vitaminen im Management der CHI stehen derzeit nur wenige Daten zur Verfügung. Witte et al. untersuchten die Auswirkungen einer hoch dosierten Supplementation eines Kombinationspräparat, das mehrere Mikronährstoffe, unter anderem Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub>, enthielt, auf die Ejektionsfraktion bei älteren CHI-Patienten. 30 Patienten mit einer Ejektionsfraktion unter 35% wurden für diese placebokontrollierte Studie randomisiert und erhielten für 9 Monate hochdosierte Mikronährstoffe beziehungsweise ein Placebo. In der Therapiegruppe sank das linksventrikuläre Volumen um 13% und die

Ejektionsfraktion stieg um  $5,3\% \pm 1,4\%$  an, während die Placebogruppe keine Änderungen zeigte (120). Eine Langzeit-Zufuhr von mehreren Mikronährstoffen kann also linksventrikuläre Volumen und Ejektionsfraktion verbessern.

Cook et al. evaluierten den Nutzen einer Therapie mit Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und B<sub>6</sub> bei herztransplantierten Patienten mit HHCY. Bei den eingeschlossenen Patienten kam es zum signifikanten Abfall der mittleren HCY-Konzentration, und 55% der Patienten erreichten den Zielbereich, unter der 75. Perzentile. Die Autoren betonten die Tatsache, dass weitere Studien notwendig sind zur Einschätzung der klinischen Folgen und zur Bestimmung der genauen Ziele einer solchen Therapie (19). In der Studie von Andersson et al. wurden CHI-Patienten mit plasmatischem HCY über  $15\mu\text{mol/l}$  mit Folsäure, Vitamin B<sub>12</sub> und B<sub>6</sub> supplementiert. Damit konnte neben einer HCY-Senkung zu fast normalen Werte, eine Reduktion des mittleren arteriellen Blutdruckes erzielt werden (3). Da die arterielle Hypertonie zu den wichtigen ätiologischen Faktoren der CHI gehört, könnte dies günstige Effekte auf den Verlauf der Erkrankung haben. Entsprechende Daten wurden allerdings nicht erhoben.

In einer Pilotstudie von Herrmann et al. wurde die Entwicklung von NT-proBNP unter Folsäuresubstitution in gesunden Individuen betrachtet. 61 Probanden erhielten für 2 Monate eine tägliche Behandlung mit Placebo, 0,4, 1 oder 5 mg Folsäure. In den jeweiligen Behandlungsgruppen zeigte sich keine signifikante Änderung der NT-proBNP-Konzentration. Eine Senkung des NT-proBNP unter der Behandlung fand sich jedoch bei den Individuen mit einem NT-proBNP-Spiegel über  $40\text{ng/l}$ . In solchen Fällen könnte somit möglicherweise der NT-proBNP-Spiegel durch eine Folsäure-Behandlung reduziert werden (47).

Andere Untersuchungen zeigten eine Besserung der kardialen Funktion bei CHI-Patienten durch hohe Dosen von Thiamin (200mg täglich) (99). Ein positiver Mechanismus der Supplementierung von Mikronährstoffen besteht möglicherweise in der Reduktion des oxidativen Stresses, dessen Markern bei CHI-Patienten erhöht sind. Neben der Effektivität einer solchen Substitutionstherapie wäre zudem die Frage der Dosierung abklärungsbedürftig. Dieser Punkt wurde auch in der Erwägung eines systematischen Folsäurefortifikationsprogramms in Deutschland diskutiert. Folsäure kann einen Vitamin B<sub>12</sub>-Mangel hämatologisch maskieren, was neurologische Konsequenzen mit sich ziehen kann. Studien aus supplementierten Ländern zeigten jedoch keinen Anstieg an Vitamin B<sub>12</sub>-Mängeln, der durch Folsäure-Substitution maskiert wurde (46,72,68,86).

Die derzeitige Datenlage bezüglich B-Vitaminsupplementation und CHI ist noch sehr lückenhaft. Darüber hinaus sind die vorliegenden Ergebnisse inkonsistent, was auf diverse Limitationen der verfügbaren Studien zurückzuführen ist. Somit kann eine B-Vitaminsupplementation für CHI-Patienten noch nicht allgemein empfohlen werden. Größere, randomisierte Studien zu dieser risikoarmen und kostengünstigen Therapieoption müssen abgewartet werden.

### **5.7.Schlussfolgerung**

Die Ergebnisse belegen einen positiven Zusammenhang zwischen plasmatischem HCY und dem klinischen Status von CHI-Patienten hin. Zudem zeigte sich eine Korrelation zwischen HCY und echokardiographischen sowie biochemischen (NT-proBNP) Parametern. Dies unterstützt den Verdacht, dass HHCY mit der CHI kausal assoziiert sein könnte.

Folsäure und Vitamin B<sub>12</sub> zeigen keine bzw. paradoxe Assoziationen mit klinischen, funktionellen und laborchemischen Parametern der CHI. Diese Konstellation, die zumindest teilweise durch ein kardiohepatisches Syndrom erklärt werden kann, lässt vermuten, dass nicht die B-Vitamine sondern HCY als pathologischer Agens in die CHI involviert ist. Die Rolle des HCY und der B-Vitamine im Rahmen der CHI muss jedoch in weiteren Studien noch tiefergehend untersucht werden. Auch die Auswirkungen der CHI auf die Leberfunktion bedürfen einer weiteren Klärung. Zusätzlich sollten die Effekte einer HCY-senkenden Therapie mittels B-Vitamine auf den Verlauf der CHI analysiert werden.

## 6. Referenzverzeichnis

1. Aksoy et al. Increased homocysteine in heart failure: a result of renal impairment? Clin chem. Lab med 2006;44:1324-9.
2. American Heart Association. Heart Disease and Stroke Statistics - 2006 Update. 2006. Ref Type: Internet Communication
3. Andersson et al. Reduction of homocysteine in elderly with heart failure improved vascular function and blood pressure control but did not affect inflammatory activity. Basic Clin Pharmacol Toxicol 2005;97:306-10.
4. Batin et al. The importance of abnormalities of liver function tests in predicting mortality. Eur Heart J.1995;16:1613-1618
5. Bibbins-Domingo K, Lin F, Vittinghoff E. Renal insufficiency as an independent predictor of mortality among women with heart failure. J Am Coll Cardiol 2004;44:1593-1600.
6. Blacher J, Demuth K, Guerin AP, Vadez C, Moatti N, Safar ME, London GM. Association between plasma homocysteine concentrations and cardiac hypertrophy in end-stage renal disease. J Nephrol 1999;12:248-55.
7. Böhm M. Pathophysiologie der Herzinsuffizienz heute. Herz 2002;27:75-91.
8. Bokhari et al. Plasma homocysteine levels and the left ventricular systolic function in coronary artery disease patients. Coronary Artery Disease 2005;16:153-161.
9. Bruins S, Fokkema MR, Romer JW et al. High intraindividual variation of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. Clin Chem 2004;50:2052–8.
10. Bursi et al. Systolic and Diastolic Heart Failure in the Community. JAMA 2006;296:2209-2216
11. Buvat de Virginy DR. Novel and potential future biomarkers for assessment of the severity and prognosis of chronic heart failure. Heart Fail Rev 2006;11:333–344.
12. Carmel R. Current concepts in cobalamin deficiency. Annu Rev Med 2000;51:357-75.
13. Carson NAJ, Neill DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in Northern Ireland. Arch Dis Child 1962;37:505-13.
14. Cavalca V, Cighetti G, Bamonti F, Loaldi A, Bortone L, Novembrino C et al. Oxidative stress and homocysteine in coronary artery disease. Clin Chem 2001;47:887-92.
15. Cesari et al. Hyperhomocysteinemia is inversely related with left ventricular ejection fraction and predicts cardiovascular mortality in high-risk coronary artery disease hypertensives. Arterioscler Thromb Vasc Biol 2005;25:115-121.

16. Chiang PK, Gordon RK, Tal J, Zeng GC, Doctor BP, Pardhasaradhi K, McCann PP. S-Adenosylmethionine and methylation. *FASEB J* 1996;10:471-80.
17. Clarke R, Armitage J. Vitamin supplements and cardiovascular risk: review of the randomized trials of homocysteine-lowering vitamin supplements 1. *Semin Thromb Hemost* 2000;26:341-8
18. Cogger V, Fraser R, Le Couteur D. Liver dysfunction and heart failure. *Am J Cardiol* 2003;91:1399.
19. Cook et al. Effective treatment of hyperhomocysteinemia in heart transplant recipients with and without renal failure. *J Heart Lung Transplant* 2001;20:310-315.
20. Cooke GE et al. Plasma atherogenic markers in congestive heart failure and posttransplant (heart) patients. *J Am Coll Cardiol* 2000;36:509-516.
21. Cowie M.R. et al. The epidemiology of heart failure. *European Heart Journal* 1997;18:208-225.
22. De Bree A, van Dusseldorp M, Brouwer IA, het Hof KH, Steegers-Theunissen RP. Folate intake in Europe: recommended, actual and desired intake. *Eur J Clin Nutr* 1997;51:643-60.
23. De Bree A, Verschuren WM, Kromhout D, Mennen LI, Blom HJ. Homocysteine and coronary heart disease: the importance of a distinction between low and high risk subjects. *Int J Epidemiol* 2002;31:1268-72
24. Delgado et al.. Pathophysiology of Heart Failure: a look at the future. *Tex Heart Inst J* 1999;26:28-33.
25. Devi S, Kennedy RH, Joseph L, Shekhawat NS, Melchert RB, Joseph J. Effect of long-term hyperhomocysteinemia on myocardial structure and function in hypertensive rats. *Cardiovasc Pathol* 2006;15:75-82.
26. Dichtl W, Vogel W, Dunst K. Cardiac hepatopathy before and after heart transplantation. *Transplant International* 2005;18:697-702.
27. Dries DL, Exner DV, Domanski MJ. The prognostic implications of renal insufficiency in asymptomatic and symptomatic patients with left ventricular systolic dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2000;35:681-689.
28. Durand P, Prost M, Loreau N, Lussier-Cacan S, Blache D. Impaired homocysteine metabolism and atherothrombotic disease. *Lab Invest* 2001;81:645-72.
29. Fakhrzadeh et al. Total plasma homocysteine, folate, and vitamin b12 status in healthy Iranian adults: the Tehran homocysteine survey. *BMC Public Health* 2006;6:29.
30. Flachskampf. *Praxis der Echokardiographie*. Thieme, Stuttgart New-York 2002
31. Fonarow et al. Association between performance measures and clinical outcomes for patients hospitalized with heart failure. *JAMA* 2007;297:61-70

32. Friedman AN, Bostom AG, Selhub J, Levey AS. The kidney and homocysteine metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:2181-2189.
33. Gerritson T, Vaughn JG, Waisman HA. The identification of homocysteine in the urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1962;9:493-6.
34. Gheorghiade M, Bonow RO. Chronic heart failure in the United States: a manifestation of coronary artery disease. *Circulation* 1998;97:282-9.
35. Giallourakis CC, Rosenberg PM, Friedman LS. The liver in heart failure. *Clin Liver Dis* 2002;6:947-ix.
36. Gibelin et al. Prognostic value of homocysteinemia in patients with congestive heart failure. *Clin chem. Lab med* 2006;44:813-6.
37. Gorelik O, moznino-Sarafian D, Feder I, Wachsman O, Alon I, Litvinjuk V et al. Dietary intake of various nutrients in older patients with congestive heart failure. *Cardiology* 2003;99:177-81.
38. Graham I. Homocysteine in health and disease. *Ann Intern Med* 1999;131:387-8
39. Graham IM, Daly LE, Refsum HM, Robinson K, Brattstrom LE, Ueland PM et al. Plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. The European Concerted Action Project. *JAMA* 1997;277:1775-81.
40. Guéant-Rodriguez et al. Left ventricular systolic dysfunction is an independent predictor of homocysteine in angiographically documented patients with or without coronary artery lesions. *J Thromb Haemost* 2007;5:1209-16.
41. Guertl et al. Metabolic cardiomyopathies. *International Journal of Experimental Pathology* 2000;81:349-372
42. Heart Disease and Stroke Statistics\_2008 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee. *Circulation* 2008;117:e25-e146.
43. Heitzer and Meinertz. Prevention of coronary heart disease: smoking. *Z Kardiol* 2005;94 Suppl 3:III/30-42.
44. Henderson BC, Tyagi SC. Oxidative mechanism and homeostasis of proteinase/antiproteinase in congestive heart failure. *J Moll Cell Cardiol* 2006;41:959-962.
45. Herbert V. Vitamin B12 deficiency. London: Royal Society of Medicine Press Ltd. 1999:1-8.
46. Herold G. et al. *Innere Medizin*. Herold, Köln, 2007.
47. Herrmann et al. Effect of folate supplementation on N-terminal pro-brain natriuretic peptide. *Int J Cardiol* 2007;118:267-9.

48. Herrmann W. The importance of hyperhomocysteinemia as a risk factor for diseases: an overview. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:666-74.
49. Herrmann W. Homocysteine research--where do we stand and where are we going? *Clin Chem Lab Med* 2005;43:977-9.
50. Herrmann W. Hyperhomocysteinämie, B-Vitamin-Mangel und Gefäß- sowie neurodegenerative Erkrankungen. In: Thomas L, ed. *Labor und Diagnose*. Frankfurt/Main: TH-Books Verlagsgesellschaft mbH, 2005:586-618.
51. Herrmann M, Kindermann I, Muller S, Georg T, Kindermann M, Bohm M, Herrmann W. Relationship of plasma homocysteine with the severity of chronic heart failure. *Clin Chem* 2005;51:1512-5.
52. Herrmann M, Taban-Shoma O, Hübner U, Pexa A, Kilter H, Umanskaya N, Straub RH, Böhm M, Herrmann W. Hyperhomocysteinemia and myocardial expression of brain natriuretic peptide in rats. *Clin Chem* 2007;53:773-80
53. Herrmann W, Schorr H, Geisel J, Riegel W. Homocysteine, cystathionine, methylmalonic acid and B-vitamins in patients with renal disease. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:739-746.
54. Herrmann W, Schorr H, Obeid R, Makowski J. Disturbed homocysteine and methionine cycle intermediates s-adenosylhomocysteine and s-adenosylmethionine are related to degree of renal insufficiency in type 2 diabetes. *Clin Chem* 2005;51:891-897.
55. Herzlich BC, Lichstein E, Schulhoff N, Weinstock M, Pagala M, Ravindran K et al. Relationship among homocyst(e)ine, vitamin B-12 and cardiac disease in the elderly: association between vitamin B-12 deficiency and decreased left ventricular ejection fraction. *J Nutr* 1996;126:1249S-53S.
56. Hillege HL, Girbes AR, de Kam PJ et al. Renal function, neurohormonal activation and survival in patients with chronic heart failure. *Circulation* 2000;102:203-210.
57. Ho KK, Pinsky JL, Kannel WB, et al. The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J Am Coll Cardiol* 1993;22(4 suppl A):6A-13A.
58. Jacques PF, Bostom AG, Williams RR, Ellison RC, Eckfeldt JH, Rosenberg IH et al. Relation between folate status, a common mutation in methylenetetrahydrofolate reductase, and plasma homocysteine concentrations. *Circulation* 1996;93:7-9.
59. Joseph J, Joseph L, Shekhawat NS et al. Hyperhomocysteinemia leads to pathological ventricular hypertrophy in normotensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2003;285:H679-H686
60. Joseph J, Washington A, Joseph L et al. Hyperhomocysteinemia leads to adverse cardiac remodeling in hypertensive rats. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 2002;283:H2567-H2574.
61. Kannel WB. Incidence and epidemiology of heart failure. *Heart fail Rev* 2000;5:167-73

62. Knekt P, Reunanen A, Alfthan G, Heliovaara M, Rissanen H, Marniemi J, Aromaa A. Hyperhomocystinemia: a risk factor or a consequence of coronary heart disease? *Arch Intern Med* 2001;161:1589-94.
63. Lee RT. Matrix metalloproteinase inhibition and the prevention of heart failure. *Trends Cardiovasc Med* 2001;11:202-205.
64. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* 1999;130:461-70.
65. Levy et al. The progression from hypertension to congestive Heart failure. *JAMA* 1996;275:1557-1562.
66. Li YY, Feldman AM. Matrix metalloproteinases in the progression of heart failure: potential therapeutic implications. *Drugs* 2001;61:1239-1252.
67. Litwin M, Abuaba M, Wawer ZT. Folate, vitamin B12, and sulfur amino acid levels in patients with renal failure. *Pediatr Nephrol* 2001;16:127-132.
68. Liu A, West R, Randell E, et al. A comprehensive evaluation of food fortification with folic acid for the primary prevention of neural tube defects. *BioMedCentral Pregnancy and Childbirth* 2004;4:20.
69. Malinow MR, Ducimetiere P, Luc G, Evans AE, Arveiler D, Cambien F, Upson BM. Plasma homocyst(e)ine levels and graded risk for myocardial infarction: findings in two populations at contrasting risk for coronary heart disease. *Atherosclerosis* 1996;126:27-34.
70. May et al. Homocysteine levels are associated with increased risk of congestive heart failure in patients with and without coronary artery disease. *Cardiology* 2007;107:178-84.
71. McLean RR, Jacques PF, Selhub J, Tucker KL, Samelson EJ, Broe KE et al. Homocysteine as a predictive factor for hip fracture in older persons. *N Engl J Med* 2004;350:2042-9.
72. Mills JL, Von Kohorn I, Conley MR, et al. Low vitamin B-12 concentrations in patients without anemia: the effect of folic acid fortification of grains. *Am J Clin Nutr* 2003;77:1474-7
73. Moustapha A, Naso A et al. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998;97:138-141.
74. Naruszewicz et al. Hyperhomocysteinemia in patients with symptomatic chronic heart failure : prevalence and prognostic importance- pilot study. *Atherosclerosis* 2007;194:408-414.
75. Nasir et al. Elevated Homocysteine is associated with reduced regional left ventricular function : The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circulation* 2007;115:180-187.
76. Nishikawa N, Yamamoto K, Sakata Y et al. Differential activation of matrix metalloproteinases in heart failure with and without ventricular dilatation. *Cardiovasc Res* 2003;57:766-774.

77. Obeid R, Kuhlmann MK, Kohler H, Herrmann W. Response of homocysteine, cystathionine, and methylmalonic acid to vitamin treatment in dialysis patients. *Clin Chem* 2005;51:196-201.
78. O'Connell JB, Bristow MR. Economic impact of heart failure in the United States: time for a different approach. *J Heart Lung Transplant* 1994;13:S107-S112.
79. Pfeiffer et al. Biochemical indicators of B vitamin status in the US population after folic acid fortification: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999–2000. *Am J Clin Nutr* 2005;82:442–50.
80. Pittrow et al. Prevalence, drug treatment and metabolic control of diabetes mellitus in primary care. *Med Klin (Munich)* 2006;101:635-44
81. Polyakova V, Hein S, Kostin S, Ziegelhoffer T, Schaper J. Matrix metalloproteinases and their tissue inhibitors in pressure-overloaded human myocardium during heart failure progression. *J Am Coll Cardiol* 2004;44:1609-1618.
82. Poole-Wilson PA. Chronic heart failure causes pathophysiology, prognosis, clinical manifestations, investigation. *Diseases of the Heart*. Bailliere-Tindall, London 1989:48.
83. Prugger et al. Epidemiology of hypertension in Germany and worldwide. *Herz* 2006;31:287-93.
84. Quere I, Perneger TV, Zittoun J, Bellet H, Gris JC, Daures JP et al. Red blood cell methylfolate and plasma homocysteine as risk factors for venous thromboembolism: a matched case-control study. *Lancet* 2002;359:747-52.
85. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004;50:3-32.
86. Reynolds E. Vitamin B12, folic acid, and the nervous system. *Lancet Neurol* 2006;5:949–60.
87. Riddell et al. Dietary strategies for lowering homocysteine concentrations *Am J Clin Nutr* 2000;71:1448–54.
88. Robinson K, Gupta A, Dennis V et al. Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation* 1996;94:2743-2748.
89. Roger VL, Weston SA, Redfield MM et al. Trends in heart failure incidence and survival in a community-based population. *JAMA* 2004;292:344-50.
90. Rosamond W et al. Heart disease and stroke statistics: 2007 update: a report from the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee [published correction appears in *Circulation*. 2007;115:e172]. *Circulation* 2007;115:e69–e171.

91. Rosen BD, Cushman M, Nasir K et al. Relationship Between C-Reactive Protein Levels and Regional Left Ventricular Function in Asymptomatic Individuals. The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis J Am Coll Cardiol 2007;49:594–600
92. Sakata Y, Yamamoto K, Mano T et al. Activation of matrix metalloproteinases precedes left ventricular remodeling in hypertensive heart failure rats : its inhibition as a primary effect of angiotensin-converting enzyme inhibitor. Circulation 2004;109:2143-2149.
93. Sato Y, Honda Y, Iwamoto J, Kanoko T, Satoh K. Effect of folate and mecobalamin on hip fractures in patients with stroke: a randomized controlled trial. JAMA 2005;293:1082-8
94. Sayegh et al. Cardiac Hepatopathy : Clinical, hemodynamic, and histologic characteristics and correlations. Hepatology 2003;37:393-400.
95. Scherbaum W.A: Epidemiologie und Verlauf des Diabetes mellitus in Deutschland. Evidenzbasierte Leitlinie DDG – Aktualisierung 05/2004
96. Schocken DD.. Epidemiology and risk factors for heart failure in the elderly. Clin geriatr med 2000;16:407-18.
97. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population [see comments]. JAMA 1993;270:2693-8.
98. Shimizu H, Kiyohara Y, Kato I, Tanizaki Y, Ueno H, Kimura Y et al. Plasma homocyst(e)ine concentrations and the risk of subtypes of cerebral infarction. The Hisayama study. Cerebrovasc Dis 2002;13:9-15.
99. Shimon I, Almog S, Vered Z et al. Improved left ventricular function after thiamine supplementation in patients with congestive heart failure receiving long-term furosemide therapy. Am J Med 1995;98:485-490.
100. Shlipak MG, Massie BM. The clinical challenge of cardiorenal syndrom. Circulation 2004;110:1514-1517.
101. Spinale FG, Coker ML, Bond BR, Zellner JL. Myocardial matrix degradation and metalloproteinase activation in the failing heart: a potential therapeutic target. Cardiovasc Res 2000;46:225-238.
102. Stam F, van Guldener C. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. Nephrol Dial Transplant 2003;18:892-898.
103. Stam F, van Guldener C et al. Homocysteine clearance and methylation flux rates in health and end-stage renal disease: association with S-adenosylhomocysteine. Am J Physiol Renal Physiol 2004;287:215-223.
104. Stanger et al. Physiology of folic acid in health and disease. Curr Drug Metab 2002;3:211-23.

105. Stanger, O., Herrmann, W., Pietrzik, K., Fowler, B., Geisel, J., Dierkes, J., and Weger, M. DACH-LIGA Homocystein (German, Austrian and Swiss Homocysteine Society): Consensus Paper on the Rational Clinical Use of Homocysteine, Folic Acid and B-Vitamins in Cardiovascular and Thrombotic Diseases: Guidelines and Recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1392-1403.
106. Stanger O, Weber M. Interactions of homocysteine, nitric oxide, folate and radicals in the progressively damaged endothelium. *Clin Chem Lab Med* 2003;41:1444-1454.
107. Stover PJ. Physiology of folate and vitamin B12 in health and disease. *Nutr Rev* 2004;62:S3-12.
108. Suliman ME, Lindholm B, Barany P, Bergstrom J. Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure patients: relation to nutritional status and cardiovascular disease. *Clin Chem Lab Med* 2001;39:734-738.
109. Swedberg K, Cleland J, Dargie H et al. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure: executive summary (update 2005): The Task Force for the Diagnosis and Treatment of Chronic Heart Failure of the European Society of Cardiology. *Eur Heart J* 2005;26:1115-40.
110. Theilmeyer G, Frenzel T. Pathophysiologie von koronarer Herzkrankheit und Herzinsuffizienz. *Anästhesiol Intensivmed Notfallmed Schmerzther* 2006;5:315–321.
111. Tyagi SC, Ratajska A, Weber KT. Myocardial matrix metalloproteinases: localization and activation. *Mol Cell Biochem* 1993;126:49-59.
112. Ueland PM, Nygard O, Vollset SE, Refsum H. The Hordaland Homocysteine Studies. *Lipids* 2001;36(Suppl):S33-39.
113. Van Meurs JB, Dhonukshe-Rutten RA, Pluijm SM, van der KM, de JR, Lindemans J et al. Homocysteine levels and the risk of osteoporotic fracture. *N Engl J Med* 2004;350:2033-41.
114. Vasan RS, Beiser A, D'Agostino RB et al. Plasma homocysteine and risk for congestive heart failure in adults without prior myocardial infarction. *JAMA* 2003;289:1251-7
115. Ventura P, Panini R, Verlato C, Scarpetta G, Salvioli G. Hyperhomocysteinemia and related factors in 600 hospitalized elderly subjects. *Metabolism* 2001;50:1466-71.
116. Verhoef P. Homocysteine as a risk factor for cardiovascular disease in women. In: Robinson K, ed. *Homocysteine and vascular disease*. Dordrecht, The Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 2000:217-38.
117. Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002;325:1202.
118. Walker et al. Effect of experimental Hyperhomocysteinemia on cardiac structure and function in the rat. *Ann Clin Lab Sci* 2004;34:175-80.

119. Wang TJ et al. Natural history of asymptomatic left ventricular systolic dysfunction in the community. *Circulation* 2003;108:977-982.
120. Witte KK, Nikitin NP, Parker AC et al. The effect of micronutrient supplementation on quality-of-life and left ventricular function in elderly patients with chronic heart failure. *Eur Heart J* 2005;26:2238-44
121. Wocial B, Berent H, Kostrubiec M, Kuczynska K. Homocysteine, adrenergic activity and left ventricular mass in patients with essential hypertension. *Blood Press* 2002;11:201-205.
122. Wolters et al. B vitamin status and concentrations of homocysteine and methylmalonic acid in elderly German women. *Am J Clin Nutr* 2003;78:765–72.
123. Yamazaki T, Lee JD, Shimizu H, Uzui H, Ueda T. Circulating matrix metalloproteinase-2 is elevated in patients with congestive heart failure. *Eur J Heart Fail* 2004;6:41-45.
124. Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* 2001;158:425-30.
125. Zannad et al. Incidence, Clinical and Etiologic Features, and Outcomes of Advanced Chronic Heart Failure: The EPICAL Study. *J Am Coll Cardiol* 1999;33:734 –42
126. Ziegler EE, Filer LJ, eds. Present knowledge in nutrition. Washington DC: ILSI Press 1996:191-205.

## **7. Publikation**

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden bereits veröffentlicht in:

Herrmann et al. Plasma B vitamins and their relation to the severity of chronic heart failure.  
Am J Clin Nutr 2007;85:117-23

## **8. Danksagung**

Meinem Doktorvater Prof. Wolfgang Herrmann danke ich zunächst für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Anfertigung dieser Arbeit.

Besonders danke ich meinem Betreuer PD Dr. med. Markus Herrmann für die engagierte und geduldige Betreuung, und seine Bereitschaft, mich bei Schwierigkeiten in der Erstellung dieser Arbeit zu beraten.

Zudem danke ich Prof. Michael Böhm und Dr. Ingrid Kindermann für ihre wertvolle Beteiligung an diesem Projekt.

Weiterhin möchte ich mich bei allen Mitarbeitern des Zentrallabors Homburg bedanken, insbesondere bei Professor Jürgen Geisel und Frau Marga Sand-Hill.

Ein Dankeschön geht auch an meinen Mitdoktoranden Stephanie Müller und Omid Taban für ihre freundliche Hilfsbereitschaft und die nette Zusammenarbeit.

Auch danke ich Sebastien, Jacques, Julia, Nathalie und vielen anderen die hier nicht erwähnt sind, die mich durch ihre eigene Arbeitsbereitschaft und ihre gute Laune im Laufe der Zeit mitmotiviert haben.

Der größte Dank geht an Franck, der mir aufmunternd, geduldig und liebevoll hilft, meine Ziele zu erreichen, sowie an meine Eltern, die mir nicht nur meine Ausbildung ermöglicht haben, sondern mich auch in allen kleinen und großen Schritten des Lebens begleiten und unterstützen.

## 9. Lebenslauf

Laureen Gunther

*Geburtsdatum:* 15. 12. 1984  
*Geburtsort:* Forbach  
*Staatsangehörigkeit:* französisch

### Schulbildung

1990-1994 Grundschole in Morsbach  
1994-2001 Deutsch-französisches Gymnasium in Saarbrücken,  
französische Abteilung  
Deutsch-französisches Abitur 2001

### Hochschulstudium

2001-2007 Medizinstudium  
Homburg - Universitätsklinik des Saarlandes  
2003 Ärztliche Vorprüfung  
2006-2007 Praktisches Jahr:  
Universitätsklinikum Strasbourg, Klinik für Chirurgie  
Universitätsklinikum Homburg, Klinik für Pädiatrie  
Universitätsklinikum Homburg, Klinik für Innere Medizin  
2007 Ärztliche Prüfung

### Assistenzärztin in Weiterbildung Pädiatrie

Seit Januar 2008 Zentrum für Kinder- und Jugendmedizin,  
Klinikum Saarbrücken

## 10. Anhang

### Qualitätskontrollen

Gerät	Analyt	Kontrollmaterial	Charge	ZW	Einheit	Bereich	Zeitraum	VK %	R %		
Axsym	HCY	Liquichek Cardiac Markers Control 2	31152	11,0	µmol/l	7,0-15,0	02.02.05-23.02.05	5,64	-21,38		
		Liquichek Cardiac Markers Control 3	31153	22,0	µmol/l	13,0-31,0	02.02.05-23.02.05	6,08	-15,36		
ACS Centaur	B12	Lyphocheck Immunoassay Plus Control 2	40152	568	pg/ml	455-682	12.10.04-12.01.05	7,20	3,59		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 2	40152	613	pg/ml	490-736	13.01.05-09.02.05	7,29	-3,20		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 2	40152	613	pg/ml	490-736	10.02.05-28.02.05	5,54	-3,41		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 3	40153	1137	pg/ml	910-1364	12.10.04-12.01.05	5,31	0,18		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 3	40153	1201	pg/ml	961-1441	13.01.05-09.02.05	3,39	-3,91		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 3	40153	1201	pg/ml	961-1441	10.02.05-28.02.05	4,05	-4,75		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 2	40152	4,63	ng/ml	3,70-5,56	12.10.04-28.02.05	9,06	-2,87		
		Lyphocheck Immunoassay Plus Control 3	40153	8,87	ng/ml	7,10-10,6	12.10.04-28.02.05	9,18	-6,97		
		H 917	KRE	Liquid Assayed Multiquial 2	44692	1,60	mg/dl	1,25-1,95	12.10.04-28.02.05	2,49	5,56
				Liquid Assayed Multiquial 3	44693	6,30	mg/dl	4,92-7,68	12.10.04-28.02.05	1,94	5,08
Liquid Assayed Multiquial 2	44692			90,0	U/l	69,3-110	01.02.06-28.02.06	1,89	-1,73		
Liquid Assayed Multiquial 3	44693			175,00	U/l	135-215	01.02.06-28.02.06	1,92	-3,60		
Liquid Assayed Multiquial 2	44692			114	U/l	87,8-140	01.02.06-28.02.06	1,52	-0,44		
Liquid Assayed Multiquial 3	44693			175	U/l	135-215	01.02.06-28.02.06	1,12	-1,01		
Liquid Assayed Multiquial 2	44692			6,039	KU/l	4,952-7,126	01.02.06-28.02.06	1,51	-0,15		
Liquid Assayed Multiquial 3	44693			7,492	KU/l	6,144-8,840	01.02.06-28.02.06	1,44	-0,40		
Liquid Assayed Multiquial 2	44692			82,0	U/l	64,0-100	01.02.06-28.02.06	1,62	1,44		
Liquid Assayed Multiquial 3	44693			138	U/l	108-168	01.02.06-28.02.06	1,53	1,45		
	CRP	Liquichek Immunology Control 1	52241	10,80	mg/l	7,89-13,7	01.02.06-28.02.06	2,01	-7,62		
		Liquichek Immunology Control 2	52242	25,0	mg/l	18,3-31,7	01.02.06-28.02.06	2,01	-1,84		
PPE 2	PBNP	PreciControl Cardiac 1	166709	99,4	pg/ml	84,5-114	01.01.05-31.01.05	0,51	-6,55		
		PreciControl Cardiac 1	167924	135	pg/ml	115-155	01.02.05-28.02.05	1,44	-3,84		
		PreciControl Cardiac 2	166709	3510	pg/ml	2984-4038	01.01.05-31.01.05	2,33	-4,10		
		PreciControl Cardiac 2	167924	4640	pg/ml	3944-5336	01.02.05-28.02.05	2,90	-5,58		