

Aus dem Universitätsklinikum des Saarlandes  
Innere Medizin IV - Nieren- und Hochdruckkrankheiten - Homburg  
Klinikdirektor: Prof. Dr. med. D. Fliser

**S-Adenosylhomocystein (SAH)**  
**- Ein neuer nicht-traditioneller kardiovaskulärer**  
**Risikofaktor**  
**bei chronischer Nierenerkrankung?**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin**  
**der Medizinischen Fakultät**  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2014

vorgelegt von  
Insa Elena Emrich

Tag des Kolloquiums: .....

Dekan: .....

1. Berichtstatter: .....

2. Berichtstatter: .....



# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>5</b>
<b>1. Zusammenfassung .....</b>	<b>6</b>
<b>2. Summary .....</b>	<b>8</b>
<b>3. Einleitung .....</b>	<b>10</b>
3.1 Epidemiologie der chronischen Nierenerkrankung.....	10
3.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen bei chronisch nierenkranken Menschen .....	10
3.3 Akzelerierte Arteriosklerose als Grundlage kardiovaskulärer Ereignisse bei nierenkranken Menschen.....	11
3.4 Der „Ein-Kohlenstoff-Metabolismus“ (C1-Metabolismus) .....	12
3.5 Rolle der Hyperhomocysteinämie .....	13
3.6 Hyperhomocysteinämie und kardiovaskuläre Erkrankungen.....	15
3.7 Plasma-Homocystein, Plasma-SAH und Plasma-SAM bei chronisch nierenkranken Menschen .....	16
<b>4. Material und Methoden .....</b>	<b>17</b>
4.1 Patienten .....	17
4.2 CARE FOR HOME Studie .....	17
4.2.1 Einschlusskriterien .....	18
4.2.2 Ausschlusskriterien.....	18
4.2.3 Patientencharakteristika.....	19
4.3 Studienablauf.....	19
4.4 Definitionen besonderer Patientencharakteristika.....	20
4.5 Sonographische Untersuchung .....	21
4.6 Bestimmung von S-Adenosylmethionin (SAM), S- Adenosylhomocystein (SAH) und Homocystein.....	22
4.7 Statistik.....	23

<b>5. Ergebnisse .....</b>	<b>24</b>
5.1 Baselinecharakteristika.....	24
5.2 Plasma-SAH, Plasma-SAM, Plasma-Homocystein und der SAM / SAH Quotient .....	28
5.3 Prädiktoren prävalenter kardiovaskulärer Erkrankungen.....	38
<b>6. Diskussion .....</b>	<b>51</b>
6.1 Die chronische Nierenerkrankung als kardiovaskulärer Risikofaktor .....	51
6.2 Hyperhomocysteinämie und Atherogenese .....	53
6.3 Bedeutung des Homocysteinmetabolismus.....	58
6.4 'Ein-Kohlenstoff-Metabolite' und Atherogenese .....	59
6.5 Hyperhomocysteinämie und erhöhtes Plasma-SAH bei chronischer Nierenerkrankung .....	60
6.6 Ursachen der Störung im C1-Metabolismus bei chronischer Nierenerkrankung.....	64
6.7 Die Bedeutung von SAH und der Epigenetik bei chronischer Niereninsuffizienz .....	65
6.8 Weitere dem C1-Metabolismus nahestehende Reaktionswege .....	66
6.9 Limitationen .....	67
6.10 Zusammenfassung und Ausblick.....	68
<b>8. Danksagung.....</b>	<b>85</b>
<b>9. Publikationen / Vorträge.....</b>	<b>87</b>
9.1 Publikation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit .....	87
9.2 Präsentation der zentralen Ergebnisse der Promotionsarbeit durch die Verfasserin der Dissertationsschrift.....	87
9.3 Präsentation von weiteren Teilergebnissen der Promotionsarbeit durch die Verfasserin der Dissertationsschrift.....	88
<b>10. Lebenslauf .....</b>	<b>89</b>

# Abkürzungsverzeichnis

ADMA	Asymmetrisches Dimethylarginin
ATP	Adenosintriphosphat
BHMT	Betain-Homocystein-Methyltransferase
BMI	Body Mass Index
B6	Vitamin B6
B12	Vitamin B12
CKD	Chronic Kidney Disease; chronische Nierenerkrankung
CRP	C-reaktives Protein
CVD	Cardiovascular Disease; kardiovaskuläre Erkrankung
C1-Metabolismus	Ein-Kohlenstoff-Metabolismus
DDAH	Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase
eGFR	estimated Glomerular Filtration Rate; geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
H <sub>2</sub> S	Schwefelwasserstoff
IMT	Intima-Media-Thickness; Intima-Media-Dicke
K/DOQI	Kidney Disease Outcomes Quality Initiative
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
MS	Methioninsynthase
MTHFR	Methyl-Tetrahydrofolat-Reduktase
MTR	N5-Methyl-Tetrahydrofolat-Homocystein-S-Methyltransferase
RR dia	diastolischer Blutdruck
RR sys	systolischer Blutdruck
SAH	S-Adenosylhomocystein
SAM	S-Adosylmethionin
THF	Tetrahydrofolsäure

# 1. Zusammenfassung

## S-Adenosylhomocystein (SAH)- Ein neuer nicht-traditioneller kardiovaskulärer Risikofaktor bei chronischer Nierenerkrankung?

**Hintergrund:** Chronisch nierenkranke Patienten sind eine kardiovaskuläre Hochrisikogruppe. Es wird postuliert, dass Störungen im „Ein-Kohlenstoff-Metabolismus“ (C1-Metabolismus), welcher Homocystein, S-Adenosylhomocystein (SAH) und S-Adenosylmethionin (SAM) umfasst, zum kardiovaskulären Risiko nierenkranker Menschen beitragen könnten. Bisherige Untersuchungen fokussierten auf Plasma-Homocystein, dessen Senkung mittels Vitamin B6, Vitamin B12 und Folsäure jedoch keinen klinischen Benefit in Interventionsstudien erbrachte. Rezente Studien suggerieren, dass Plasma-SAH einen pathogenetisch relevanteren kardiovaskulären Risikofaktor als Plasma-Homocystein darstellt. In der prospektiven CARE FOR HOME Studie sollte daher überprüft werden,

- (1) inwieweit Plasma-SAH bei chronischer Nierenerkrankung akkumuliert und
- (2) ob Plasma-SAH stärker als Plasma-Homocystein mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen bei nierenkranken Menschen assoziiert ist.

**Methodik:** Im Zeitraum von Februar 2012 bis April 2013 wurden 297 chronisch nierenkranke Patienten aller K/DOQI Stadien im Rahmen der CARE FOR HOME Studie untersucht und Blutproben zur Analyse der C1-Metabolite (Homocystein, SAH und SAM) entnommen. Die Bestimmung von Plasma-SAM und Plasma-SAH erfolgte mittels des Waters 2795 Alliance HT HPLC Systems gekoppelt an das Quattro Micro API Tandem Massenspektrometer (Waters Corporation, Milford, Connecticut, USA). Plasma-Homocystein wurde mittels eines Fluoreszenz-Polarisations-Immunoassays auf dem Abbott AxSym System bestimmt (Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois, USA). Die Bestimmung der Nierenfunktion erfolgte als geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) gemäß der auf Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

**Ergebnisse:** Mit fallender glomerulärer Filtrationsrate steigen die Plasmakonzentrationen der C1-Metabolite signifikant an, wobei sich ein stärkerer Anstieg von Plasma-SAH ( $r = 0,497$ ) als von Plasma-Homocystein ( $r = 0,424$ ) zeigt. Der SAM / SAH Quotient nimmt mit fallender

glomerulärer Filtrationsrate ab. Erwartungsgemäß korrelieren die C1-Metabolite untereinander, sowie mit weiteren Markern der chronischen Nierenerkrankung (z.B. mit dem Plasma-Phosphat oder mit der Albuminurie).

Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen weisen ein höheres Plasma-SAH auf als kardiovaskulär gesunde Patienten ( $p = 0,007$ ), obgleich in logistischer Regressionsanalyse Plasma-SAH keinen unabhängigen Prädiktor prävalenter kardiovaskulärer Erkrankungen darstellt.

**Diskussion:** Plasma-SAH akkumuliert bei chronisch nierenkranken Menschen stärker als Plasma-Homocystein. Weitere epidemiologische und experimentelle Studien sollten überprüfen, ob eine Erhöhung von Plasma-SAH einen neuen nicht-traditionellen kardiovaskulären Risikofaktor darstellt. Da Folsäure und Vitamin B12 Plasma-SAH – anders als Plasma-Homocystein – nicht senken, müssten nachfolgend alternative Therapiestrategien zur Senkung von Plasma-SAH entwickelt werden.



## 2. Summary

### **S-adenosylhomocysteine- a novel non-traditional cardiovascular risk factor in chronic kidney disease?**

**Background:** Patients suffering from chronic kidney disease exhibit high cardiovascular morbidity and mortality. It has been postulated that a disturbed C1-metabolism, which comprises homocysteine, S-adenosylhomocysteine (SAH) und S-adenosylmethionine (SAM), may contribute to this high cardiovascular risk burden.

Earlier studies focused on plasma homocysteine; however, in interventional trials, lowering plasma homocysteine *via* supplementation of vitamin B6, vitamin B12 and folic acid did not beneficially affect cardiovascular event rate. Subsequently, plasma SAH rather than plasma homocysteine has been postulated as the real culprit in the pathogenesis of cardiovascular disease.

Against this background, we aimed to investigate in a prospective epidemiological study

- (1) to which degree plasma SAH accumulates in chronic kidney disease and
- (2) whether plasma SAH, compared to plasma homocysteine, is associated more strongly with prevalent cardiovascular events.

**Methods:** From February 2012 until April 2013, we assessed plasma homocysteine, plasma SAM and plasma SAH concentrations among 297 patients suffering from chronic kidney disease (K/DOQI stages G1 - G5), who participated in our ongoing CARE FOR HOME study. Plasma SAM und SAH was analysed using a Waters 2795 alliance HT, coupled to a Quattro micro API tandem mass spectrometer (Waters Corporation, Milford, Connecticut, USA). Homocysteine was assessed by using a fluorescence polarization immunoassay on the Abbott AxSym system (Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois, USA). Kidney function was determined as estimated glomerular filtration rate (eGFR), using the creatinine based CKD-EPI equation.

**Results:** With declining renal function, plasma homocysteine, plasma SAM and plasma SAH increased significantly. eGFR correlated more strongly with plasma SAH ( $r = 0.497$ ) than with plasma homocysteine ( $r = 0.424$ ). The SAM / SAH ratio decreased with declining renal

function. As expected, C1 metabolites are strongly intercorrelated, and they are correlated with other markers of chronic kidney disease (e.g. with plasma phosphate and albuminuria). Patients with prevalent cardiovascular disease had higher plasma SAH than patients without prevalent cardiovascular disease ( $p = 0.007$ ). Nevertheless, plasma SAH did not independently predict prevalent cardiovascular disease in logistic regression analysis.

**Discussion:** In chronic kidney disease, plasma SAH accumulates to a higher degree than plasma homocysteine. Further epidemiological and experimental studies are necessary to examine if an increase of plasma SAH represents a novel non-traditional cardiovascular risk factor. Folic acid, vitamin B6 and vitamin B12, which lower plasma homocysteine, do not decrease plasma SAH. Therefore alternative therapeutic strategies to lower plasma SAH remain to be defined.

## **3. Einleitung**

### **3.1 Epidemiologie der chronischen Nierenerkrankung**

Die chronische Nierenerkrankung hat sich im Laufe der letzten Jahre zu einem weltweit wachsenden Gesundheitsproblem entwickelt, da die Prävalenz chronisch nierenkranker Menschen stetig ansteigt und mittlerweile bei 8 – 16 % liegt (61). Wird gemäß der rezenten Definition der Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) aus dem Jahr 2013 die chronische Nierenerkrankung („chronic kidney disease“; CKD) als Vorliegen eines morphologischen bzw. funktionellen Nierenschadens oder einer glomerulären Filtrationsrate (GFR)  $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  definiert, welche über mindestens drei Monate besteht, weisen in westlichen Industrienationen etwa 10 % aller Erwachsener eine CKD auf (29).

So erbrachten die repräsentativen National Health and Nutrition Examination Surveys, welche von 1988 - 1994 und 1999 - 2004 Daten von insgesamt 28 721 US-Amerikanern analysierten, einen Anstieg der Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung von 10,0 % auf 13,1 % unter allen erwachsenen Einwohnern der Vereinigten Staaten von Amerika (21); in der ebenfalls repräsentativen norwegischen Health Survey of Nord-Trondelag County (HUNT II), welche von 1995 - 1997 65 181 Norwegern untersuchte, betrug die Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung 10,2 % in der norwegischen Allgemeinbevölkerung (43). Interessanterweise wurde 2008 in einer (semi-repräsentativen) epidemiologischen Studie im Saarland eine Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung von gar 17,4 % unter 9806 teilnehmenden Personen der Altersgruppe von 50 - 74 Jahren berichtet (152).

In Einklang hiermit imponieren als häufigste Ursachen der chronischen Nierenerkrankung mit Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie hochprävalente Zivilisationserkrankungen westlicher Industrienationen, während eigenständige nephrologische Erkrankungen wie Glomerulonephritiden, tubulointerstitielle Erkrankungen und zystische Nierenerkrankungen eine geringere Prävalenz aufweisen (22).

### **3.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen bei chronisch nierenkranken Menschen**

Obleich die traditionelle nephrologische Betreuung von chronisch nierenkranken Menschen vor allem auf die Verhinderung der Progression der CKD bis hin zur Dialysepflichtigkeit

fokussiert, konnte epidemiologisch aufgezeigt werden, dass die betroffenen Patienten ein weit höheres Risiko aufweisen, ein fatales kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden, als eine terminale Niereninsuffizienz mit Dialysepflichtigkeit zu entwickeln (35,68). In Einklang damit weisen zahlreiche weitere prospektive Kohortenstudien bei chronisch nierenkranken Menschen auf eine deutliche Zunahme kardiovaskulärer Komplikationen mit abnehmender glomerulärer Filtrationsrate hin: So untersuchten Go und Mitarbeiter (38) in den Jahren 1996 – 2000

1 120 295 US-Amerikaner aus der Allgemeinbevölkerung und erkannten einen unabhängigen Zusammenhang zwischen einer niedrigeren glomerulären Filtrationsrate bei Studienbeginn und einem erhöhten Risiko für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse, Krankenhausaufnahmen und Todesfälle.

Der jährliche Datenreport des US Renal Data System (USRDS) aus dem Jahr 2008 weist eine zunehmende Inzidenz und Mortalitätsrate des akuten Myokardinfarkts mit fortgeschrittenen Stadien der chronischen Nierenerkrankung auf (20). Auch die kardiale Dekompensation ist unter chronisch nierenkranken Menschen deutlich häufiger anzutreffen als in der Allgemeinbevölkerung (5), wobei sie ein führendes kardiovaskuläres Ereignis unter chronisch nierenkranken Menschen ist (19). Darüber hinaus konnte bei chronisch nierenkranken Menschen eine erhöhte Inzidenz für zerebrale Insulte (74,115), Vorhofflimmern (39,67,144), peripher-arterielle Verschlusskrankung (102,103) und plötzliche Herztodesfälle (51-53) erkannt werden.

Auch in der Saarländischen ESTHER Studie besteht eine deutliche Assoziation zwischen chronischer Nierenerkrankung und kardiovaskulären Erkrankungen (152).

Daher betrachtet man chronisch nierenkranke Menschen heute als kardiovaskuläre Hochrisikogruppe, die spezielle Aufmerksamkeit in Diagnostik und Behandlung benötigen (65,76). Dies veranlasste 2003 die American Heart Association (110) erstmals eine verminderte glomeruläre Filtrationsrate und eine Mikroalbuminurie als unabhängige Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen zu definieren.

### **3.3 Akzelerierte Arteriosklerose als Grundlage kardiovaskulärer Ereignisse bei nierenkranken Menschen**

Pathophysiologische Grundlage dieser erhöhten kardiovaskulären Komorbidität chronisch nierenkranker Menschen ist vor allem eine vorzeitige Arteriosklerose, welche in den betroffenen Arterien sowohl als Verdickung und Kalzifikation der Mediaschicht (82) als auch

als Erkrankung der Intima mit größeren Plaqueablagerungen und nachfolgender Lumeneinengung („Atherosklerose“) auftreten kann (64,128). Pathophysiologische Folgeerkrankung der Mediaverkalkung sind erhöhte kardiale Nachlast mit konsekutiver linksventrikulärer Hypertrophie, während die Atherosklerose akute Myokardinfarkte und zerebrale Insulte induzieren kann (83).

In der nierengesunden Allgemeinbevölkerung konnte die Framingham Heart Study als erste große Kohortenstudie epidemiologische Risikofaktoren für das Auftreten arteriosklerotischer Gefäßveränderungen und für die konsekutiven kardiovaskulären Ereignisse erkennen, welche heute als traditionelle Risikofaktoren bezeichnet werden: höheres Alter, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nikotinabusus, Hyper-LDL-Cholesterinämie und Hypo-HDL-Cholesterinämie (66). Anders als in der Allgemeinbevölkerung erklären diese traditionellen Risikofaktoren jedoch bei nierenkranken Menschen nicht hinreichend die deutlich beschleunigte Arteriosklerosebildung (54). Vielmehr tragen bei nierenkranken Menschen wesentlich sogenannte nicht-traditionelle Risikofaktoren zu Gefäßerkrankungen bei, welche neben Störungen im Calcium- / Phosphathaushalt (7,41), oxidativem Stress (55), vaskulärer Mikroinflammation (2) und einer CKD-spezifischen Dyslipidämie vor allem einen gestörten Metabolismus von Homocystein und anderen Komponenten des „Ein-Kohlenstoff“ (C1)-Metabolismus umfasst (11,89), auf welche diese Dissertationsschrift fokussiert.

### **3.4 Der „Ein-Kohlenstoff-Metabolismus“ (C1-Metabolismus)**

Homocystein, S-Adenosylmethionin (SAM) und S-Adenosylhomocystein (SAH) stellen zentrale Komponenten des C1-Metabolismus dar, welcher neben zahlreichen Methylierungsreaktionen auch die DNA-Methylierung steuert und somit eine erhebliche Bedeutung in der epigenetischen Regulation des menschlichen Organismus hat. Als wesentlicher Methylgruppendonor für alle Methylierungsreaktionen entsteht SAM durch die Aktivierung von Methionin durch Adenosintriphosphat (ATP). Nach der Übertragung seiner Methylgruppe entsteht aus SAM das SAH, welches ein starker Inhibitor verschiedenster Methyltransferasen ist. SAH seinerseits kann durch die SAH-Hydrolase zu Homocystein umgewandelt werden. Dieser Reaktionsweg steht allerdings im Gleichgewicht und ist daher reversibel, sodass es bei einer Akkumulation von Homocystein auch zu einer Anhäufung von SAH kommt, was wiederum zu einer Inhibition der Methyltransferasen führt.

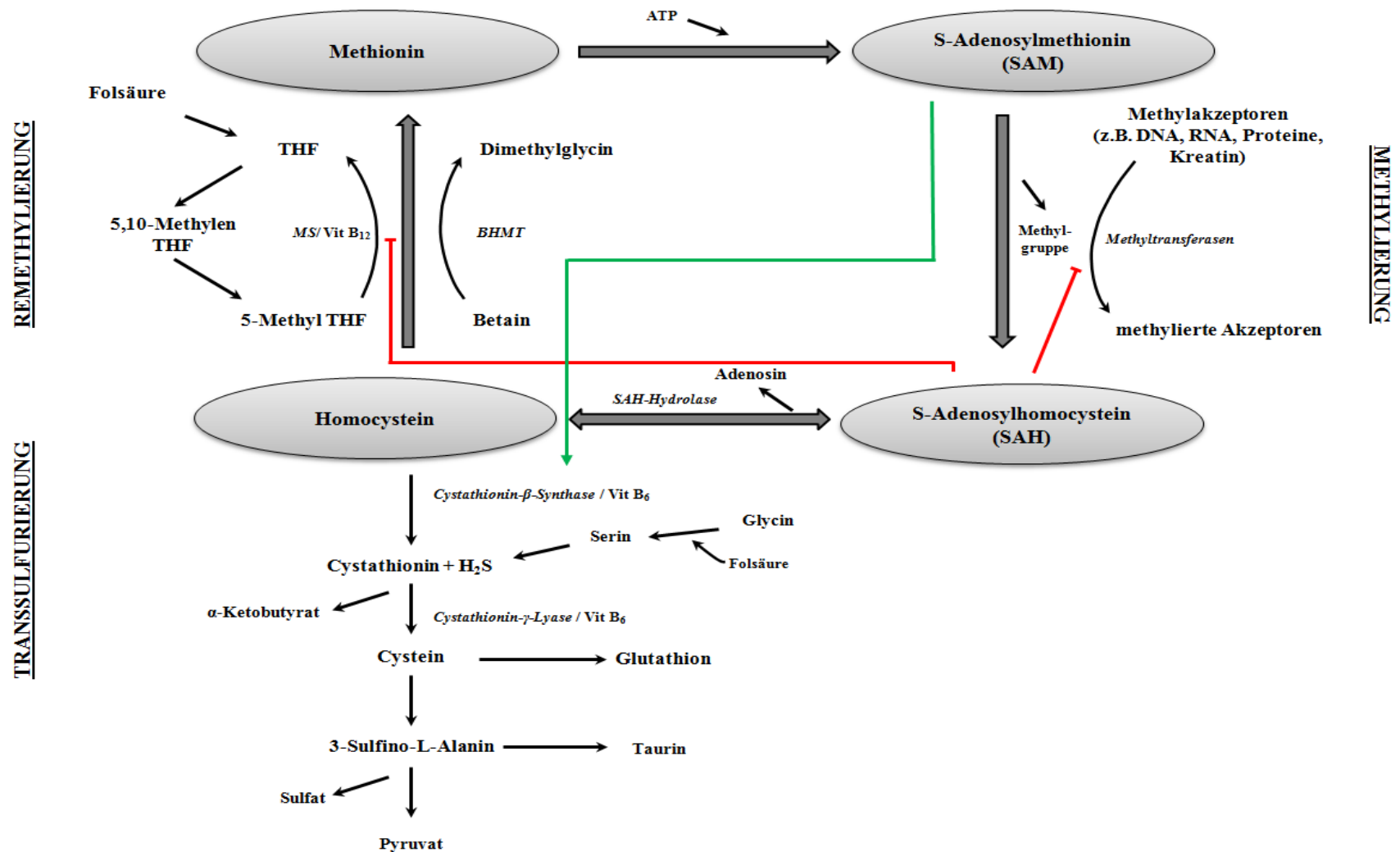
Homocystein kann entweder in einer Vitamin B6-abhängigen Transsulfurierungsreaktion

irreversibel zu Glutathion abgebaut, oder über einen Betain-, Vitamin B12- und Folsäure-abhängigen Reaktionsweg zu Methionin remethyliert werden (Abbildung 1).

### **3.5 Rolle der Hyperhomocysteinämie**

Der Normalbereich von Homocystein im Plasma liegt bei etwa 10 µmol/l (99). Als milde bis moderate Hyperhomocysteinämie definierte Maron und Mitarbeiter 2006 und 2009 Homocysteinkonzentrationen von 31 - 100 µmol/l, als schwere Hyperhomocysteinämie Konzentrationen von > 100 µmol/l (91,92).

In der Allgemeinbevölkerung findet sich eine Prävalenz der Hyperhomocysteinämie von 5 – 10 % (106), in der älteren Bevölkerung von 30 - 40 % (114) und bei chronisch nierenkranken Menschen sogar eine Prävalenz von 85 - 100 % (126). Einer Hyperhomocysteinämie können neben der chronischen Nierenerkrankung weitere Ursachen zugrunde liegen: Einerseits haben Männer und Frauen nach der Menopause höhere Homocysteinkonzentrationen als junge Frauen. Weiterhin können Nikotin- und Koffeinkonsum, ein Mangel an Folsäure, Vitamin B12 oder Vitamin B6 sowie Mutationen (C677T Mutation in der Methyl-Tetrahydrofolat-Reduktase) und Defekte (Cystathionin β-Synthase, Methioninsynthase, Methyl-Tetrahydrofolat-Homocystein-Methyl-Transferase) der Enzyme im Methioninstoffwechsel eine Hyperhomocysteinämie induzieren (42).



**Abbildung 1:** Übersicht über den C1-Metabolismus, H<sub>2</sub>S = Schwefelwasserstoff, THF = Tetrahydrofolsäure, MS = Methioninsynthase.

### **3.6 Hyperhomocysteinämie und kardiovaskuläre Erkrankungen**

Der Zusammenhang zwischen einer Hyperhomocysteinämie und vaskulären Erkrankungen wurde erstmals 1969 von McCully bei einem Patienten beschrieben, der einen angeborenen Defekt im Homocysteinstoffwechsel („Homocystinurie“) aufwies (94). Diese Homocystinurie ist mit massiv erhöhten Homocysteinwerten und mit frühzeitigen kardiovaskulären Ereignissen aufgrund einer sehr aggressiven Arteriosklerose assoziiert (94).

In den folgenden Jahrzehnten konnten zahlreiche klinische Studien diesen Zusammenhang zwischen Hyperhomocysteinämie und kardiovaskulären Erkrankungen, wie Schlaganfällen (104), peripher-arterieller Verschlusskrankheit (13), koronarer Herzerkrankung (62,88) oder linksventrikulärer Myokardinsuffizienz (137) auch in der Allgemeinbevölkerung und somit bei Menschen mit weniger prominent erhöhten Homocysteinwerten bestätigen.

Sowohl die kausale Bedeutung von Homocystein in der Arteriosklerose- / und Atherosklerosebildung als auch die genauen zugrundeliegenden pathophysiologischen Signalkaskaden sind jedoch umstritten. Experimentelle Daten weisen allerdings darauf hin, dass Homocystein zu einem Endothelschaden beiträgt (45,139), die LDL-Oxidation im Blut erhöht (47), die Thromboxan-vermittelte Plättchenaggregation steigert (25), die Aktivierung von Thrombomodulin und von Protein C auf der Zelloberfläche verhindert (75), die Lipoprotein a-Fibrin Bindung verstärkt (46) und die Proliferation der glatten Gefäßmuskelzellen fördert (131).

Trotz dieser experimentellen Daten wird dennoch die Theorie, dass die Hyperhomocysteinämie als direkte Ursache einer arteriosklerotischen Erkrankung anzusehen ist, in den letzten Jahren kontrovers diskutiert. So konnte in klinischen Studien durch Vitaminsubstitution von Vitamin B12, Vitamin B6 und Folsäure zwar das Plasma-Homocystein deutlich gesenkt werden, eine Risikoreduktion im Bezug auf kardiovaskuläre Ereignisse wurde dadurch allerdings nicht erreicht (9,129).

Interessanterweise kann durch eine solche Vitaminsubstitution das Plasma-SAH nicht gesenkt werden (50). Daher wird in rezenten Arbeiten postuliert, dass SAH - anders als Homocystein - eine kausale Bedeutung bei kardiovaskulären Erkrankungen aufweisen könnte, zumal SAH und nicht Homocystein der direkte Inhibitor von Methylierungsreaktionen ist. In Einklang damit haben Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen neben erhöhtem Plasma-Homocystein auch erhöhtes Plasma-SAH (16,138).



### **3.7 Plasma-Homocystein, Plasma-SAH und Plasma-SAM bei chronisch nierenkranken Menschen**

Nachdem bei chronisch nierenkranken Menschen seit vielen Jahren eine sehr hohe Prävalenz einer milden bis moderaten Hyperhomocysteinämie (17,125) bekannt ist, welche auf eine Akkumulation toxischer Inhibitoren des Methioninstoffwechsels, auf eine verminderte renale Exkretion oder auf Störungen des Folsäurehaushalts sowie des Vitamin B6 und Vitamin B12 Haushalts zurückgeführt werden könnten (125), wurde erst 2005 von einer hohen Akkumulation des SAHs bei nierenkranken Menschen berichtet, welche die Akkumulation von Homocystein gar übertrifft (59). Darüber hinaus konnte die Niere als Hauptausscheidungs- und Regulationsorgan von SAH identifiziert werden (36).

Die vorliegenden Studiendaten zur Akkumulation von SAH basieren jedoch nur auf sehr kleinen Kohorten von höchstens 23 Teilnehmern (59).

Daher soll die vorgelegte Dissertationsschrift erstmals den Zusammenhang zwischen Nierenfunktion, Arteriosklerosebildung und dem C1-Metabolismus in einer größeren Kohorte chronisch nierenkranker Patienten untersuchen.

Wir stellen die Hypothesen auf, dass es mit progredienter chronischer Nierenerkrankung zu einem prominenteren Anstieg von SAH als von Homocystein kommt und, dass chronisch nierenkranke Patienten mit arteriosklerotischer Gefäßerkrankung höheres Plasma-SAH aufweisen.

## **4. Material und Methoden**

### **4.1 Patienten**

Im Rahmen der vorgelegten Promotionsarbeit wurden im Zeitraum vom 01.03.2012 bis 28.02.2013 297 chronisch nierenkranke Patienten untersucht. Alle Patienten waren Teilnehmer der fortlaufenden CARE FOR HOME Studie der Klinik für Innere Medizin IV- Nieren- und Hochdruckkrankheiten des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg, die sich im Rahmen einer elektiven Nachuntersuchung in der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV vorstellten. Alle Patienten wurden am Vortag der Nachuntersuchung telefonisch über den Untersuchungsablauf informiert und gebeten, sich nüchtern vorzustellen.

### **4.2 CARE FOR HOME Studie**

Die CARE FOR HOME Studie rekrutierte über einen Zeitraum von drei Jahren (September 2009 bis Oktober 2012) 444 chronisch nierenkranke Patienten im CKD („chronic kidney disease“; chronische Nierenerkrankung) Stadium II bis IV nach K/DOQI (kidney dialysis outcome initiative) Klassifikation.

Die initiale Patientenrekrutierung erfolgte zwischen 2009 und 2012 im Rahmen eigenständiger Promotionsarbeiten; Details zu den Einschlussuntersuchungen sind ausführlich in drei Dissertationsschriften dargestellt worden (30,49,140).

Das zugrundeliegende Untersuchungsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer des Saarlandes geprüft und genehmigt. Alle Patienten gaben bei Studieneinschluss ihr schriftliches Einverständnis.

Das Studienprotokoll der CARE FOR HOME Studie sah über einen Fünfjahres-Zeitraum jährliche Kontrolluntersuchungen zur Evaluation immunologischer und klinischer Progressionsfaktoren der chronischen Nierenerkrankung vor.

Patienten, die sich aufgrund einer Komorbidität oder aufgrund eines Wohnortswechsels nicht mehr persönlich in der Ambulanz für Innere Medizin IV vorstellen konnten, wurden einmal jährlich telefonisch mit einem standardisierten Fragebogen zu ihrem aktuellen Gesundheitszustand befragt; zudem wurden ebenfalls einmal jährlich aktuelle Arztbriefe und

Laborwerte von den behandelnden Ärzten angefordert. Bei allen Patienten, die nach initialem Studieneinschluss dialysepflichtig wurden, erfolgten ebenso telefonisch Kontaktaufnahmen mit den Patienten selbst und zusätzlich mit ihren behandelnden Nephrologen.

#### **4.2.1 Einschlusskriterien**

In die CARE FOR HOME Studie initial eingeschlossen wurden chronisch nierenkranke Patienten der Stadien II bis IV nach K/DOQI. Zur Quantifizierung der exokrinen Nierenfunktion erfolgte eine Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate („estimated glomerular filtration rate“; eGFR) nach der Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung, in die neben dem Serum-Kreatinin die Variablen Geschlecht, Ethnizität und Alter eingehen.

Da die Definition einer CKD im Stadium K/DOQI II neben einer eGFR von 60 - 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> den Nachweis einer chronischen Nierenschädigung erfordert, wurde als Einschlusskriterium für Patienten mit einer eGFR von 60 - 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> das Vorliegen einer Proteinurie größer 300 mg/g, einer Albuminurie größer 17 mg/g (bei Männern) respektive 25 mg/g (bei Frauen), einer persistierenden glomerulären Hämaturie, eines erhöhten Plasma-Cystatin Cs (> 1,05 mg/l), eines erhöhten Plasma-Kreatinins (> 1,2 mg/dl [bei Männern] respektive > 0,9 mg/dl [bei Frauen]), einer bioptisch gesicherten Nierenerkrankung und / oder einer Tubulopathie verlangt.

#### **4.2.2 Ausschlusskriterien**

Als Ausschlusskriterien bei Studienbeginn waren definiert:

- das Vorliegen einer chronischen Nierenerkrankung im Stadium I (eGFR > 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) oder V (eGFR < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>)
- die Einnahme einer systemischen immunsuppressiven Medikation
- das Vorliegen einer HIV Infektion, eines klinisch apparenten fieberhaften und / oder antibiotikapflichtigen Infektes oder einer asymptomatischen CRP-Erhöhung > 50 mg/l
- das Vorliegen einer aktiven onkologischen hämatologischen Systemerkrankung
- das Vorliegen eines akuten Nierenversagens (Kreatininanstieg größer 50 % innerhalb von 4 Wochen vor Studieneinschluss)

### **4.2.3 Patientencharakteristika**

Von den initial 444 in die CARE FOR HOME Studie eingeschlossenen Patienten erschienen 297 Patienten im Untersuchungszeitraum der vorgelegten Promotionsarbeit (01.03.2012 – 31.03.2013) persönlich zum jährlichen Nachuntersuchungstermin in der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV. Von diesen 297 Patienten befanden sich 76 Patienten im ersten, 82 Patienten im zweiten, 112 Patienten im dritten, 19 Patienten im vierten und 8 Patienten im fünften Nachuntersuchungsjahr. 31 Patienten wurden erst nach dem 01.03.2012 in die CARE FOR HOME Studie rekrutiert, sodass die erste Nachuntersuchung dieser Patienten frühestens am 01.04.2013 und somit außerhalb des Untersuchungszeitraums der vorgelegten Promotionsarbeit stattfand. Bei einem Patienten war im Jahr 2012 / 2013 der aktuelle Wohnort unbekannt, wodurch keine telefonische Kontaktaufnahme und keine Einbestellung zur Nachbeobachtung erfolgen konnte. 21 Patienten der CARE FOR HOME Studie waren vor dem 01.03.2012 verstorben.

Die übrigen Patienten konnten aufgrund eines Wohnortwechsels oder krankheitsbedingt (einschließlich derjenigen Patienten, die sich in einer externen nephrologischen Schwerpunktpraxis einer Dialysetherapie unterzogen) im Jahr 2012 / 2013 nur telefonisch kontaktiert werden.

### **4.3 Studienablauf**

Die Patienten wurden nach Eintreffen in der nephrologischen Ambulanz zunächst gebeten, eine Spontanurinprobe abzugeben, aus welcher eine Bestimmung von Albumin, Phosphor, Kalzium, Eiweiß und Kreatinin erfolgte.

Nach fünfminütigem Sitzen wurde unter standardisierten Bedingungen eine Blutentnahme durchgeführt; einerseits zur Bestimmung von Routineparametern (Vitamin D, Albumin, Phosphat, Kalzium, Cholesterin, CRP, Cystatin C, Kreatinin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyzeride), andererseits zur Asservierung von Plasma- / und Serumproben für die spätere Bestimmung von S-Adenosylmethionin, S-Adenosylhomocystein, Homocystein sowie etwaiger weiterer Parameter. Zu diesem Zweck wurden 14,4 ml Blut in EDTA-versetzte Entnahmeröhrchen und 9 ml Blut in Serumröhrchen entnommen.

Alle Routineparameter wurden nach standardisierter Methodik im Zentrallabor des Uniklinikums des Saarlandes in Homburg untersucht.

([http://www.uniklinikum-saarland.de/einrichtungen/kliniken\\_institute/zentrallabor/referenzwerte\\_verfahrensliste](http://www.uniklinikum-saarland.de/einrichtungen/kliniken_institute/zentrallabor/referenzwerte_verfahrensliste))

Der Patient unterzog sich im Anschluss einem 15-minütigen Fragebogeninterview zur detaillierten Erfassung seiner kardiovaskulären Risikofaktoren, seiner aktuellen Medikation sowie etwaiger stattgehabter kardiovaskulärer Ereignisse.

Es folgte an beiden Armen jeweils eine einmalige Blutdruckmessung nach 10-minütigem Ruhen im Sitzen und – nach Verlassen des Raumes durch den Untersucher – am Arm mit dem höheren Blutdruckwert eine automatische Blutdruckintervallmessung in einminütigen Abständen über insgesamt fünf Minuten (Dinamap V100; Anandic medical systems AG/SA, Diessenhofen, Schweiz).

Nachfolgend wurde ein Ruhe-Elektrokardiogramm geschrieben, das Körpergewicht erfasst und mittels geeichtem Maßband der Taillenumfang, gemessen auf Höhe des Trochanter majores, sowie der Hüftumfang, expiratorisch am Mittelpunkt einer Verbindungslinie von Crista iliaca und Unterrand der 12. Rippe, gemessen. Zur Komplementierung der anthropometrischen Daten wurde der Body-Mass-Index (BMI) durch folgende Formel bestimmt:

$$\text{Body-Mass-Index (BMI)} = \text{Körpergewicht [kg]} / \text{Körpergröße}^2 \text{ [m}^2\text{]}$$

#### **4.4 Definitionen besonderer Patientencharakteristika**

Als Diabetiker definierten wir Patienten mit einem Nüchtern-Blutzucker von > 126 mg/dl, einem Spontan-Blutzucker > 200 mg/dl, einem ärztlich vordiagnostizierten Diabetes mellitus und / oder mit antidiabetischer Medikation.

Als Raucher galt derjenige Patient, der in den letzten 28 Tagen mindestens eine Zigarette geraucht hatte.

Als Patienten mit einer positiven Familienanamnese wurden Probanden definiert, deren Verwandte 1. Grades (Eltern oder Geschwister) vor dem Erreichen des 65. Lebensjahres einen Myokardinfarkt oder einen ischämischen Insult erlitten.

Als kardiovaskuläres Ereignis wurden definiert:

- eine koronararterielle Intervention (PTCA / Stent / Bypassoperation)
- eine peripher-arterielle Revaskularisation (Stent / PTA / Bypassoperation)

- ein stattgehabter Myokardinfarkt
- eine zerebrovaskuläre Revaskularisation (Carotis Thrombendarterektomie oder Stentung)
- ein Apoplex mit klinischen Symptomen, die mindestens 24 Stunden persistierten
- eine nichttraumatische Amputation proximal des Fußgrundgelenkes

Alle Angaben der Patienten wurden über die Datenbank des Universitätsklinikums des Saarlandes respektive durch Anfordern von Arztbriefen externer Krankenhäuser validiert.

#### **4.5 Sonographische Untersuchung**

Die sonographische Untersuchung erfolgte in Rückenlage mit 30° aufgerichtetem Oberkörper unter Verwendung eines Sequioa 512 Gerätes (Thousand Oaks, Kalifornien, USA) mit 8L5 Schallkopf.

Es wurde die Intima-Media-Dicke gemäß den Leitlinien des Mannheimer Carotid Intima-Media-Thickness Consensus 2004 - 2006 bestimmt (130).

Dafür wurde der Patient gebeten, auf dem Rücken liegend den Kopf um 45° zu überstrecken und zur Gegenseite zu drehen. Die A. carotis communis wurde zunächst im Querschnitt mit dem zweidimensionalen B-Bildmodus auf beiden Seiten des Halses bis zur Bifurkation in die A. carotis interna und die A. carotis externa im Bulbus verfolgt. Proximal der Bifurkation wurde dann im Längsschnitt an definierten Stellen 1 cm, 2 cm und 3 cm nach dem Bulbus die Intima-Media-Dicke bestimmt, welche als Struktur zwischen dem ersten und zweiten Grenzreflex der Gefäßhinterwand definiert wurde. Der erste Grenzreflex stellt hierbei die Grenzfläche zwischen Gefäßlumen und Tunica intima der Gefäßwand dar, der zweite Grenzreflex die Grenzfläche zwischen Tunica media und Adventitia der Gefäßwand.

Aus den sechs Einzelmessungen (drei Messungen auf der linken und drei auf der rechten Seite) wurde ein Mittelwert berechnet. Innerhalb von Plaques, definiert als umschriebene Erweiterung der Carotiswand über eine Länge von 15 mm oder als Erweiterungen, die mehr als 0,5 mm in das Gefäßlumen hineinragten, wurde die Messung nicht durchgeführt.



**Abbildung 2:** Sonographische Darstellung der Intima-Media-Dicke

Alle sonographischen Untersuchungen wurden von maximal zwei Untersuchern durchgeführt.

#### **4.6 Bestimmung von S-Adenosylmethionin (SAM), S- Adenosylhomocystein (SAH) und Homocystein**

2,7 ml des EDTA-Blutes wurden direkt auf Eis gelagert und in unmittelbarem Anschluss über die hauseigene Rohrpostanlage in das Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes geschickt.

Aus dieser Blutprobe wurden einerseits die Homocysteinwerte bestimmt. Die Kühlung des EDTA-Röhrchens erlaubte hierbei, dass keine fehlerhaften Werte aufgrund einer möglichen Homocysteinsynthese durch Erythrozyten entstanden. Die Quantifizierung von Homocystein wurde mittels Zentrifugation für zehn Minuten bei 2000 g, Fluoreszenzpolarisations-Immunassays (FPIA) und dem Abbott AxSYM Analysegerät durchgeführt (Abbott Laboratories, North Chicago, Illinois, USA).

Andererseits erfolgte aus dieser Blutprobe die Bestimmung von SAM und SAH. Hierzu wurde die Blutprobe zunächst für zehn Minuten bei 2000 g zentrifugiert und anschließend 1 ml EDTA Plasma mit 100 µl 1 N Essigsäure versetzt, um eine Degradation von SAM und SAH zu vermeiden.

Anschließend wurden diese Proben bis zur Messung im März 2013 bei -70°C gelagert.

Die Messung von SAM und SAH erfolgte nach einer im Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes etablierten Methode mit Hilfe des Waters 2795 Alliance HT HPLC Systems in Verbindung mit einem Quattro Micro API Tandem Massenspektrometer (Waters Corporation, Milford, Connecticut, USA) (72).

#### **4.7 Statistik**

Die elektronische Datenerfassung erfolgte mit Microsoft® Excel. Danach wurden die Daten zur statistischen Auswertung in die Statistik Software SPSS (Statistical Product and Service Solutions, PASW Statistics 18, Inc; Chicago; Illinois, USA) übertragen.

Die kategorialen Merkmale sind als Anzahl (Prozentwert) aufgeführt. Alle stetigen Merkmale sind als Mittelwert ± Standardabweichung [bei nicht-parametrischer Verteilung Median (25. / 75. Perzentile)] angegeben; Korrelationskoeffizienten zwischen stetigen Merkmalen wurden nach Kendell-Tau berechnet. Der statistische Vergleich von kategorialen Merkmalen erfolgte für zwei unabhängige Stichproben nach Fisher Test, bei mehr als zwei unabhängige Stichproben nach  $\chi^2$  Test. Stetige Merkmalen wurden mittels T-Test für zwei unabhängige Stichproben verglichen, bei mehr als zwei Stichproben erfolgte der Vergleich mittels des einfaktoriellen ANOVA mit Test für linearen Trend.

Schließlich erfolgte eine logistische Regressionsanalyse, welche traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren, Nierenfunktion und Parameter des C1-Metabolismus als unabhängige Variablen und prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen als abhängige Variable einschloss.

Als statistisch signifikant gelten in allen angewandten statistischen Verfahren p-Werte von  $\leq 0,05$ .



## 5. Ergebnisse

### 5.1 Baselinecharakteristika

Die Baselinecharakteristika der 297 teilnehmenden Patienten sind in Tabelle 1 zusammengestellt.

Insgesamt liegt der Frauenanteil bei 39,4 %, das mittlere Alter beträgt  $67,0 \pm 12,5$  Jahre, 10,8 % der teilnehmenden Patienten rauchen, 35,7 % leiden an Diabetes mellitus, 32,0 % der Patienten haben prävalente kardiovaskuläre Ereignisse.

Der mittlere Kreatininwert liegt bei  $1,64 \pm 0,72$  mg/dl und die mittlere geschätzte glomeruläre Filtrationsrate bei  $44 \pm 19$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.

Stratifiziert man die Patienten nach ihrer chronischen Nierenerkrankung in die GFR Kategorien, so lässt sich der größte Anteil der Patienten in die GFR Kategorie 3 einklassifizieren (92 Patienten G 3a, 79 Patienten G 3b). Acht der 297 Patienten sind bei Baseline dialysepflichtig; von diesen Patienten konnte nicht der vollständige Datensatz erhoben werden.

Patienten mit weiter fortgeschrittener chronischer Niereneinschränkung weisen ein höheres Patientenalter, niedrigere diastolische Blutdruckwerte, einen höheren Pulsdruck, ein höheres Plasma-Phosphat sowie eine weiter fortgeschrittene Albuminurie im Vergleich zu Patienten mit weniger weit fortgeschrittener chronischer Niereneinschränkung auf.

Weiterhin haben Patienten mit weiter fortgeschrittener chronischer Nierenerkrankung niedrigeres Plasma-Albumin und niedrigeres HDL-Cholesterin.

Im Vergleich zu Patienten in weniger weit fortgeschrittenen GFR Kategorien ist der Anteil der Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen in weiter fortgeschrittenen GFR Kategorien höher, der Anteil der Raucher jedoch niedriger.

**Tabelle 1:** Patientencharakteristika bei Studienbeginn, stratifiziert nach geschätzter glomerulärer Filtrationsrate (eGFR).

	<b>Gesamt</b> [n = 297]	<b>CKD G 1 / 2</b> [n = 58]	<b>CKD G 3a</b> [n = 92]	<b>CKD G 3b</b> [n = 79]	<b>CKD G 4 / 5 ND</b> [n = 60]	<b>CKD G 5 D</b> [n = 8]	<b>p</b>
<b>Alter [Jahre]</b>	67,0 ± 12,5	58,9 ± 12,1	65,0 ± 11,6	71,6 ± 11,0	72,4 ± 10,0	63,0 ± 18,1	< 0,001
<b>Geschlecht [weiblich]</b>	117 [39,4 %]	23 [39,7 %]	31 [33,7 %]	36 [45,6 %]	25 [41,7 %]	2 [25,0 %]	0,503
<b>Raucher [ja]</b>	32 [10,8 %]	12 [20,7 %]	11 [12,0 %]	4 [5,1 %]	4 [6,7 %]	1 [12,5 %]	0,044
<b>Familiäre vorzeitige CVD [ja]</b>	61 [20,5 %]	12 [20,7 %]	21 [22,8 %]	15 [19,0 %]	8 [13,3 %]	5 [62,5 %]	0,027
<b>CVD [prävalent]</b>	95 [32,0 %]	10 [17,2 %]	25 [27,2 %]	32 [40,5 %]	23 [38,3 %]	5 [62,5 %]	0,007
<b>Diabetes mellitus [ja]</b>	106 [35,7 %]	20 [34,5 %]	30 [32,6 %]	28 [35,4 %]	25 [41,7 %]	3 [37,5 %]	0,850
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	30,6 ± 5,6	30,6 ± 5,9	30,8 ± 6,3	30,5 ± 4,9	30,2 ± 5,1	*	0,606
<b>Hüftumfang [cm]</b>	106,9 ± 13,4	105,9 ± 12,9	107,7 ± 15,8	107,6 ± 11,8	105,8 ± 12,2	*	0,901
<b>Tailenumfang [cm]</b>	101,8 ± 14,7	99,9 ± 15,2	103,0 ± 14,9	101,7 ± 13,8	101,9 ± 15,2	*	0,655
<b>RR sys [mmHg]</b>	146 ± 21	142 ± 20	146 ± 21	144 ± 20	151 ± 23	*	0,085

	<b>Gesamt</b> [n = 297]	<b>CKD G 1 / 2</b> [n = 58]	<b>CKD G 3a</b> [n = 92]	<b>CKD G 3b</b> [n = 79]	<b>CKD G 4 / 5 ND</b> [n = 60]	<b>CKD G 5 D</b> [n = 8]	<b>p</b>
<b>RR dia [mmHg]</b>	84 ± 11	87 ± 11	86 ± 11	80 ± 12	81 ± 9	*	< 0,001
<b>Pulsdruck [mmHg]</b>	62 ± 18	55 ± 15	61 ± 18	64 ± 17	69 ± 20	*	< 0,001
<b>IMT [mm]</b>	0,84 ± 0,12	0,80 ± 0,13	0,84 ± 0,11	0,87 ± 0,13	0,84 ± 0,13	*	0,042
<b>Albumin [g/l]</b>	44 ± 3	45 ± 3	45 ± 3	44 ± 3	44 ± 4	*	0,009
<b>Phosphat [mg/dl]</b>	3,36 ± 0,67	3,07 ± 0,58	3,18 ± 0,58	3,38 ± 0,58	3,90 ± 0,70	*	< 0,001
<b>Cholesterin [mg/dl]</b>	179,8 ± 41,6	186,3 ± 36,4	185,4 ± 44,2	170,1 ± 39,0	177,6 ± 44,0	*	0,054
<b>CRP [mg/l]</b>	2,50 [1,20; 5,45]	1,90 [1,08; 3,75]	2,55 [1,20; 6,03]	2,80 [1,30; 5,40]	2,95 [1,40; 5,98]	*	0,632
<b>HDL-C [mg/dl]</b>	53,2 ± 16,4	55,3 ± 15,8	55,8 ± 18,9	51,6 ± 15,8	49,3 ± 12,7	*	0,013
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	102,7 ± 35,5	106,3 ± 32,1	107,3 ± 38,0	95,8 ± 31,7	101,4 ± 38,4	*	0,143
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	1,64 ± 0,72	1,04 ± 0,15	1,32 ± 0,21	1,62 ± 0,28	2,72 ± 0,78	*	< 0,001
<b>Triglyzeride [mg/dl]</b>	157,6 ± 84,2	167,4 ± 104,7	146,3 ± 79,9	150,7 ± 74,6	174,6 ± 78,6	*	0,532

	<b>Gesamt</b> [n = 297]	<b>CKD G 1 / 2</b> [n = 58]	<b>CKD G 3a</b> [n = 92]	<b>CKD G 3b</b> [n = 79]	<b>CKD G 4 / 5 ND</b> [n = 60]	<b>CKD G 5 D</b> [n = 8]	<b>p</b>
<b>Vitamin D [ng/ml]</b>	33,1 ± 12,0	31,4 ± 11,2	32,4 ± 12,0	36,1 ± 11,7	32,9 ± 12,7	*	0,176
<b>eGFR CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	44 ± 19	71 ± 10	52 ± 5	38 ± 4	21 ± 5	*	< 0,001
<b>Albuminurie [g/mg Kreatinin]</b>	0,038 [0,010; 0,198]	0,018 [0,007; 0,011]	0,020 [0,008; 0,012]	0,039 [0,011; 0,018]	0,124 [0,036; 0,508]	*	0,001

CKD (Chronische Nierenerkrankung; „chronic kidney disease“) Kategorie G 1 / 2:  $\geq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G 3a: 59,9 - 45,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G 3b: 44,9 - 30,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G 4 / 5 ND: < 30,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> nicht dialysepflichtig; CKD G 5 D: < 15,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> dialysepflichtig.

CVD: kardiovaskuläre Erkrankung („cardiovascular disease“), BMI: body mass index; RR sys / dia: systolischer / diastolischer Blutdruckwert; IMT: Intima-Media-Dicke; CRP: C-reaktives Protein; HDL-C: high density lipoprotein-Cholesterin; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; Vitamin D: 25-OH-Hydroxy-Vitamin D; eGFR: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach Kreatinin-basierter CKD-EPI Gleichung.

Aufgeführt sind Mittelwert ± Standardabweichung; bei nicht-parametrischer Verteilung Median (25. / 75. Perzentile) oder Anzahl (Prozentanteil); die statistische Analyse erfolgte durch den einfaktoriellen ANOVA mit Test für linearen Trend oder durch den  $\chi^2$  Test.

\* diese Werte wurden nicht erfasst.

## **5.2 Plasma-SAH, Plasma-SAM, Plasma-Homocystein und der**

### **SAM / SAH Quotient**

Zunächst zeigt sich erwartungsgemäß, dass Plasma-SAH, Plasma-SAM und Plasma-Homocystein deutlich miteinander korrelieren (Abbildung 3 - 5).

Die mittleren Plasma-SAH, Plasma-SAM und Plasma-Homocystein Werte liegen bei  $50,14 \pm 36,14$  nmol/l,  $193,93 \pm 56,88$  nmol/l sowie  $18,44 \pm 7,15$   $\mu$ mol/l.

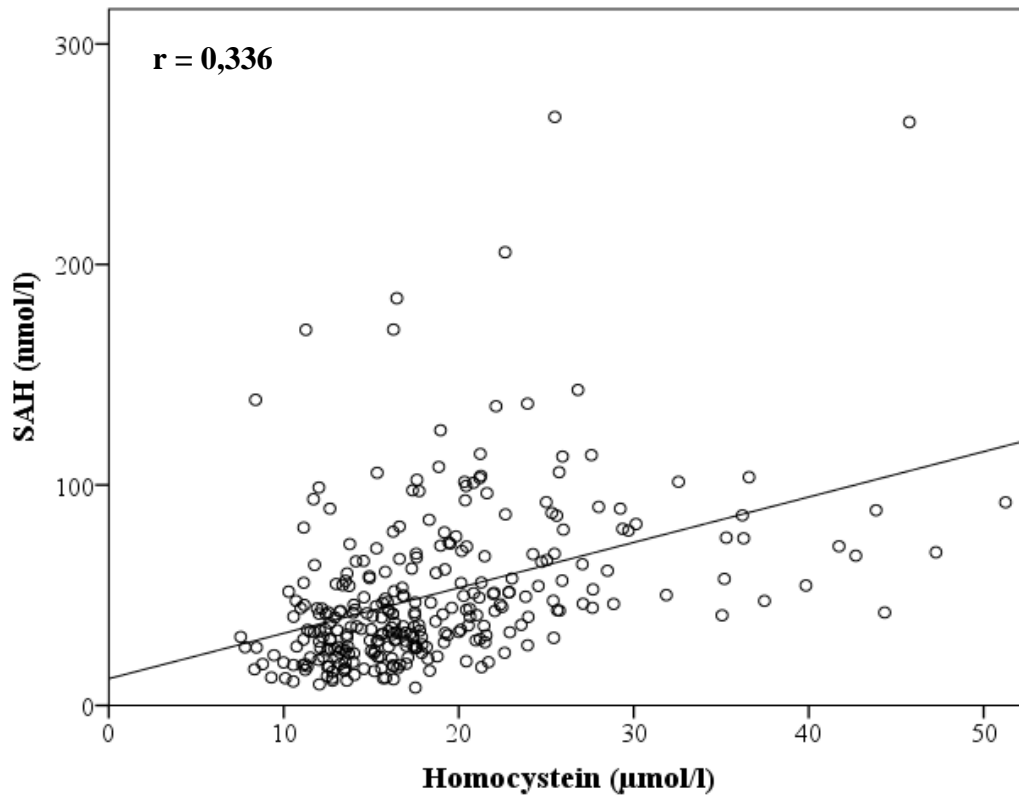
Stratifiziert man das Plasma-SAH, das Plasma-SAM und das Plasma-Homocystein nach der GFR Kategorie, so steigen die Plasmakonzentrationen mit weiter fortschreitender chronischer Nierenerkrankung an. Der SAM / SAH Quotient nimmt mit fortschreitender chronischer Niereneinschränkung ab (Abbildung 6 - 9).

Bei Betrachtung der eGFR als lineare Variable korreliert die glomeruläre Filtrationsrate sowohl mit dem Plasma-SAH, als auch mit dem Plasma-SAM, dem Plasma-Homocystein und dem SAM / SAH Quotienten. Der Korrelationskoeffizient von Plasma-SAH und der glomerulären Filtrationsrate ist jedoch signifikant höher als der Korrelationskoeffizient von Plasma-Homocystein sowie von Plasma-SAM und der glomerulären Filtrationsrate respektive von SAM / SAH Quotienten mit der glomerulären Filtrationsrate.

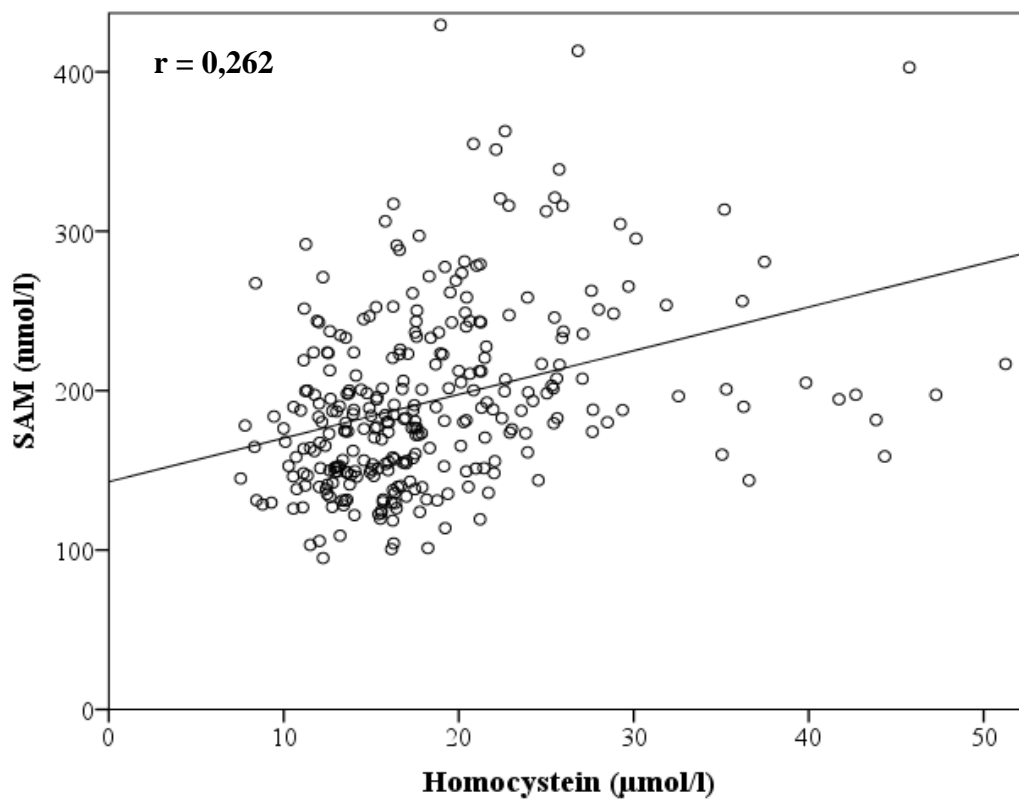
In Einklang mit der deutlichen Assoziation zwischen Nierenfunktion und Parametern des C1-Metabolismus korrelieren auch Plasma-Phosphat und Albuminurie mit Plasma-SAH, Plasma-SAM, Plasma-Homocystein und dem SAM / SAH Quotienten.

Daneben lässt sich eine signifikante Korrelation von SAM, nicht jedoch von SAH und von Homocystein, mit dem BMI und dem CRP beobachten (Tabelle 2).

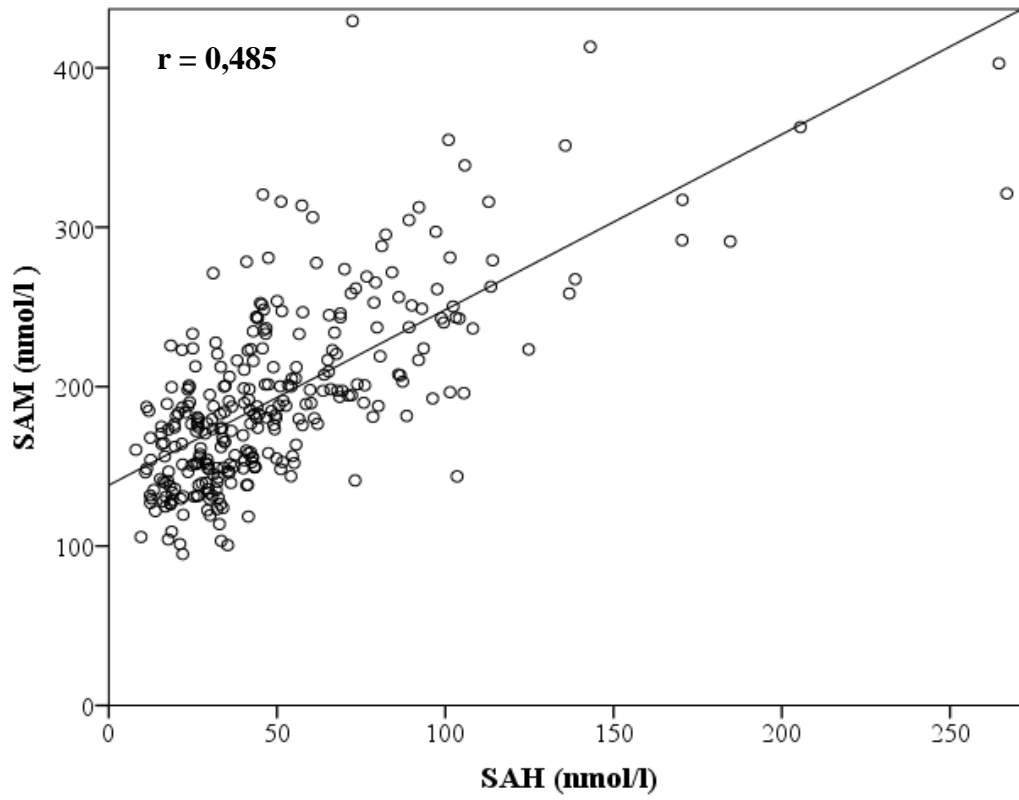
Diabetiker weisen höheres Plasma-SAM auf als Nicht-Diabetiker (Tabelle 3).



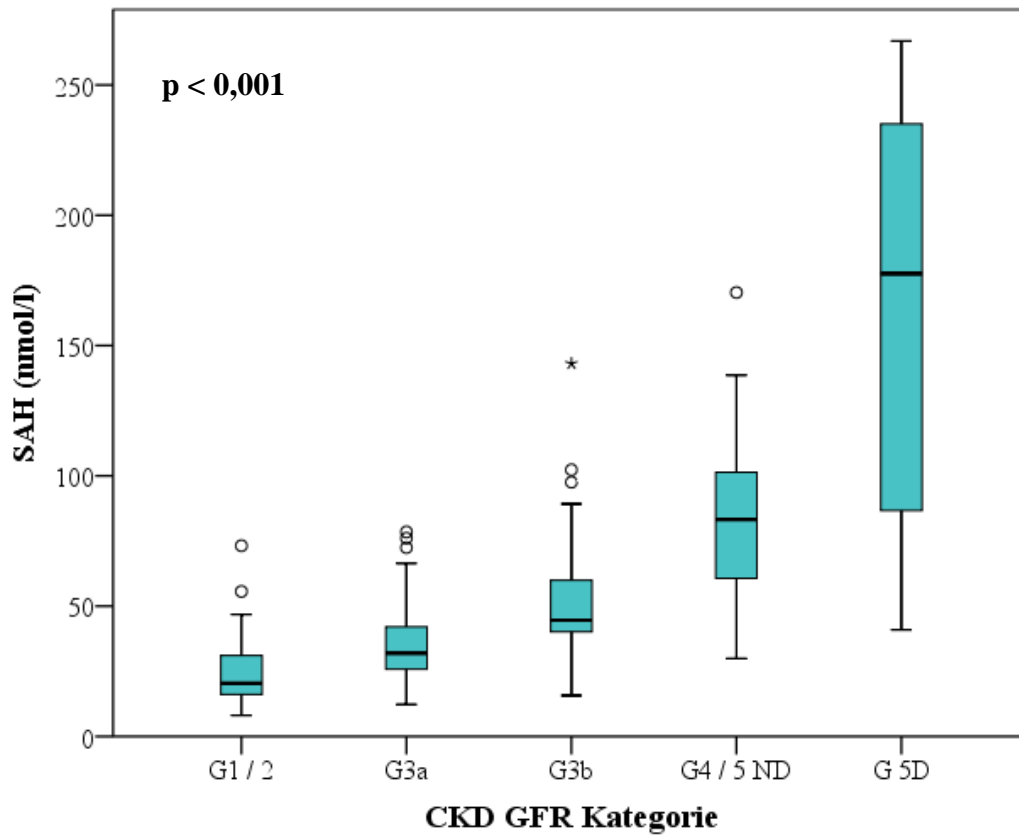
**Abbildung 3:** Korrelation zwischen Plasma-SAH und Plasma-Homocystein.



**Abbildung 4:** Korrelation zwischen Plasma-SAM und Plasma-Homocystein.

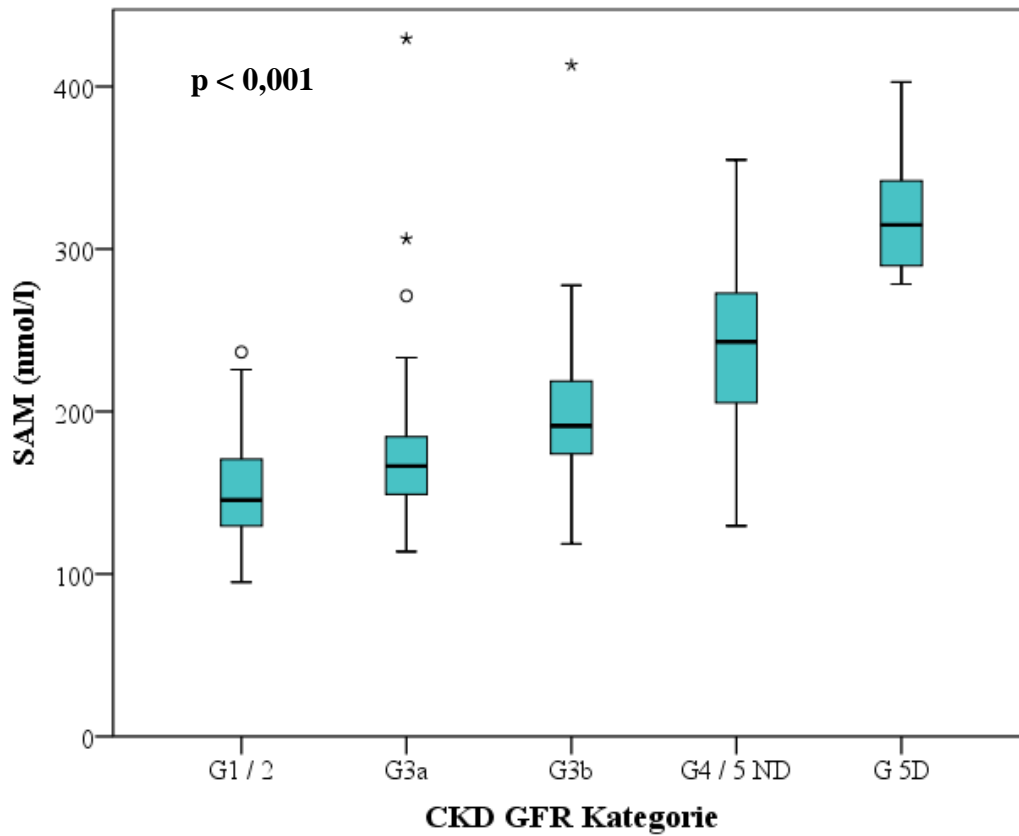


**Abbildung 5:** Korrelation zwischen Plasma-SAM und Plasma-SAH.

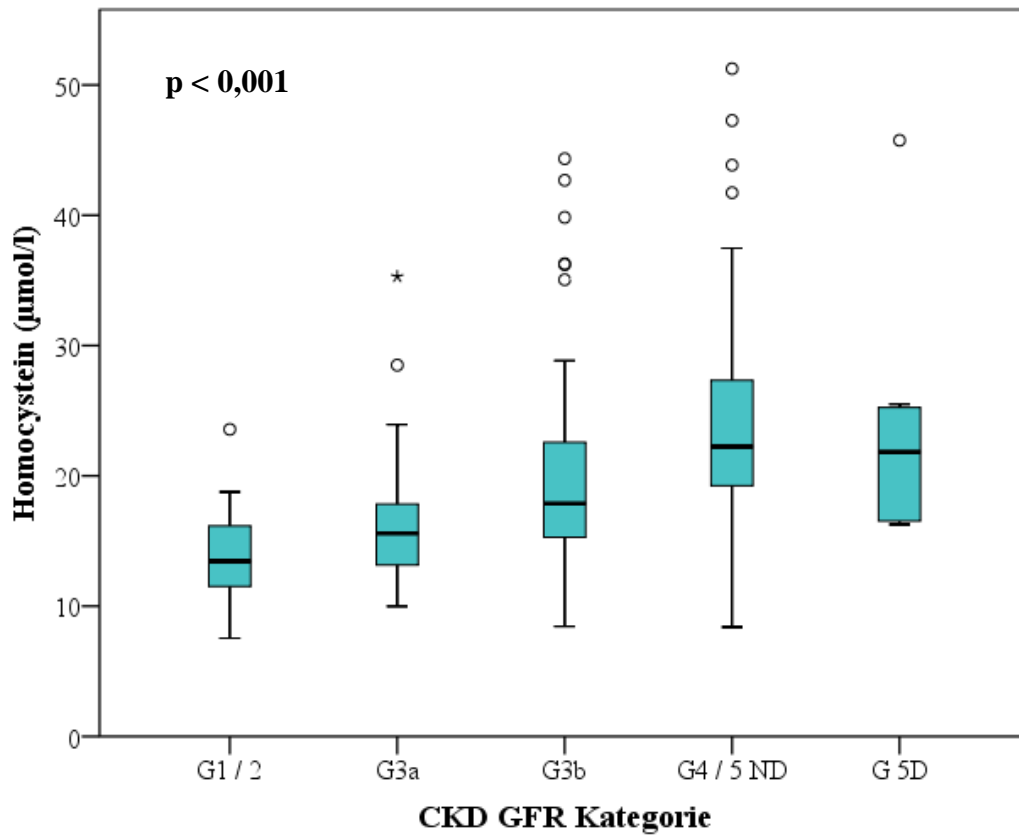


**Abbildung 6:** Plasma-SAH stratifiziert nach der GFR Kategorie. Dargestellt sind Median, 25. / 75. Perzentile, Spannweite, Ausreißer und Extremwerte. Die statistische Analyse erfolgte durch den einfaktoriellen ANOVA mit Test für linearen Trend.

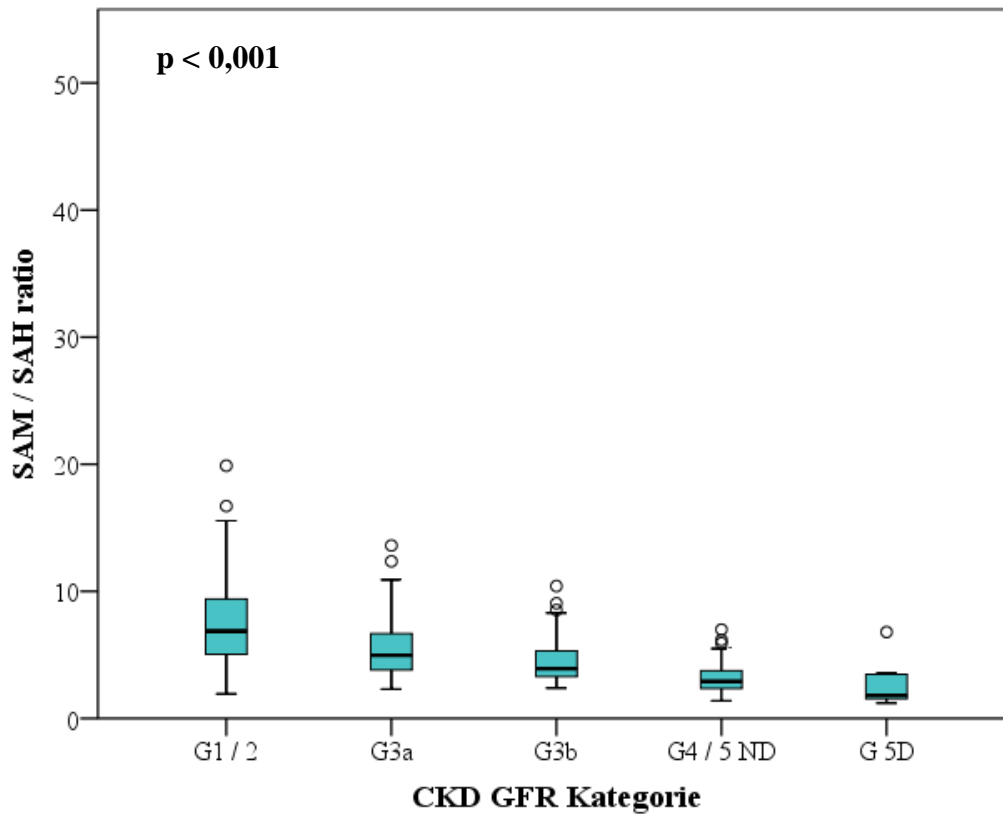




**Abbildung 7:** Plasma-SAM stratifiziert nach der GFR Kategorie. Dargestellt sind Median, 25. / 75. Perzentile, Spannweite, Ausreißer und Extremwerte. Die statistische Analyse erfolgte durch den einfaktoriellen ANOVA mit Test für linearen Trend.



**Abbildung 8:** Plasma-Homocystein stratifiziert nach der GFR Kategorie. Dargestellt sind Median, 25. / 75. Perzentile, Spannweite, Ausreißer und Extremwerte. Die statistische Analyse erfolgte durch den einfaktoriellen ANOVA mit Test für linearen Trend.



**Abbildung 9:** SAM / SAH Quotient stratifiziert nach der GFR Kategorie. Dargestellt sind Median, 25. / 75. Perzentile, Spannweite, Ausreißer und Extremwerte. Die statistische Analyse erfolgte durch den einfaktoriellen ANOVA mit Test für linearen Trend.

**Tabelle 2:** Korrelation von SAH (S-Adenosylhomocystein), SAM (S-Adenosylmethionin), Homocystein und SAM / SAH Quotienten mit traditionellen und nicht-traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren und Nierenfunktionsparametern.

	SAH [nmol/l]		SAM [nmol/l]		Homocystein [μmol/l]		SAM / SAH Quotient	
	r	p	R	p	r	p	r	p
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	0,036	0,368	0,165	< 0,001	0,020	0,610	0,048	0,220
<b>RR sys [mmHg]</b>	0,043	0,287	0,023	0,560	0,046	0,249	0,041	0,312
<b>RR dia [mmHg]</b>	0,114	0,005	0,091	0,024	0,133	0,001	0,101	0,012
<b>IMT [mm]</b>	0,083	0,043	0,116	0,005	0,119	0,004	0,029	0,483
<b>Phosphat [mg/dl]</b>	0,247	< 0,001	0,236	< 0,001	0,152	< 0,001	0,189	< 0,001
<b>Albumin [g/l]</b>	0,082	0,047	0,179	< 0,001	0,044	0,288	0,004	0,916
<b>Kalzium [mmol/l]</b>	0,023	0,595	0,035	0,424	0,027	0,540	0,005	0,905
<b>Cholesterin [mg/dl]</b>	0,120	0,003	0,126	0,002	0,111	0,005	0,074	0,063
<b>CRP [mg/l]</b>	0,077	0,052	0,200	< 0,001	0,046	0,250	0,017	0,672

	SAH [nmol/l]		SAM [nmol/l]		Homocystein [ $\mu$ mol/l]		SAM / SAH Quotient	
	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>R</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>	<b>r</b>	<b>p</b>
<b>Cystatin C [mg/l]</b>	0,585	< 0,001	0,551	< 0,001	0,416	< 0,001	0,396	< 0,001
<b>HDL-C [mg/dl]</b>	0,152	< 0,001	0,207	< 0,001	0,084	0,037	0,073	0,068
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	0,072	0,069	0,101	0,011	0,099	0,013	0,025	0,533
<b>eGFR-CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	0,588	< 0,001	0,497	< 0,001	0,424	< 0,001	0,442	< 0,001
<b>Albuminurie [g/mg Kreatinin]</b>	0,250	< 0,001	0,208	< 0,001	0,110	0,006	0,210	< 0,001

BMI: body mass index, RR sys / dia; systolischer / diastolischer Blutdruckwert; IMT: Intima-Media-Dicke; CRP: C-reaktives Protein; HDL-C: high density lipoprotein-Cholesterin; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; eGFR: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach der Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

Angegeben wurden jeweils Korrelationskoeffizient (r) und Signifikanzniveau (p).

**Tabelle 3:** SAH (S-Adenosylhomocystein), SAM (S-Adenosylmethionin), Homocystein und SAM / SAH Quotienten bei Rauchern versus Nicht-Rauchern, Frauen versus Männern und Diabetikern versus Nicht-Diabetikern.

		SAH [nmol/l]	SAM [nmol/l]	Homocystein [ $\mu$ mol/l]	SAM / SAH Quotient
<b>Nikotin</b>	Ja	46,6 $\pm$ 34,0	193,2 $\pm$ 69,6	17,2 $\pm$ 5,8	5,7 $\pm$ 2,9
	Nein	50,6 $\pm$ 36,4	193,4 $\pm$ 55,3	18,6 $\pm$ 7,3	5,0 $\pm$ 2,7
	p	0,554	0,984	0,316	0,162
<b>Geschlecht</b>	weiblich	46,3 $\pm$ 31,0	192,4 $\pm$ 54,6	17,5 $\pm$ 7,1	5,3 $\pm$ 2,5
	männlich	52,6 $\pm$ 39,0	194,0 $\pm$ 58,5	19,0 $\pm$ 7,1	5,0 $\pm$ 2,9
	p	0,140	0,812	0,081	0,222
<b>Diabetes mellitus</b>	Ja	52,4 $\pm$ 37,2	205,5 $\pm$ 56,7	18,7 $\pm$ 6,4	5,2 $\pm$ 2,8
	Nein	48,9 $\pm$ 35,5	186,7 $\pm$ 56,0	18,3 $\pm$ 7,5	5,0 $\pm$ 2,7
	p	0,429	0,006	0,651	0,596

Aufgeführt sind Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung; die statistische Analyse erfolgte nach T-Test für unverbundene Stichproben.

### **5.3 Prädiktoren prävalenter kardiovaskulärer Erkrankungen**

Die Wahrscheinlichkeit, ein kardiovaskuläres Ereignis zu erleiden, steigt mit höherem Alter, höheren systolischen sowie niedrigeren diastolischen Blutdruckwerten, höherem Pulsdruck, niedrigerem Plasma-Cholesterin, niedrigerem HDL-Cholesterin und mit niedrigerer glomerulärer Filtrationsrate signifikant an (Tabelle 4).

Patienten mit prävalentem Diabetes mellitus und familiärer Belastung mit vorzeitigen kardiovaskulären Ereignissen weisen nur tendenziell häufiger prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen auf als Patienten ohne prävalenten Diabetes mellitus und ohne vorzeitige kardiovaskuläre Ereignisse.

**Tabelle 4:** Parameter stratifiziert nach kardiovaskuläres Ereignis versus kein kardiovaskuläres Ereignis.

	<b>Kardiovaskuläres Ereignis</b>		<b>p-Wert</b>
	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>	
<b>Alter [Jahre]</b>	72,3 ± 9,3	64,5 ± 13,0	< 0,001
<b>Geschlecht [weiblich]</b>	30 [31,6 %]	87 [43,1 %]	0,074
<b>Raucher [ja]</b>	7 [7,4 %]	25 [12,4 %]	0,232
<b>Familiär vorzeitige CVD [ja]</b>	23 [24,2 %]	38 [18,8 %]	0,285
<b>Diabetes mellitus [ja]</b>	40 [42,1 %]	66 [32,7 %]	0,121
<b>BMI [kg/m<sup>2</sup>]</b>	30,3 ± 5,0	30,7 ± 5,8	0,546

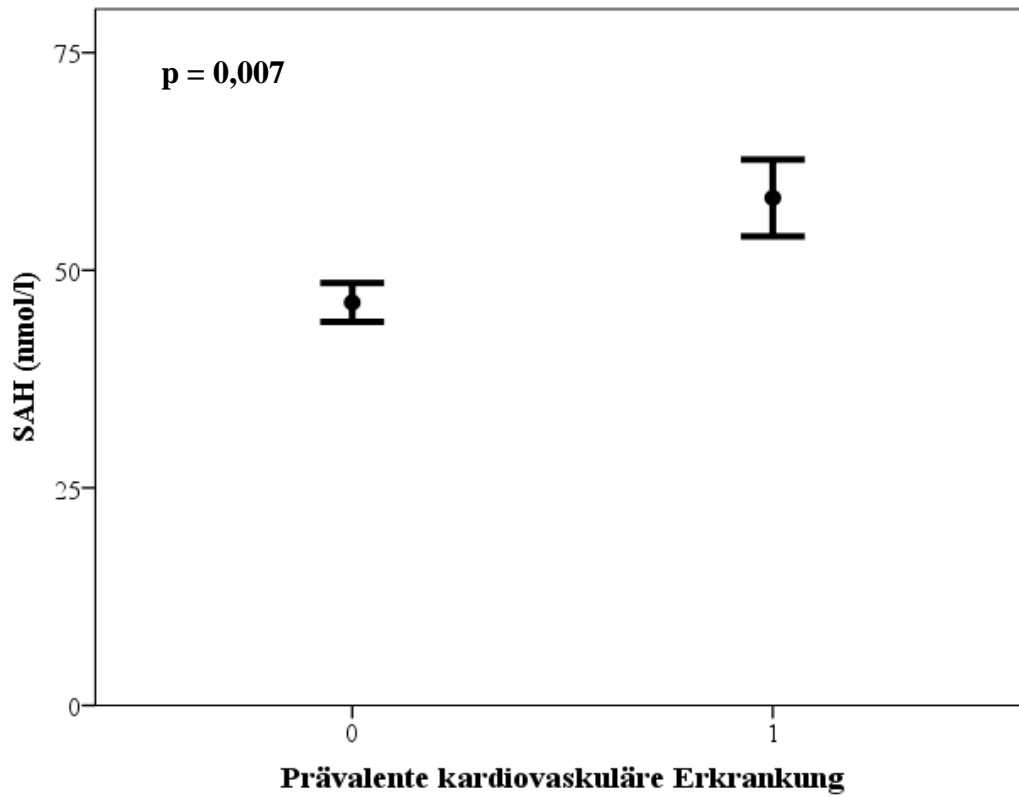
	<b>Kardiovaskuläres Ereignis</b>		<b>p-Wert</b>
	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>	
<b>Hüftumfang [cm]</b>	105,1 ± 10,8	107,8 ± 14,4	0,123
<b>Tailenumfang [cm]</b>	102,5 ± 14,8	101,5 ± 14,7	0,605
<b>RR sys [mmHg]</b>	149 ± 22	144 ± 20	0,046
<b>RR dia [mmHg]</b>	81 ± 12	85 ± 11	0,003
<b>Pulsdruck [mmHg]</b>	69 ± 18	59 ± 17	< 0,001
<b>IMT [mm]</b>	0,86 ± 0,12	0,83 ± 0,12	0,076
<b>Albumin [g/l]</b>	44 ± 3	44 ± 3	0,617
<b>Phosphat [mg/dl]</b>	3,4 ± 0,7	3,3 ± 0,7	0,452
<b>Cholesterin [mg/dl]</b>	170,2 ± 42,2	184,0 ± 40,7	0,009
<b>CRP [mg/l]</b>	3,15 [1,20; 6,33]	2,30 [1,20; 4,80]	0,735
<b>HDL-C [mg/dl]</b>	48,4 ± 12,9	55,4 ± 17,4	< 0,001
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	97,6 ± 36,9	105,0 ± 34,7	0,100



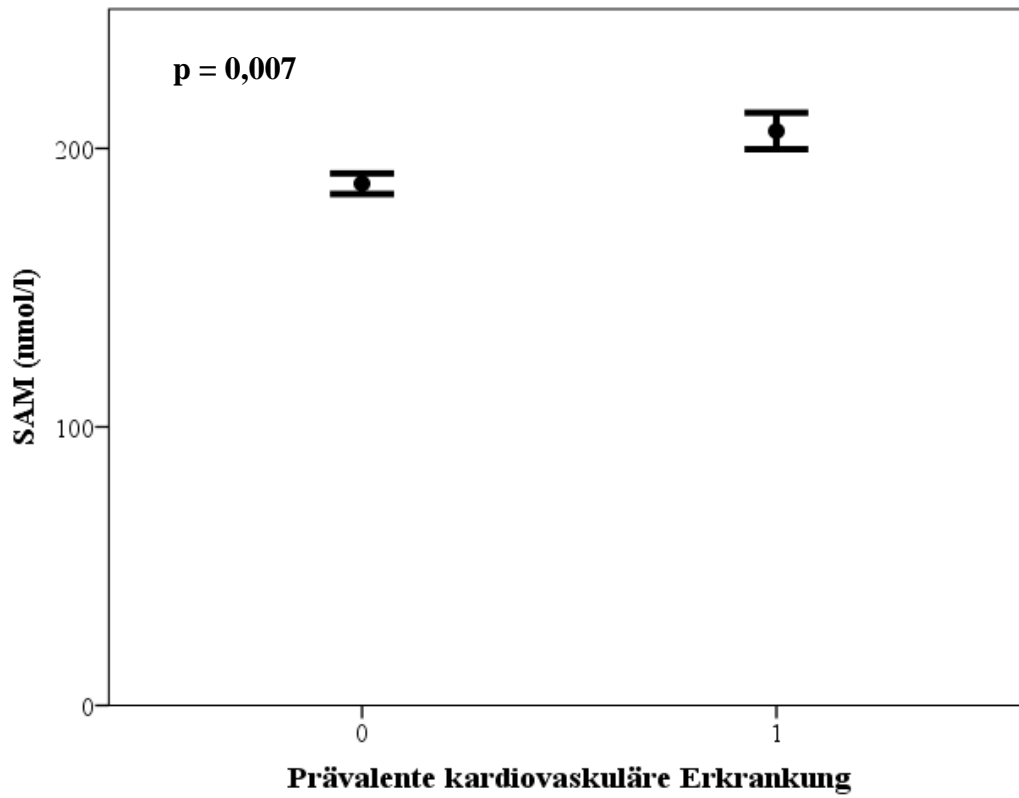
	<b>Kardiovaskuläres Ereignis</b>		<b>p-Wert</b>
	<b>Ja</b>	<b>Nein</b>	
<b>Kreatinin [mg/dl]</b>	1,72 ± 0,75	1,60 ± 0,70	0,183
<b>Triglyzeride [mg/dl]</b>	159,6 ± 80,1	156,8 ± 86,2	0,791
<b>Vitamin D [ng/ml]</b>	34,6 ± 12,5	32,7 ± 11,7	0,223
<b>eGFR CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	40 ± 19	47 ± 19	0,003
<b>Albuminurie [g/mg Kreatinin]</b>	0,052 [0,012; 0,156]	0,030 [0,080; 0,228]	0,773

CVD: kardiovaskuläre Erkrankung („cardiovascular disease“); BMI: body mass index; RR sys / dia: systolischer / diastolischer Blutdruckwert; IMT: Intima-Media-Dicke; CRP: C-reaktives Protein; HDL-C: high density lipoprotein-Cholesterin; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; Vitamin D: 25-OH-Hydroxy-Vitamin D; eGFR: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach der auf Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

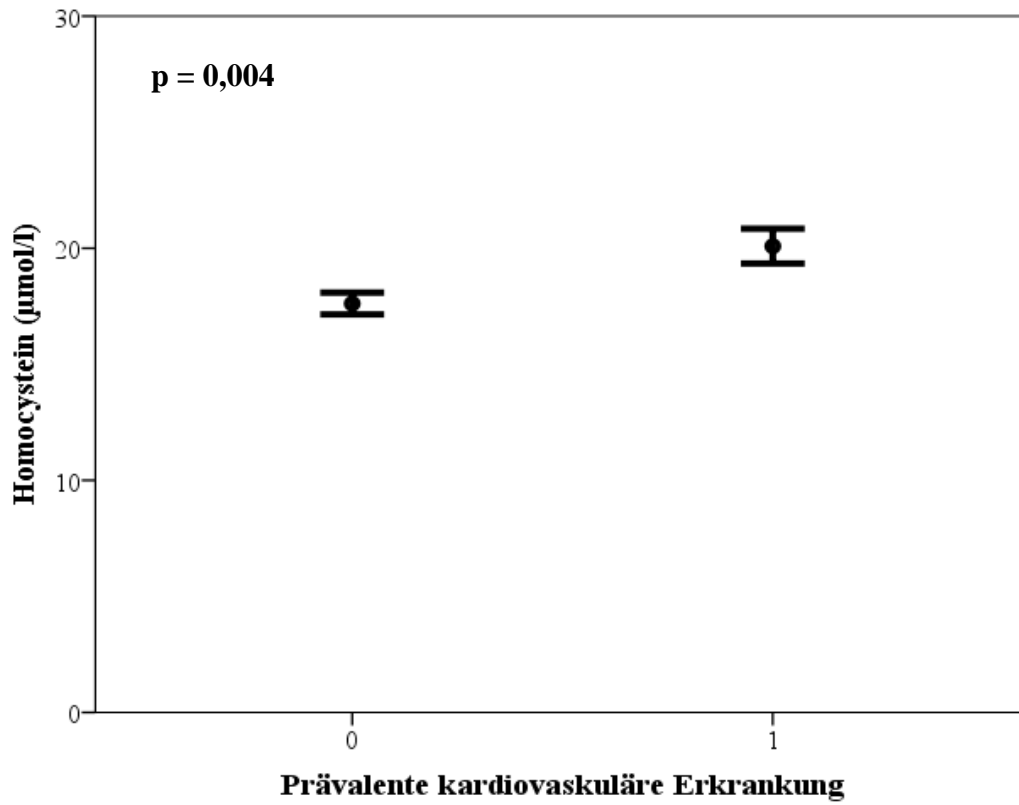
Aufgeführt sind Mittelwert ± Standardabweichung (bei nicht-parametrischer Verteilung Median [25. / 75. Perzentile]), oder Anzahl (Prozentanteil); die statistische Analyse erfolgte nach T-Test für zwei unabhängige Stichproben oder nach Fisher Test.



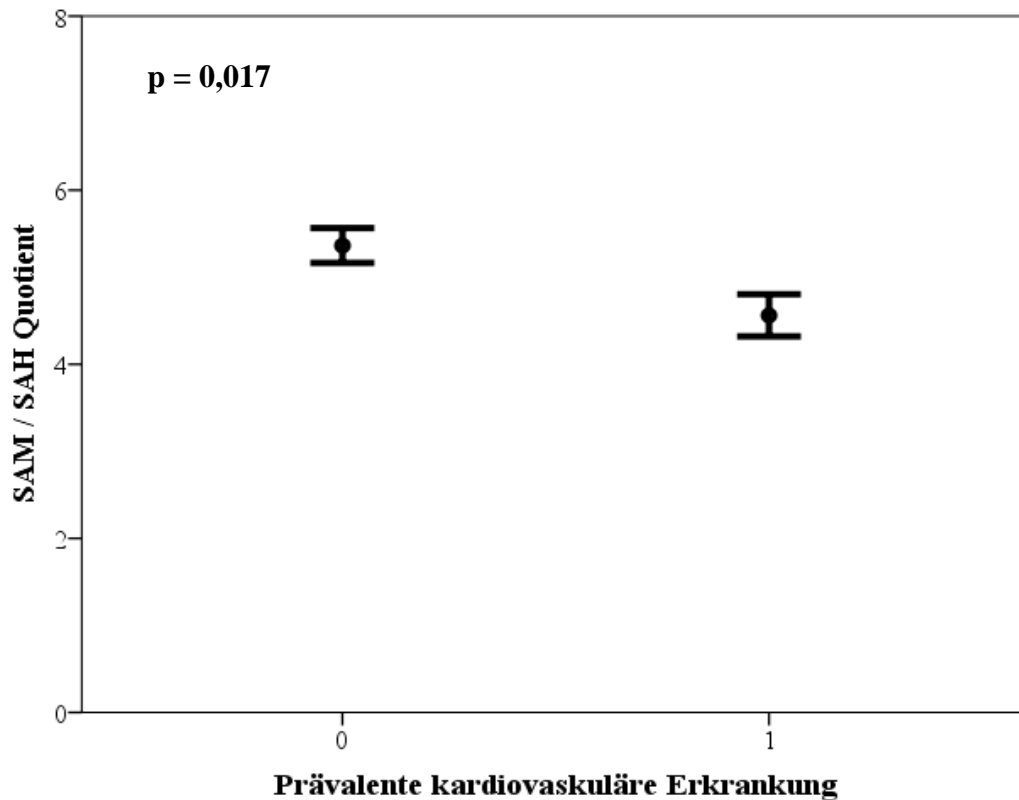
**Abbildung 10:** Plasma-SAH bei Patienten ohne und mit prävalenter kardiovaskulärer Erkrankung (T-Test für zwei unabhängige Stichproben).



**Abbildung 11:** Plasma-SAM bei Patienten ohne und mit prävalenter kardiovaskulärer Erkrankung (T-Test für zwei unabhängige Stichproben).



**Abbildung 12:** Plasma-Homocystein bei Patienten ohne und mit prävalenter kardiovaskulärer Erkrankung (T-Test für zwei unabhängige Stichproben).



**Abbildung 13:** SAM / SAH Quotient bei Patienten ohne und mit prävalenter kardiovaskulärer Erkrankung (T-Test für zwei unabhängige Stichproben).

Das Plasma-SAH, das Plasma-SAM und das Plasma-Homocystein sind bei Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen erhöht, der SAM / SAH Quotient erniedrigt (Abbildung 10 - 13).

In logistischen Regressionsanalysen, welche traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren und Nierenfunktion als unabhängige Variablen einschließen, bleiben jedoch weder Plasma-SAH, Plasma-SAM, Plasma-Homocystein, noch der SAM / SAH Quotient unabhängige Prädiktoren prävalenter kardiovaskulärer Erkrankungen. Vielmehr erweist sich alleine das Alter und – in einzelnen Modellen – Geschlecht und prävalenter Diabetes mellitus als unabhängiger Prädiktor (Tabelle 5 - 8).

**Table 5:** Logistisches Regressionsmodell. Unabhängige Variablen: Plasma-SAH, traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren und geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Abhängige Variable: prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen.

	<b>p-Wert</b>	<b>Exponent B</b>	<b>Konfidenzintervall</b>
<b>SAH [nmol/l]</b>	0,658	1,003	[0,989; 1,017]
<b>Alter [Jahre]</b>	< 0,001	1,060	[1,029; 1,092]
<b>Nikotin [ja]</b>	0,862	0,919	[0,353; 2,393]
<b>RR sys [mmHg]</b>	0,189	1,009	[0,996; 1,022]
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	0,238	0,995	[0,987; 1,003]
<b>Geschlecht [weiblich]</b>	0,050	0,565	[0,320; 0,999]
<b>Diabetes mellitus [ja]</b>	0,905	1,036	[0,582; 1,844]
<b>eGFR-CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	0,938	1,001	[0,977; 1,026]

RR sys: systolischer Blutdruckwert; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; eGFR-CKD-EPI: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach der auf Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

**Table 6:** Logistisches Regressionsmodell. Unabhängige Variablen: Plasma-SAM, traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren und geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Abhängige Variable: prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen.

	<b>p-Wert</b>	<b>Exponent B</b>	<b>Konfidenzintervall</b>
<b>SAM [nmol/l]</b>	0,234	1,004	[0,983; 1,011]
<b>Alter [Jahre]</b>	< 0,001	1,063	[1,031; 1,096]
<b>Nikotin [ja]</b>	0,789	0,876	[0,332; 2,309]
<b>RR sys [mmHg]</b>	0,177	1,009	[0,996; 1,022]
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	0,292	0,996	[0,988; 1,004]
<b>Geschlecht [weiblich]</b>	0,647	1,005	[0,983; 1,027]
<b>Diabetes mellitus [ja]</b>	0,041	0,554	[0,314; 0,976]
<b>eGFR-CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	0,943	0,979	[0,545; 1,757]

RR sys: systolischer Blutdruckwert; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; eGFR-CKD-EPI: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach der auf Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

**Tabelle 7:** Logistisches Regressionsmodell. Unabhängige Variablen: Plasma-Homocystein, traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren und geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Abhängige Variable: prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen.

	<b>p-Wert</b>	<b>Exponent B</b>	<b>Konfidenzintervall</b>
<b>Homocystein [<math>\mu\text{mol/l}</math>]</b>	0,282	1,023	[0,981; 1,067]
<b>Alter [Jahre]</b>	< 0,001	1,055	[1,025; 1,086]
<b>Nikotin [ja]</b>	0,836	0,905	[0,350; 2,336]
<b>RR sys [mmHg]</b>	0,152	1,009	[0,997; 1,022]
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	0,103	0,993	[0,986; 1,001]
<b>Geschlecht [weiblich]</b>	0,860	1,002	[0,983; 1,021]
<b>Diabetes mellitus [ja]</b>	0,042	0,563	[0,324; 0,980]
<b>eGFR-CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	0,776	0,922	[0,526; 1,614]

RR sys: systolischer Blutdruckwert; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; eGFR-CKD-EPI: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach der auf Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

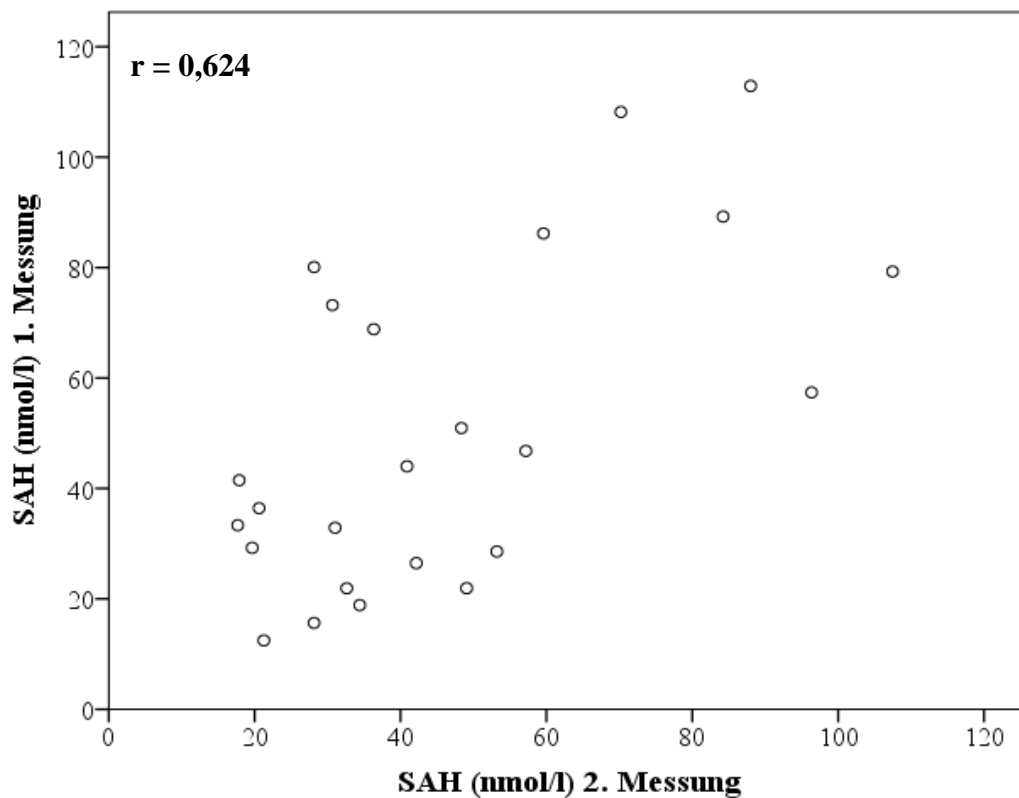


**Table 8:** Logistisches Regressionsmodell. Unabhängige Variablen: SAM / SAH Quotient, traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren und geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate (eGFR). Abhängige Variable: prävalente kardiovaskuläre Erkrankungen.

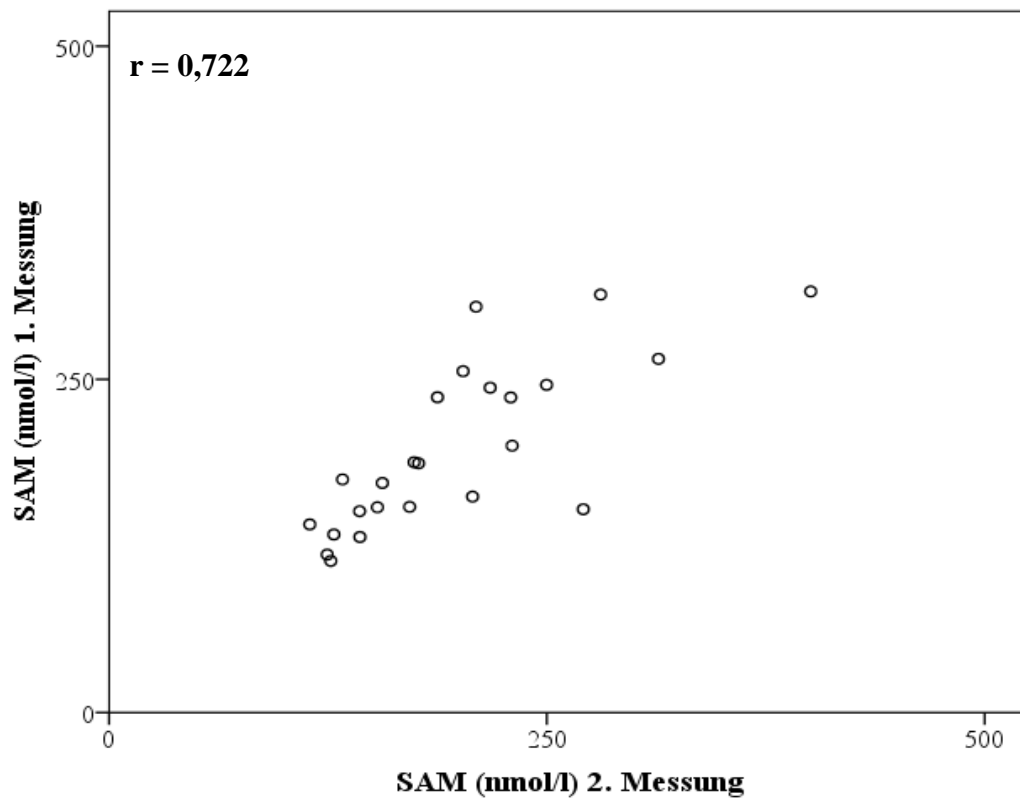
	<b>p-Wert</b>	<b>Exponent B</b>	<b>Konfidenzintervall</b>
<b>SAM / SAH Quotient</b>	0,449	0,953	[0,843; 1,079]
<b>Alter [Jahre]</b>	< 0,001	1,059	[1,028; 1,091]
<b>Nikotin [ja]</b>	0,911	0,947	[0,365; 2,454]
<b>RR sys [mmHg]</b>	0,190	1,009	[0,996; 1,022]
<b>LDL-C [mg/dl]</b>	0,233	0,995	[0,987; 1,003]
<b>Geschlecht [weiblich]</b>	0,052	0,569	[0,322; 1,004]
<b>Diabetes mellitus [ja]</b>	0,843	1,059	[0,598; 1,877]
<b>eGFR-CKD-EPI [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	0,921	1,001	[0,981; 1,021]

RR sys: systolischer Blutdruckwert; LDL-C: low density lipoprotein-Cholesterin; eGFR-CKD-EPI: geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate nach der auf Kreatinin-basierten CKD-EPI Gleichung.

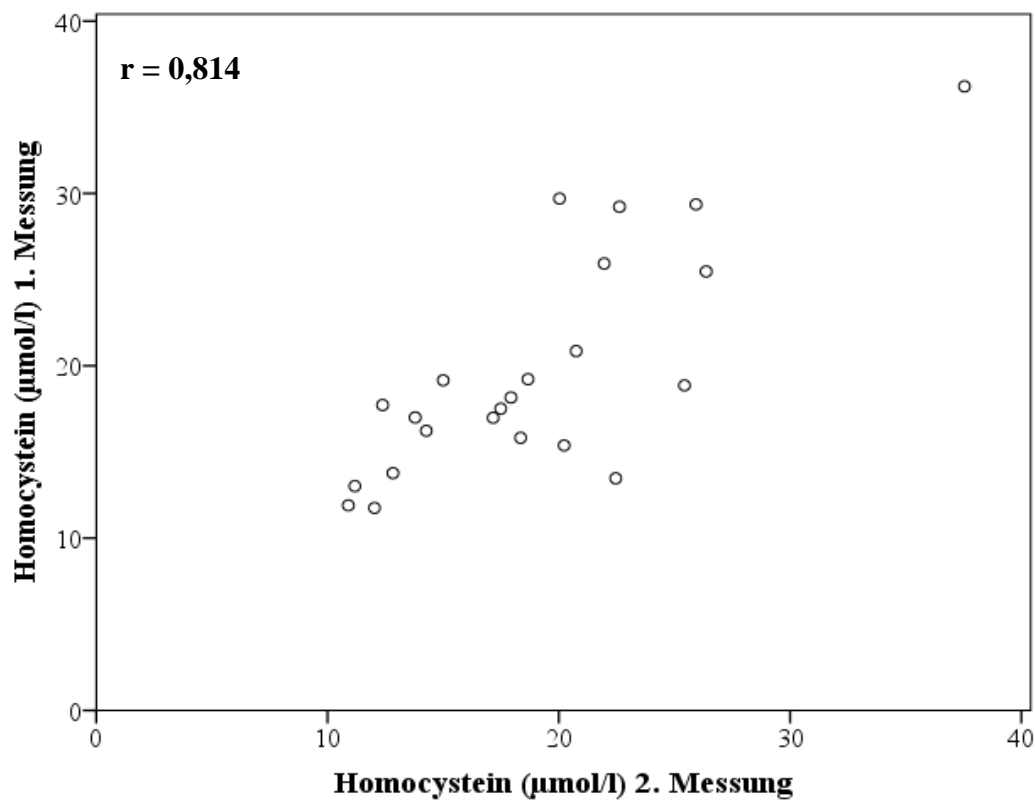
Bei 24 Patienten erfolgte eine zweimalige Bestimmung von Plasma-SAH, Plasma-SAM, sowie Plasma-Homocystein, da bei diesen Patienten zwei Nachuntersuchungen während des Untersuchungszeitraumes erfolgten (eine erste Nachuntersuchung zu Beginn des Untersuchungszeitraumes, und eine zweite Nachuntersuchung zwölf Monate später am Ende des Untersuchungszeitraumes). Dies erlaubt uns, eine Aussage über die intraindividuelle Variabilität der einzelnen Metabolite zu treffen. Es zeigt sich, dass alle drei Metabolite im Jahresverlauf weitgehend stabil bleiben (Abbildung 14 – 16).



**Abbildung 14:** Intraindividuelle Variabilität des Plasma-SAHs; 1. und 2. Messung erfolgten jeweils im Ein-Jahres-Abstand.



**Abbildung 15:** Intraindividuelle Variabilität des Plasma-SAMs; 1. und 2. Messung erfolgen jeweils im Ein-Jahres-Abstand.



**Abbildung 16:** Intraindividuelle Variabilität des Plasma-Homocysteins; 1. und 2. Messung erfolgte jeweils im Ein-Jahres-Abstand.

## 6. Diskussion

### **6.1 Die chronische Nierenerkrankung als kardiovaskulärer Risikofaktor**

Die World Health Organization (WHO) berichtete 2005, dass ~ 35 der weltweit jährlich ~ 58 Millionen Sterbefälle auf chronische Erkrankungen zurückgeführt werden können (146). Innerhalb der chronischen Erkrankungen dominieren kardiovaskuläre Erkrankungen weit vor Malignomen (149).

Aufgrund dieser zentralen Bedeutung kardiovaskulärer Erkrankungen für die Weltgesundheit erscheint eine bessere Charakterisierung ihrer zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen essentiell, um effektivere präventive und therapeutische Behandlungskonzepte zu entwickeln. Große Kohortenstudien, wie die Framingham Studie, definierten in den letzten Jahrzehnten zentrale Risikofaktoren für arteriosklerotische Gefäßerkrankungen, welche die quantitativ wichtigsten kardiovaskulären Erkrankungen darstellen und sich klinisch etwa als akuter Myokardinfarkt und als ischämischer Apoplex manifestieren können (66).

Diejenigen zentralen Risikofaktoren, deren Behandlung heute Therapiestandard geworden ist – insbesondere arterielle Hypertonie, Nikotinkonsum, Hypercholesterinämie und Diabetes mellitus – werden als „traditionelle“ Risikofaktoren definiert. Jedoch bleibt trotz der mittlerweile weltweiten Propagierung einer intensivierten Therapie von Hypertonie, Hypercholesterinämie und Hyperglykämie (147) und trotz des wachsenden Bewusstseins der schädlichen Bedeutung des Nikotinkonsums und der rückläufigen Anzahl aktiver Raucher (23) zumindest in führenden Industrienationen die zentrale Bedeutung der kardiovaskulären Erkrankungen für die Weltgesundheit evident.

Daher wächst in den letzten Jahren die Aufmerksamkeit gegenüber „nicht-traditionellen“ Risikofaktoren als neue Therapieziele in der Prävention und Behandlung kardiovaskulärer Erkrankungen stetig. Im Jahr 2003 definierte die American Heart Association erstmals die chronische Nierenerkrankung als einen solchen „nicht-traditionellen“ kardiovaskulären Risikofaktor (109).

Diese Definition fußt einerseits auf medizinhistorischen Erkenntnissen, andererseits auf relativ rezenten epidemiologischen Arbeiten. So beobachtete Bright et al zu Beginn des 19. Jahrhunderts erstmals den Zusammenhang zwischen erhöhtem Auftreten von kardiovaskulären Erkrankungen und der chronischen Nierenerkrankung (14). Auch Rudolf Virchow charakterisierte nur wenige

Jahre später eine enge Verbindung zwischen „parenchymatöser Nephritis“ und „Zirkulationsstörungen“ (77).

Mit Beginn der flächendeckenden Nierenersatztherapie in Industrienationen als Folge der Etablierung eines flächendeckenden Netzes von Dialyseeinrichtungen, welche Menschen mit Urämie ein Überleben dank Nierenersatzverfahren ermöglichten, und folglich die ausgeprägte extrarenale Komorbidität der betroffenen Menschen offenbarte, gewann die hohe kardiovaskuläre Komorbidität chronisch nierenkranker Menschen plötzlich an medizinischer und gesundheitsökonomischer Bedeutung.

Epidemiologisch zeigten erstmals Lindner et al 1974 – somit in frühen Jahren der chronischen Dialysetherapie – an einer kleinen Fallserie von 39 Hämodialysepatienten gegenüber der Allgemeinbevölkerung eine massiv erhöhte Mortalität und Morbidität (78).

Ausgehend von dieser initialen Fallserie haben in den folgenden Jahrzehnten viele große epidemiologische Studien die Assoziation zwischen chronischer Nierenerkrankung und kardiovaskulären Ereignissen bestätigt.

Zunächst analysierten Foley et al 1998 433 Patienten des United States Renal Data Systems und erkannten, dass US-amerikanische Patienten mit dialysepflichtiger chronischer Nierenerkrankung gegenüber der Allgemeinbevölkerung eine mehr als zehnfach erhöhte kardiovaskuläre Mortalität aufwiesen (31). Gleiche Erkenntnisse zeigten Ergebnisse der European Renal Association–European Dialysis and Transplant Association [ERA-EDTA] Registry mit 123 407 inzidenten Dialysepatienten, die eine weit als zehnfach erhöhte kardiovaskuläre Mortalität unter dialysepflichtigen Patienten gegenüber der Allgemeinbevölkerung nachwiesen (24).

Parallel konnte in den letzten Jahren in zahlreichen epidemiologischen Studien gezeigt werden, dass bereits bei nicht dialysepflichtigen CKD Patienten eine deutlich erhöhte kardiovaskuläre Komorbidität besteht (21). So zeigte sich etwa in großen, populationsbasierten Studien in Taiwan (462 293 Teilnehmer) und in der San Francisco Bay Area / Kalifornien / USA (1 120 295 Teilnehmer), eine sinkende glomeruläre Filtrationsrate als Prädiktor vorzeitiger kardiovaskulärer Ereignisse und / oder kardiovaskulärer Todesfälle (38,141).

In zwei Meta-Analysen epidemiologischer Arbeiten konnte das Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium in den letzten Jahren die Assoziation zwischen Nierenfunktionseinschränkung und einem erhöhten Mortalitätsrisiko bei 105 872 Teilnehmern der Allgemeinbevölkerung, sowie die Assoziation zwischen Nierenfunktionseinschränkung und einer erhöhten Mortalität bei 266 975 Teilnehmern einer Hochrisikogruppe für die Entwicklung einer chronischen Nierenerkrankung nachweisen (93,135).

In Einklang hiermit war in der vorgelegten Analyse der CARE FOR HOME Studie ein Zusammenhang zwischen niedrigerer glomerulärer Filtrationsrate und erhöhter Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen zu erkennen.

Von Bedeutung ist, dass die traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren wie arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie sowie Nikotinabusus den Zusammenhang zwischen chronischer Nierenerkrankung und kardiovaskulären Erkrankungen nicht ausreichend erklären können (18,84,108). Auch in der CARE FOR HOME Studie waren systolischer Blutdruck, Diabetes mellitus und Nikotinabusus nicht unabhängig mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert.

Dies unterstreicht die potentielle Bedeutung „nicht-traditioneller“ kardiovaskulärer Risikofaktoren insbesondere bei chronischer Nierenerkrankung. So wurden im Scientific Statement der American Heart Association, welche einleitend die chronische Nierenerkrankung selbst als „nicht-traditionellen“ kardiovaskulären Risikofaktor definiert, nachfolgend mehrere mögliche eigenständige „nicht-traditionelle“ Risikofaktoren aufgelistet, welche dem hohen kardiovaskulären Risikoprofil chronisch nierenkranker Menschen zugrunde liegen. Diese umfassen neben Albuminurie, Mikroinflammation und Anämie auch die Hyperhomocysteinämie, auf welche die vorgelegte Dissertationsschrift im Folgenden fokussiert (110).

## **6.2 Hyperhomocysteinämie und Atherogenese**

Den Zusammenhang zwischen erhöhten Plasmahomocysteinwerten und Atherosklerosebildung (Atherogenese) beschrieb erstmals 1969 McCully bei Menschen, die an einer Homocysteinurie litten. Die betroffenen Kinder wiesen hochgradige Gefäßerkrankungen auf und verstarben oftmals an kardiovaskulären Ereignissen (94). Die klassische Homocysteinurie beruht auf einer homozygoten Mutation der Cystathion- $\beta$ -Synthase, welche Homocystein transsulfuriert. Die betroffenen Patienten weisen Homocysteinwerte im Bereich von 100 – 500  $\mu\text{mol/l}$  auf. Weitere Ursachen der Homocysteinurie stellen Enzymdefekte der Methyl-Tetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR) oder der N5-Methyl-Tetrahydrofolat-Homocystein-S-Methyltransferase (MTR) im Remethylierungsreaktionsweg dar. Substituiert man betroffene Patienten mit Folsäure, Vitamin B6, Vitamin B12 und Betain, kann nicht nur der Homocysteinspiegel gesenkt werden, sondern auch das Risiko für kardiovaskuläre und thrombotische Ereignisse (73,98,143).

Wenige Jahre später assoziierten Wilcken und Wilcken in einer Fall-Kontroll-Studie erstmals auch

in der Allgemeinbevölkerung erhöhte Homocysteinwerte mit koronaren Herzerkrankungen (142). Bereits vor zwei Jahrzehnten konnten die Befunde einzelner epidemiologischer Studien in einer Meta-Analyse zusammengefasst werden, welche die Assoziation zwischen erhöhten Homocysteinspiegeln im Plasma und kardiovaskulären Ereignissen bestätigte (101).

Für die Allgemeinbevölkerung gilt seither eine milde bis moderate Hyperhomocysteinämie (12 – 99  $\mu\text{mol/l}$ ) als Risikofaktor für das Auftreten eines kardiovaskulären Ereignisses. Aufgrund dieser Assoziationen erhoffte man, mittels Substitution von Folsäure, Vitamin B6 und / oder Vitamin B12 auch bei Patienten mit milder bis moderater Hyperhomocysteinämie eine Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse zu erreichen. Zwar konnten die Homocysteinspiegel bei den betroffenen Patienten durch Vitaminsubstitutionen abgesenkt werden; anders als bei Menschen, die an einer Homocysteinurie leiden, resultierte daraus allerdings leider kein kardiovaskulärer Benefit, was in zahlreichen großen Interventionsstudien gezeigt werden konnte (Tabelle 9).

Patienten mit chronischer Nierenerkrankung weisen eine hohe Prävalenz für eine milde bis moderate Hyperhomocysteinämie auf (17). Die Daten unserer CARE FOR HOME Studie bestätigen dies. Der durchschnittliche Plasmahomocysteinspiegel unserer Patientenkohorte lag bei 18,44  $\mu\text{mol/l} \pm 7,15 \mu\text{mol/l}$  und somit im Stadium der milden Hyperhomocysteinämie. Da diese Patienten gleichzeitig eine Hochrisikogruppe für ein erhöhtes Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen repräsentieren, wurde auch in dieser Bevölkerungsgruppe eine Hyperhomocysteinämie in epidemiologischen Studien als unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen untersucht. Bostom et al definierten 1997 die Hyperhomocysteinämie bei Dialysepatienten als unabhängigen Prädiktor für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen (11); zu ähnlichen Erkenntnissen kam auch Jungers et al im selben Jahr an noch nicht-dialysepflichtigen chronisch nierenkranken Patienten (63). Auch eine prospektive Studie aus dem Jahr 1998 konnte an 167 dialysepflichtigen Patienten einen Zusammenhang zwischen Hyperhomocysteinämie und kardiovaskulären Ereignissen zeigen (97).

So erschien es nicht abwegig, dass selbst bei fehlendem Benefit einer Homocysteinsenkung in der nierengesunden Allgemeinbevölkerung nierenkranke Menschen von einer Substitution mittels Vitamin B6, B12 und / oder Folsäure profitieren könnten. Daher wurden in den letzten zwei Jahrzehnten zahlreiche Interventionsstudien initiiert, die allerdings ebenso wie in der nierengesunden Allgemeinbevölkerung keine Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse durch Vitaminsubstitutionen erbrachten (Tabelle 10).

**Tabelle 9:** Übersicht randomisierter Interventionsstudien zur Senkung des Plasma-Homocysteins mittels Vitaminsubstitutionen (Studien mit alleinigem Einschluss von CKD Patienten sind gesondert in Tabelle 10 aufgeführt).

Studie	Teilnehmer	Einschlusskriterium	Homocystein bei Einschluss	Intervention	primärer Endpunkt	Ergebnisse
VISP (129)	n = 3680	stattgehabter ischämischer Schlaganfall	A: 13,4 µmol/l B: 13,4 µmol/l	A: 2,5 mg FS + 0,4 mg B12 + 25 mg B6 B: 20 µg FS + 6 µg B12+ 200 µg B6	akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, Tod	kein klinischer Benefit
HOPE 2 (85,86)	n = 5522	hohes prävalentes kardiovaskuläres Risiko	A: 12,2 µmol/l P: 12,2 µmol/l	A: 2,5 mg FS+ 1 mg B12+ 50 mg B6 P: Placebo	akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, Tod	kein klinischer Benefit
NORVIT (9)	n = 3749	stattgehabter akuter Myokardinfarkt sieben Tage und kürzer vor Einschluss	A: 13,1 µmol/l B: 12,9 µmol/l C: 13,3 µmol/l P: 13,2 µmol/l	A: 0,8 mg FS + 0,4 mg B12, + 40 mg B6 B: 0,8 mg FS + 0,4 mg B12 C: 40 mg B6 P: Placebo	erneuter akuter Myokardinfarkt, Schlagfall, plötzlicher Herztod basierend auf einer koronaren Herzerkrankung	kein klinischer Benefit



Studie	Teilnehmer	Einschlusskriterium	Homocystein bei Einschluss	Intervention	primärer Endpunkt	Ergebnisse
WENBIT (81)	n = 3019	prävalente koronare Herzerkrankung	A: 10,8 µmol/l B: 10,8 µmol/l C: 11,3 µmol/l P: 11,5 µmol/l	A: 0,8 mg FS + 0,4 mg B12 + 40 mg B6 B: 0,8 mg FS + 0,4 mg B12 C: 40 mg B6 P: Placebo	akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, Krankenhauseinweisung aufgrund einer instabilen Angina pectoris, Tod	kein klinischer Benefit
WAFACS (121)	n = 5442	stattgehabter akuter Myokardinfarkt	A: 12,1 µmol/l P: 12,5 µmol/l	A: 2,5 mg FS + 1 mg B12 + 50 mg B6 P: Placebo	akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, koronare Revaskularisation, Tod	kein klinischer Benefit
SEARCH (3)	n = 6033	stattgehabter akuter Myokardinfarkt	A: 13,5 µmol/l P: 13,5 µmol/l	A: 2 mg FS + 1 mg B12 P: Placebo	akuter Myokardinfarkt, koronare sowie periphere Revaskularisation, koronarer Tod, Schlaganfall,	kein klinischer Benefit
VITATOPS (44)	n = 8164	stattgehabter Schlaganfall oder transiente ischämische Attacke	A: 14,3 µmol/l P: 12,7 µmol/l	A: 2 mg FS+ 0,5 mg B12 + 25 mg B6 P: Placebo	akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, kardiovaskulärer Tod	kein klinischer Benefit

n = Anzahl der teilnehmenden Patienten; A = Patientengruppe A; B = Patientengruppe B; C = Patientengruppe C; P = Placebo; FS = Folsäure; B12 = Vitamin B12; B6 = Vitamin B6.

**Tabelle 10:** Übersicht randomisierter Interventionsstudien zur Senkung des Plasma-Homocysteins mittels Vitaminsubstitutionen (Studien mit CKD Patienten)

	<b>Teilnehmer</b>	<b>Einschlusskriterium</b>	<b>Homocystein bei Einschluss</b>	<b>Intervention</b>	<b>primärer Endpunkt</b>	<b>Ergebnisse</b>
ASFAST (154)	n = 315	Patienten $\geq$ 18 Jahre, Serumkreatinin $\geq$ 4,52 mg/dl, Kreatinin Clearance $\leq$ 25 ml/min	A: 27,0 $\mu$ mol/l P: 27,0 $\mu$ mol/l	A: 15 mg FS P: Placebo	IMT-Zunahme, akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, kardiovaskulärer Tod	kein klinischer Benefit
US FOLIC ACID TRIAL, (60)	n = 2056	Patienten $\geq$ 21 Jahre, Plasma Homocystein $\geq$ 15 $\mu$ mol/l, Kreatinin Clearance $\leq$ 30 ml/min	A: 24,0 $\mu$ mol/l P: 24,2 $\mu$ mol/l	A: 40 mg FS + 2 mg B12 + 100 mg B6 P: Placebo	Mortalität jedweder Ursache	kein klinischer Benefit
HOPE-2 (90)	n = 619	Patienten $\geq$ 55 Jahre, eGFR $\leq$ 60 ml/min/1,73 m <sup>2</sup> mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko	A: 15,9 $\mu$ mol/l P: 15,7 $\mu$ mol/l	A: 2,5 mg FS + 1 mg B12 + 50 mg B6 P: Placebo	akuter Myokardinfarkt, Schlaganfall, kardiovaskulärer Tod	kein klinischer Benefit
Heinz et al (48)	n = 650	seit mindestens einem Monat dialysepflichtige Patienten	A: 30,0 $\mu$ mol/l B: 28,2 $\mu$ mol/l	A: 5 mg FS + 6 $\mu$ g B12 + 50 $\mu$ g B12 B: 0,2 mg FS + 4 $\mu$ g B12 + 1 mg B6	jedwedes kardiovaskuläres Ereignis, Mortalität jedweder Ursache	kein klinischer Benefit

n = Anzahl der teilnehmenden Patienten; A = Patientengruppe A; B = Patientengruppe B; P = Placebo; FS = Folsäure; B12 = Vitamin B12; B6 = Vitamin B6; eGFR = geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate; CKD = chronic kidney disease, (chronische Nierenerkrankung).

### **6.3 Bedeutung des Homocysteinmetabolismus**

Die Diskrepanz zwischen epidemiologischen Studien, die einen Zusammenhang zwischen Plasma-Homocystein und kardiovaskulären Ereignissen aufzeigten, und zahlreichen Interventionsstudien, die keinerlei Benefit einer Vitaminsubstitution demonstrieren konnten, erzwingen einen detaillierten Blick auf den C1-Metabolismus.

Eine Hyperhomocysteinämie kann prinzipiell aus zwei möglichen zugrunde liegenden Störungen im Metabolismus des Methioninabbaus resultieren – Veränderungen im Transsulfurierungsstoffwechsel oder im Remethylierungsstoffwechsel.

Auf der einen Seite können Störungen im Transsulfurierungsstoffwechselweg vorliegen, welcher – Vitamin B6- sowie Serin-abhängig – Homocystein irreversibel über die Zwischenmetabolite Cystathionin und Cystein zu Glutathion abbaut. Dieser Stoffwechselweg ist ubiquitär lokalisiert und wird physiologischerweise vom Organismus bevorzugt (80), da Glutathion ein wichtiges Antioxidans darstellt. Hierbei kann es jedoch durch einen Mangel an den essentiellen Ko-Faktoren Vitamin B6 und Serin, sowie durch Enzymdefekte der Cystathionin- $\beta$ -Synthase oder der Cystathionin- $\gamma$ -Lyase zu Verhinderungen im Abbau kommen. Serin ist eine nicht-essentielle Aminosäure, die folsäureabhängig aus Glycin entsteht.

Ein Nebenprodukt, welches im Transsulfurierungsstoffwechselweg ebenfalls anfällt, ist Schwefelwasserstoff ( $H_2S$ ), welcher anti-inflammatorische, anti-oxidative sowie anti-hypertensive Eigenschaften besitzt (1). In einer experimentellen Studie an Mäusen, bei der im murinen Modell genetisch eine Hyperhomocysteinämie induziert wurde, schützte eine  $H_2S$ -Supplementation vor Homocystein-induzierten renalen sowie systemischen Schäden (116). Chronisch nierenkranke Patienten weisen erniedrigte Schwefelwasserstoffkonzentrationen auf (1,105), da die Expression von  $H_2S$ -produzierenden Enzymen in den Leukozyten im urämischen Milieu chronisch nierenkranker Menschen vermindert ist.

Auf der anderen Seite kann eine Hyperhomocysteinämie bei Störungen im Remethylierungsstoffwechselweg auftreten. Dieser ist Vitamin B12-, Betain- und Folsäure-abhängig und remethyliert Homocystein zur Ausgangsaminosäure Methionin. Während die meisten beteiligten Enzyme ubiquitär auftreten, wird die Betain-Homocystein-Methyltransferase (BHMT) vor allem in der Niere und in geringerem Umfang in der Leber exprimiert.

Der Remethylierungsstoffwechselweg ist insbesondere bei verminderter Methioninaufnahme mit der Nahrung von Bedeutung, da der Methioninbedarf des Körpers alleine über die Nahrungsaufnahme gedeckt werden kann (80).

Selhub und Miller stellten dazu die Hypothese auf, dass der Remethylierungsstoffwechselweg bei Vitaminmangelzuständen gestört sei, der Transsulfurierungsstoffwechselweg eher bei Methioninüberdosierungen, da in einem solchen Fall Vitamin B6 und Serin nicht mehr in ausreichenden Mengen zur Verstoffwechslung zur Verfügung stehen. Eine weitere Arbeit konnte diese Hypothese bestätigen (33).

Im „Ein-Kohlenstoff-Metabolismus“ entsteht S-Adenosylmethionin (SAM) direkt aus der Reaktion von Methionin mit Adenosintriphosphat (ATP). SAM ist als universeller Methylgruppendonator an mehr als 100 Methylierungsreaktionen beteiligt, darunter an der Kreatinsynthese, der DNA- und mRNA-Methylierung sowie der Umwandlung von Noradrenalin zu Adrenalin (12).

Aus SAM entsteht nach Übertragung der Methylgruppe S-Adosylhomocystein (SAH), welches durch die SAH-Hydrolase direkt zu Homocystein und Adenosin abgebaut wird. Diese Reaktion ist reversibel, weshalb es bei einer Hyperhomocysteinämie auch zu erhöhten SAH-Spiegeln kommt.

Neben dem Abbau des SAHs über die SAH-Hydrolase zu Homocystein und Adenosin besteht darüber hinaus die Möglichkeit der oxidativen Deaminierung über die L-Aminosäureoxidase in der Leber und in der Niere. Das dabei entstehende S-Adosyl- $\gamma$ -Thio-Ketobutyrat kann so über den Harn ausgeschieden werden; welches in den letzten Jahrzehnten kaum wissenschaftliche Beachtung fand (96,111,112).

SAH ist ein starker Inhibitor von Methyltransferasen, darunter auch von DNA-Methyltransferasen. Daher reflektiert der Quotient des universellen Methylgruppendonors SAM und des Inhibitors von Methyltransferasen SAH das Methylierungspotential (113).

Obwohl das Plasma-Homocystein positiv mit den Plasmakonzentrationen von Vitamin B12 und Folsäure korreliert, besteht kein Zusammenhang zwischen den Plasmakonzentrationen der Vitaminen und den Plasmakonzentrationen von SAM, SAH sowie dem SAM / SAH Quotienten (6). Diese Beobachtung wird durch Interventionsstudien unterstützt, in denen mittels Substitution von Folsäure, Vitamin B12 und Vitamin B6 zwar das Plasma-Homocystein deutlich gesenkt, die Plasmakonzentrationen von SAM und SAH jedoch keineswegs reduziert werden konnten (40,57).

## **6.4 'Ein-Kohlenstoff-Metabolite' und Atherogenese**

Vor diesem Hintergrund gewann in den letzten Jahren die potentiell toxische Rolle von anderen Metaboliten – neben Homocystein – des C1-Metabolismus zunehmend an Bedeutung, wobei die

experimentellen Arbeiten insbesondere auf SAH fokussierten.

Dabei spielt SAH unabhängig von Homocystein etwa eine wichtige Rolle in der Endothelzellapoptose: So berichteten Sipkens et al 2012 sowie 2013, dass SAH unabhängig von Homocystein eine Apoptose von Endothelzellen induzieren kann (118,119).

Im selben Jahr gelang es Luo et al erstmals einen direkten Zusammenhang zwischen der Atherosklerosebildung und erhöhten Plasmakonzentrationen von SAH an Apo E <sup>-/-</sup> Mäusen nachzuweisen. Bei erhöhten Plasmakonzentrationen von SAH kam es zu einer Proliferation von glatten Muskelzellen mit gleichzeitiger Migration, vermittelt durch die oxidative Stress-abhängige ERK 1/2 Signalkaskade (87). Aufgrund der relativ aufwendigen Messmethodik von SAH Konzentrationen gibt es bisher nur wenige epidemiologische Studien in der Allgemeinbevölkerung oder aus Kohorten chronisch nierenkranker Patienten, die sich mit dieser Fragestellung auseinandersetzen. Eine kleinere Fall-Kontroll-Studie aus dem Jahr 2001 zeigte, dass sich 30 Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen von 29 kardiovaskulär gesunden Kontrollen deutlich stärker im Plasma-SAH als im Plasma-Homocystein unterschieden (69).

In einer ersten größeren epidemiologischen Studie, mit differenzierter Analyse des C1-Metabolismus, rekrutierten Xiao et al 1003 Patienten, die sich einer koronaren Angiographie unterzogen, und beobachteten einen Zusammenhang zwischen erhöhten SAH-Plasmaspiegeln und dem Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen, während weder die Plasmakonzentration von SAM noch von Homocystein kardiovaskuläre Ereignisse vorhersagten (148).

## **6.5 Hyperhomocysteinämie und erhöhtes Plasma-SAH bei chronischer Nierenerkrankung**

Nachdem bei chronisch nierenkranken Menschen Homocystein in besonderem Maße akkumuliert, eine Senkung von Homocystein durch Vitaminsubstitutionen jedoch ebenso wie bei nierengesunden Menschen keinen klinischen Benefit erbrachte, erscheint eine detaillierte Untersuchung des C1-Metabolismus gerade bei dieser kardiovaskulären Hochrisikogruppe besonders relevant.



Die vorliegenden Daten der CARE FOR HOME Studie ermöglichen erstmals, Zusammenhänge zwischen dem C1-Metabolismus und der chronischen Nierenerkrankung in einem größeren Kollektiv epidemiologisch darzustellen.

Unsere Daten zeigen, dass bei chronisch nierenkranken Menschen eine stärkere Korrelation von niedrigerer glomerulärer Filtrationsrate mit höherem Plasma-SAH als mit höherem Plasma-SAM

und höherem Plasma-Homocystein besteht.

Weiterhin konnte eine geringe intraindividuelle Varianz von Plasma-SAH, Plasma-SAM und Plasma-Homocystein bei zweimaliger Messung im Ein-Jahres-Verlauf gezeigt werden. Als Limitation unserer Analyse erfolgte kein direkter Vergleich mit nierengesunden Probanden. Allerdings zeigt sich bei Vergleich mit den Ergebnissen einer zweiten großen epidemiologischen Kohortenstudie unserer Arbeitsgruppe, welche gesunde Probanden aus der Allgemeinbevölkerung rekrutierte, dass bei chronisch nierenkranken Patienten gegenüber nierengesunden Menschen SAH stärker akkumuliert als SAM und Homocystein (Tabelle 11).

**Tabelle 11:** Vergleich von den Plasmakonzentrationen der C1-Metaboliten in nierengesunder versus chronisch nierenkranker Kohorte

		
<b>Einschlusskriterium</b>	nierengesunde Probanden	chronisch nierenkranke Probanden (K/DOQI I – V)
<b>Teilnehmer</b>	n = 402	n = 297
<b>glomeruläre Filtrationsrate [ml/min/1,73 m<sup>2</sup>]</b>	92 ± 13	44 ± 19
<b>Plasma-Homocystein [µmol/l]</b>	11,6 ± 3,7	18,4 ± 7,2
<b>Plasma-SAM [nmol/l]</b>	101,9 ± 30,4	193,9 ± 56,9
<b>Plasma-SAH [nmol/l]</b>	11,5 ± 3,8	50,1 ± 36,1

n = Anzahl der Teilnehmer, SAM = S-Adenosylmethionin, SAH = S-Adenosylhomocystein

Die Ergebnisse der CARE FOR HOME und I LIKE HOME Studien bestätigen somit Daten aus einer kleineren Studie, in welcher Parameter des C1-Metabolismus zwischen 124 Patienten mit terminaler chronischer Nierenerkrankung (CKD G5) und 42 nierengesunden Probanden verglichen wurden und sich ein mehr als 13fach höheres Plasma-SAH, jedoch nur ein drei- bis vierfach höheres Plasma-SAM sowie ein Plasma-Homocystein zeigte (134).

Loehrer et al beobachteten gar ein 45fach erhöhtes Plasma-SAH, ein 6fach erhöhtes Plasma-SAM, und ein nur 5fach erhöhtes Plasma-Homocystein bei Vergleich von 25 Dialysepatienten und 40 nierengesunden Kontrollpatienten (79). Um eine Interaktion mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen auszuschließen, untersuchten Jabs et al 2005 schließlich 23 chronisch nierenkranke Kinder im Alter von 1 bis 18 Jahren, die eine glomeruläre Filtrationsrate zwischen 15 und 150 ml/min aufwiesen und bei denen ein Mangel an Vitamin B12 und Folsäure ausgeschlossen wurde. Bei diesen Kindern war eine verminderte Nierenfunktion signifikant mit hohem Plasma-SAH, jedoch nur geringgradig mit hohem Plasma-Homocystein assoziiert (59).

Im Vergleich zu diesen Vorarbeiten kann CARE FOR HOME erstmals detaillierte Informationen über das gesamte Spektrum der chronischen Nierenerkrankung bei Erwachsenen liefern und einen SAH Anstieg in frühen CKD Stadien bestätigen.

Ferner konnte aufgezeigt werden, dass in unserer Kohorte CKD Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen höheres Plasma-SAH aufweisen. Einschränkend zeigen sich jedoch auch höheres Plasma-Homocystein und höheres Plasma-SAM bei kardiovaskulär vorerkrankten CKD Patienten. Darüber hinaus blieb Plasma-SAH nach Adjustierung von Nierenfunktion und traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren kein unabhängiger Prädiktor prävalenter kardiovaskulärer Erkrankungen. Somit kann aus den vorliegenden Daten der CARE FOR HOME alleine kein direkter spezifischer Beitrag von SAH zur kardiovaskulären Komorbidität chronisch nierenkranker Menschen abgeleitet werden.

In der epidemiologischen Untersuchung von Valli et al war erhöhtes Plasma-SAH bei 124 Patienten im Stadium CKD 5 sowohl univariat als auch multivariat – nach Korrektur für Alter, Geschlecht und Diabetes mellitus – mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert, während sich kein Unterschied für Plasma-SAM zeigte und Plasma-Homocystein bei Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen überraschenderweise erniedrigt war (134).

Die Diskrepanz zwischen diesen Ergebnissen und CARE FOR HOME lassen sich möglicherweise durch die Patientenselektion (Valli et al: CKD G5 versus CKD G1 – G5),



unterschiedliche Definition von kardiovaskulären Vorerkrankungen (Valli et al: prävalente kardiovaskuläre Ereignisse oder nicht spezifizierte „Zeichen“ von koronarer, peripherarterieller oder cerebrovaskulärer Gefäßerkrankung; CARE FOR HOME: prävalente kardiovaskuläre Ereignisse) und unterschiedliche statistische Analysen (Valli et al: ROC Analyse mit Definition optimaler cut-off Werte; nachfolgend logistische Regressionsanalyse kategorisierter Parameter mit post-hoc definierten Grenzwerten; CARE FOR HOME: Logistische Regressionsanalyse prädefinierter kontinuierlicher Parameter) erklären.

Prospektive Studien zu diesen Zusammenhängen zwischen eingeschränkter Nierenfunktion, erhöhtem Plasma-SAH und kardiovaskulären Ereignissen gibt es bisher leider nicht. Eine geplante dreijährige Nachverfolgung der CARE FOR HOME Studienteilnehmer soll ermöglichen, im Jahr 2016 erstmals solch prospektive Daten zu erhalten.

## **6.6 Ursachen der Störung im C1-Metabolismus bei chronischer Nierenerkrankung**

Bisher ist umstritten, welche Pathomechanismen den Anstieg von Plasma-Homocystein und Plasma-SAH bei fallender Nierenfunktion bedingen. Es konkurrieren verschiedene Erklärungen zu den zugrunde liegenden Veränderungen im C1-Metabolismus.

Aus tierexperimentellen Studien wurde postuliert, dass ~ 20 % des zirkulierenden Plasma-Homocysteins in der Niere verstoffwechselt wird (10). So ist die Aufnahme von Homocystein in die Nieren signifikant höher als die Urinausscheidung von Homocystein, was auf eine Bedeutung des renalen Homocysteinmetabolismus weist.

Vor diesem Hintergrund könnten gestörte renale Transsulfurierungsreaktionen eine wichtige Ursache des Anstieges von Plasma-Homocystein und nachfolgend von Plasma-SAH bei chronischer Nierenerkrankung sein: So beobachteten House et al (1997) an isolierten Rattennieren, dass der renale Metabolismus von Homocystein größtenteils über den Transsulfurierungsstoffwechselweg erfolgt, so dass Homocystein zu Glutathion verstoffwechselt wird (56). Die zur Transsulfurierungsreaktion notwendige Cystathionin- $\beta$ -Synthase wird von proximalen Tubuluszellen des äußeren Nierenkortex, die Cystathionin- $\gamma$ -Synthase im inneren Nierenkortex exprimiert. House et al postulierten, dass die abnehmende Nierenfunktion eine Aktivitätseinschränkung der beiden Enzyme des Transsulfurierungsstoffwechselwegs bedingt. Bis heute gibt es jedoch keine Daten, die diese

Theorie belegen oder ablehnen können.

Bereits 1982 zeigten Foreman et al am isolierten Nierenkortex, dass neben SAH Cystathionin aus der Transsulfurierungsreaktion der anfallende Hauptmetabolit im Homocysteinabbau ist, während der Remethylierungsstoffwechselweg vernachlässigbar gering war (32,122).

Neben dem Verlust intakter Tubuluszellen weisen chronisch nierenkranke Menschen häufig einen Mangel an Vitamin B6 und Serin auf, welche beide wichtige Ko-Faktoren des Transsulfurierungsstoffwechselwegs darstellen (145).

In Diskrepanz zu diesen experimentellen Daten hinterfragten van Guldener et al 1998 die Relevanz der Niere als Ausscheidungsorgan des Homocysteins, in dem sie bei 10 nierengesunden Menschen die arteriovenöse Differenz von Plasma-Homocystein maßen und keine relevante Aufnahme in die Nierenzellen oder Exkretion in den Urin nachwiesen, so dass extrarenale Ursachen für die hohe Prävalenz der Hyperhomocysteinämie bei chronisch nierenkranken Patienten postuliert wurden (136).

Interessanterweise konnte Garibotto et al in einem ähnlichen Studienprotokoll bei wiederum 10 Teilnehmern erkennen, dass die Nieren zwar kein Ausscheidungsorgan von Homocystein sind, aber nahezu die Hälfte des Plasma-SAHs aus der Zirkulation entfernen (36). Diese Beobachtung steht in Einklang mit älteren nuklearmedizinischen Daten: So injizierten Duerre et al bereits 1969 radioaktiv markiertes SAH Ratten intravenös und erkannten eine Ausscheidung von SAH, welche an eine unbekannte Ketosäure gebunden im Urin nachgewiesen wurde (27,28).

## **6.7 Die Bedeutung von SAH und der Epigenetik bei chronischer Niereninsuffizienz**

Neben den oben diskutierten direkten toxischen Effekten von SAH auf glatte Muskelzellen und Endothelzellen könnte die Akkumulation von SAH bei chronischer Nierenerkrankung weitere fundamentale pathophysiologische Konsequenzen haben, da SAH ein potenter Inhibitor der SAM-abhängigen Methyltransferasen ist. Somit vermag SAH, sämtliche Methylierungsreaktionen des menschlichen Organismus zu hemmen, welche insbesondere die DNA-Methylierung umfassen.

Die DNA-Methylierung ist ein zentraler Mechanismus der epigenetischen Genregulation, welche die Expression von Genen hemmt. Dieser Funktionsmechanismus spielt in der

Atherogenese eine wichtige Rolle, da ein verändertes Methylierungspotential zu einem Alterungsprozess der Zellen und einer Hochregulation von Arteriosklerose-fördernden Genen, sowie einem gleichzeitigen Herunterregulieren von Arteriosklerose-protectiven Genen führen kann (4,26).

So untersuchten Castro et al 2003 17 Patienten mit atherosklerotischen Gefäßerkrankungen und 15 Kontrollpersonen. Bei Patienten mit Gefäßerkrankungen, welche gegenüber den Kontrollprobanden signifikant höheres Plasma-Homocystein und Plasma-SAH bei gleichem Plasma-SAM aufwiesen, konnte ein direkter Bezug zwischen Plasma-SAH (sowie Plasma-Homocystein) und einer globalen DNA-Hypomethylierung dargestellt werden (16).

Mehrere klinische Studien konnten aufzeigen, dass bei chronisch nierenkranken Menschen ein erniedrigter SAM / SAH Quotient mit einer globalen DNA-Hypomethylierung assoziiert ist (58,150,151). Ingrosso et al gelang es ferner mittels Folsäuresubstitution, dieser DNA-Hypomethylierung entgegenzuwirken (58).

Im Gegensatz dazu konnten Nanayakkara et al keinen Zusammenhang zwischen der chronischen Nierenerkrankung, Gefäßerkrankungen und einer DNA-Hypomethylierung erkennen (100). Geisel et al (37) sowie Stenvinkel et al (123) zeigten sogar eine globale DNA-Hypermethylierung bei chronisch nierenkranken Menschen, die mit einer erhöhten Inflammation einherging.

Auch außerhalb der Nephrologie konnte von einer DNA-Hypermethylierung berichtet werden: Sharma et al zeigte 2008 eine DNA-Hypermethylierung bei Patienten mit koronarer Herzerkrankung (117) und Kim et al postulierte eine positive Korrelation zwischen einer DNA-Hypermethylierung und prävalenten kardiovaskulären Ereignissen (71).

## **6.8 Weitere dem C1-Metabolismus nahestehende Reaktionswege**

Neben der DNA-Methylierung inhibiert SAH weitere zentrale Methylierungsreaktionen im menschlichen Körper, worüber die Akkumulation von SAH bei chronischer Nierenerkrankung weitere klinische Bedeutung gewinnen könnte.

So werden interessanterweise 40 % der von SAM abgegebenen Methylgruppen zur Kreatin-Synthese verwendet. Kreatin zerfällt im Muskel nicht-enzymatisch zu Kreatinin. Das

Gleichgewicht der Reaktion liegt dabei auf dem Zerfall von Kreatin, was als wichtige Energiebereitstellung für den Muskelstoffwechsel dient. Dies fordert eine stetige Neusynthese von Kreatin und somit einen ständigen Bedarf von Methylgruppen (15). Es kann daher postuliert werden, dass die Akkumulation von SAH durch Inhibition der Kreatin-Synthese eine zentrale Bedeutung im Muskelstoffwechsel spielt.

Auch der Entstehungsmetabolismus von asymmetrischem Dimethylarginin und der Methylierungsreaktion sind eng miteinander verbunden. Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) entsteht durch die Methylierung von der in Proteinen gebundenen Aminosäure Arginin. Dieser Methylargininkomplex wird durch Proteolyse aus den entsprechenden Proteinen freigesetzt. ADMA ist ein endogener Inhibitor der Stickstoffmonoxidsynthase und hemmt somit die vaskuläre Stickstoffmonoxidproduktion. Da man Stickstoffmonoxid einen protektiven Endotheliumseffekt zuschreibt, geht dieser bei pathologischem Anstieg von ADMA verloren, was den Entstehungsmetabolismus der Atherogenese begünstigt. ADMA wird über die Niere ausgeschieden, was eine erhöhte Konzentration von ADMA bei chronisch nierenkranken Patienten erklären könnte (70). Bereits 1992 postulierte Vallance und seine Mitarbeiter erhöhte ADMA-Konzentrationen bei Patienten mit Niereninsuffizienz (133). Außerdem konnte gezeigt werden, dass Homocystein das Plasma-ADMA ansteigen lässt, indem es sein Abbauenzym Dimethylarginin-dimethylaminohydrolase (DDAH) in seiner Aktivität hemmt (124). Bei Hämodialysepatienten konnte zusätzlich gezeigt werden, dass erhöhte ADMA-Spiegel mit einer Linksherzhypertrophie und kardiovaskulärem Remodeling einhergehen, was die Bedeutung von ADMA auch für kardiovaskuläre Erkrankungen erkennen lässt (153). Erste Studien konnten erfolgreich ADMA durch Substitution mit der Aminosäure Arginin, aber nicht mit den Vitaminen B12, B6 und Folsäure senken (8,127).

## **6.9 Limitationen**

Die vorgelegte Arbeit weist mehrere Limitationen auf: So wurden aus methodischen Gründen SAH, SAM und Homocystein im Plasma, nicht jedoch intrazellulär bestimmt. Rezente Arbeiten betonen die Bedeutung intrazellulärer Homocysteinwerte im Vergleich zum Plasma-Homocystein (120). Interessanterweise konnte etwa gezeigt werden, dass hohe intrazelluläre Homocysteinspiegel – anders als Plasma-Homocystein – nicht durch eine Folsäuresubstitution gesenkt werden konnten (120). Auf der Basis dieser Daten muss hinterfragt werden, ob der fehlende therapeutische Benefit einer Vitamin B6, Vitamin B12 und / oder Folsäure-

Substitution in oben diskutierten großen Interventionsstudien eine pathophysiologische Bedeutung von Homocystein in der Atherogenese gänzlich ausschließt.

Zudem liegen insgesamt 70 % des Homocysteins im Plasma an Proteine gebunden vor und nur 30 % in freier Form. Unklar bleibt, inwieweit diese beiden Formen sich pathophysiologisch unterscheiden (132). Darüber hinaus liegen keinerlei Daten zur Proteinbindung von SAH im Plasma vor. Aus methodischen Gründen konnte in CARE FOR HOME keine Differenzierung zwischen Protein-gebundenem und freiem Homocystein, SAH und SAM erfolgen.

Ferner wurden die Plasmakonzentrationen von Vitamin B6, Vitamin B12, Folsäure und Aminosäuren, welche erhebliche Einflussfaktoren des C1-Metabolismus darstellen, bei den chronisch nierenkranken Patienten nicht erhoben. Aufgrund von Voruntersuchungen kann postuliert werden, dass chronisch nierenkranke Patienten einen Mangel an diesen Vitaminen und Aminosäuren aufweisen (34).

Zudem erfolgte die Bestimmung der Nierenfunktion nicht mittels direkter Messverfahren wie Inulin-clearance oder nuklearmedizinischer Clearancemessungen, sondern als geschätzte glomeruläre Filtrationsrate. Diese Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate erweist sich aber für epidemiologische Fragestellungen als praktikabler, so dass auf eine direkte Clearancemessung bewusst verzichtet wurde. Zu Beginn der CARE FOR HOME Studie galt die MDRD Gleichung als genaueste Schätzformel. Nach Initiierung der Studie wurde die MDRD Gleichung zunächst durch die Kreatinin-basierte CKD-EPI Gleichung und zuletzt durch die Kreatinin / Cystatin C-basierte CKD-EPI Gleichung als genaueste Schätzformel ersetzt. Im Rahmen der vorgelegten Dissertationsschrift erfolgten parallel Untersuchungen zum Vergleich der Schätzgleichungen, die separat publiziert wurden und somit nicht Teil dieser Dissertationsschrift sind (107).

Schließlich kann die vorgelegte Querschnittsanalyse von CARE FOR HOME keine Kausalitäten aufzeigen. So betrachten wir den gestörten C1-Metabolismus als Ursache der Atherogenese, obgleich vereinzelt postuliert wurde, dass eine Hyperhomocysteinämie auch Folge einer langjährigen Arteriosklerose sein könnte (95).

## **6.10 Zusammenfassung und Ausblick**

In der vorgelegten Dissertationsschrift konnte aufgezeigt werden, dass chronisch nierenkranke Menschen eine deutliche Dysregulation des Homocysteinstoffwechsels aufweisen. So wird

mit verminderter glomerulärer Filtrationsrate eine deutliche Akkumulation insbesondere von Plasma-SAH beobachtet, welche die Akkumulation von Homocystein selbst deutlich übertrifft. Weiterhin zeigte sich in univariater – nicht jedoch in multivariater – Analyse bei Patienten mit prävalenten kardiovaskulären Erkrankungen höheres Plasma-SAH als bei Patienten ohne kardiovaskuläre Komorbidität.

Bevor aufgrund dieser Ergebnisse SAH als ein potentiell neues Therapieziel zur kardiovaskulären Protektion chronisch nierenkranker Menschen postuliert werden kann, müssen allerdings zunächst die komplexen Pathomechanismen des C1-Metabolismus in experimentellen und klinischen Arbeiten weiterverfolgt werden. Insbesondere muss die Bedeutung einer intrazellulären Akkumulation von Homocystein, SAH und SAM bei chronisch nierenkranken Menschen untersucht werden, nachdem bisherige Arbeiten, einschließlich der vorgelegten Dissertationsschrift, ausschließlich auf Plasmakonzentrationen dieser Metabolite fokussierten. Weiterhin muss aufgrund des engen Zusammenhanges zwischen dem C1-Metabolismus und der Methylierungsreaktion die epigenetische Bedeutung der SAH Akkumulation weiterhin evaluiert werden.

Ferner soll im Rahmen unserer CARE FOR HOME Studie eine prospektive Nachbeobachtung erfolgen, um die untersuchten Metabolite des Methioninstoffwechsels als potentielle Prädiktoren neuer kardiovaskulärer Ereignisse zu klassifizieren.

## 7. Literatur

1. Aminzadeh MA, Vaziri ND. Downregulation of the renal and hepatic hydrogen sulfide (H<sub>2</sub>S)-producing enzymes and capacity in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27:498-504.
2. Arici M, Walls J. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int* 2001; 59:407-14.
3. Armitage JM, Bowman L, Clarke RJ, Wallendszus K, Bulbulia R, Rahimi K, Haynes R, Parish S, Sleight P, Peto R, Collins R. Effects of homocysteine-lowering with folic acid plus vitamin B12 vs placebo on mortality and major morbidity in myocardial infarction survivors: a randomized trial. *JAMA* 2010; 303:2486-94.
4. Bacalini MG, Friso S, Olivieri F, Pirazzini C, Giuliani C, Capri M, Santoro A, Franceschi C, Garagnani P. Present and future of anti-ageing epigenetic diets. *Mech Ageing Dev* 2014.
5. Bagshaw SM, Cruz DN, Aspromonte N, Daliento L, Ronco F, Sheinfeld G, Anker SD, Anand I, Bellomo R, Berl T, Bobek I, Davenport A, Haapio M, Hillege H, House A, Katz N, Maisel A, Mankad S, McCullough P, Mebazaa A, Palazzuoli A, Ponikowski P, Shaw A, Soni S, Vescovo G, Zamperetti N, Zanco P, Ronco C. Epidemiology of cardio-renal syndromes: workgroup statements from the 7th ADQI Consensus Conference. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25:1406-16.
6. Becker A, Smulders YM, Teerlink T, Struys EA, de Meer K, Kostense PJ, Jakobs C, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. S-adenosylhomocysteine and the ratio of S-adenosylmethionine to S-adenosylhomocysteine are not related to folate, cobalamin and vitamin B6 concentrations. *Eur J Clin Invest* 2003; 33:17-25.
7. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis* 1998; 31:607-17.
8. Boger RH, Bode-Boger SM, Thiele W, Creutzig A, Alexander K, Frolich JC. Restoring vascular nitric oxide formation by L-arginine improves the symptoms of intermittent claudication in patients with peripheral arterial occlusive disease. *J Am Coll Cardiol* 1998; 32:1336-44.
9. Bonna KH, Njolstad I, Ueland PM, Schirmer H, Tverdal A, Steigen T, Wang H,

- Nordrehaug JE, Arnesen E, Rasmussen K. Homocysteine lowering and cardiovascular events after acute myocardial infarction. *N Engl J Med* 2006; 354:1578-88.
10. Bostom A, Brosnan JT, Hall B, Nadeau MR, Selhub J. Net uptake of plasma homocysteine by the rat kidney in vivo. *Atherosclerosis* 1995; 116:59-62.
  11. Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J, Dworkin L, Rosenberg IH. Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17:2554-8.
  12. Bostom AG, Culeton BF. Hyperhomocysteinemia in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10:891-900.
  13. Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. Probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274:1049-57.
  14. Bright R. *The Medico-chirurgical Review. Cases and observations illustrative of renal disease accompanied with the secretion of albuminous urine.* 1840; 37:251-63.
  15. Brosnan JT, da Silva RP, Brosnan ME. The metabolic burden of creatine synthesis. *Amino Acids* 2011; 40:1325-31.
  16. Castro R, Rivera I, Struys EA, Jansen EE, Ravasco P, Camilo ME, Blom HJ, Jakobs C, Tavares de Almeida I. Increased homocysteine and S-adenosylhomocysteine concentrations and DNA hypomethylation in vascular disease. *Clin Chem* 2003; 49:1292-6.
  17. Chao MC, Hu SL, Hsu HS, Davidson LE, Lin CH, Li CI, Liu CS, Li TC, Lin CC, Lin WY. Serum homocysteine level is positively associated with chronic kidney disease in a Taiwan Chinese population. *J Nephrol* 2014.
  18. Cheung AK, Sarnak MJ, Yan G, Dwyer JT, Heyka RJ, Rocco MV, Teehan BP, Levey AS. Atherosclerotic cardiovascular disease risks in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 58:353-62.
  19. Collins AJ, Kasiske B, Herzog C, Chavers B, Foley R, Gilbertson D, Grimm R, Liu J, Louis T, Manning W, Matas A, McBean M, Murray A, St Peter W, Xue J, Fan Q, Guo H, Li S, Roberts T, Snyder J, Solid C, Wang C, Weinhandl E, Arko C, Chen SC, Dalleska F, Daniels F, Dunning S, Ebben J, Frazier E, Johnson R, Sheets D, Forrest B, Berrini D, Constantini E, Everson S, Frederick P, Eggers P, Agodoa L. Excerpts from the United States Renal Data System 2004 annual data report: atlas of end-stage renal disease in the United States. *Am J Kidney Dis* 2005; 45:A5-7, S1-280.



20. Collins AJ, Foley RN, Herzog C, Chavers B, Gilbertson D, Ishani A, Kasiske B, Liu J, Mau LW, McBean M, Murray A, St Peter W, Guo H, Li Q, Li S, Peng Y, Qiu Y, Roberts T, Skeans M, Snyder J, Solid C, Wang C, Weinhandl E, Zaun D, Arko C, Chen SC, Dalleska F, Daniels F, Dunning S, Ebben J, Frazier E, Hanzlik C, Johnson R, Sheets D, Wang X, Forrest B, Constantini E, Everson S, Eggers P, Agodoa L. United States Renal Data System 2008 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 2009; 53:S1-374.
21. Coresh J, Selvin E, Stevens LA, Manzi J, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease in the United States. *JAMA* 2007; 298:2038-47.
22. Couser WG, Shah S, Kopple J, Beerkens P, Wilson A, Feehally J, Reiser T, Riella M. A call to action on World Kidney Day, 8 March 2007. *Kidney Int* 2007; 71:369-70.
23. Cummings KM, Proctor RN. The changing public image of smoking in the United States: 1964-2014. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* 2014; 23:32-6.
24. de Jager DJ, Grootendorst DC, Jager KJ, van Dijk PC, Tomas LM, Ansell D, Collart F, Finne P, Heaf JG, De Meester J, Wetzels JF, Rosendaal FR, Dekker FW. Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. *JAMA* 2009; 302:1782-9.
25. Di Minno G, Davi G, Margaglione M, Cirillo F, Grandone E, Ciabattini G, Catalano I, Strisciuglio P, Andria G, Patrono C, et al. Abnormally high thromboxane biosynthesis in homozygous homocystinuria. Evidence for platelet involvement and probucol-sensitive mechanism. *J Clin Invest* 1993; 92:1400-6.
26. Dong C, Yoon W, Goldschmidt-Clermont PJ. DNA methylation and atherosclerosis. *J Nutr* 2002; 132:2406S-9S.
27. Duerre JA, Miller CH, Reams GG. Metabolism of S-adenosyl-L-homocysteine in vivo by the rat. *J Biol Chem* 1969; 244:107-11.
28. Duerre JA, Salisbury L, Miller CH. Preparation and characterization of sulfoxides of S-adenosyl-L-homocysteine and S-ribosyl-L-homocysteine. *Electromyography* 1969; 9:505-14.
29. Eckardt KU, Coresh J, Devuyst O, Johnson RJ, Kottgen A, Levey AS, Levin A. Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health burden. *Lancet* 2013; 382:158-69.
30. Flügge F. Adiponektin-Subfraktionen und kardiovaskuläre Morbidität bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung, 2011.
31. Foley RN. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic kidney disease.

- J Ren Care 2010; 36 Suppl 1:4-8.
32. Foreman JW, Wald H, Blumberg G, Pepe LM, Segal S. Homocystine uptake in isolated rat renal cortical tubules. *Metabolism* 1982; 31:613-9.
  33. Franken DG, Boers GH, Blom HJ, Trijbels JM. Effect of various regimens of vitamin B6 and folic acid on mild hyperhomocysteinaemia in vascular patients. *J Inher Metab Dis* 1994; 17:159-62.
  34. Furst P. Amino acid metabolism in uremia. *J Am Coll Nutr* 1989; 8:310-23.
  35. Gansevoort RT, Correa-Rotter R, Hemmelgarn BR, Jafar TH, Heerspink HJ, Mann JF, Matsushita K, Wen CP. Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet* 2013; 382:339-52.
  36. Garibotto G, Valli A, Anderstam B, Eriksson M, Suliman ME, Balbi M, Rollando D, Vigo E, Lindholm B. The kidney is the major site of S-adenosylhomocysteine disposal in humans. *Kidney Int* 2009; 76:293-6.
  37. Geisel J, Schorr H, Heine GH, Bodis M, Hubner U, Knapp JP, Herrmann W. Decreased p66Shc promoter methylation in patients with end-stage renal disease. *Clin Chem Lab Med* 2007; 45:1764-70.
  38. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351:1296-305.
  39. Go AS, Fang MC, Udaltsova N, Chang Y, Pomernacki NK, Borowsky L, Singer DE. Impact of proteinuria and glomerular filtration rate on risk of thromboembolism in atrial fibrillation: the anticoagulation and risk factors in atrial fibrillation (ATRIA) study. *Circulation* 2009; 119:1363-9.
  40. Green TJ, Skeaff CM, McMahon JA, Venn BJ, Williams SM, Devlin AM, Innis SM. Homocysteine-lowering vitamins do not lower plasma S-adenosylhomocysteine in older people with elevated homocysteine concentrations. *Br J Nutr* 2010; 103:1629-34.
  41. Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15:1014-21.
  42. Guthikonda S, Haynes WG. Homocysteine: role and implications in atherosclerosis. *Curr Atheroscler Rep* 2006; 8:100-6.
  43. Hallan SI, Coresh J, Astor BC, Asberg A, Powe NR, Romundstad S, Hallan HA, Lydersen S, Holmen J. International comparison of the relationship of chronic kidney disease prevalence and ESRD risk. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:2275-84.
  44. Hankey GJ, Algra A, Chen C, Wong MC, Cheung R, Wong L, Divjak I, Ferro J, de

- Freitas G, Gommans J, Groppa S, Hill M, Spence D, Lees K, Lisheng L, Navarro J, Ranawaka U, Ricci S, Schmidt R, Slivka A, Tan K, Tsiskaridze A, Uddin W, Vanhooren G, Xavier D, Armitage J, Hobbs M, Le M, Sudlow C, Wheatley K, Yi Q, Bulder M, Eikelboom JW, Ho WK, Jamrozik K, Klijn K, Koedam E, Langton P, Nijboer E, Tuch P, Pizzi J, Tang M, Antenucci M, Chew Y, Chinnery D, Cockayne C, Loh K, McMullin L, Smith F, Song S. VITATOPS, the VITamins TO prevent stroke trial: rationale and design of a randomised trial of B-vitamin therapy in patients with recent transient ischaemic attack or stroke (NCT00097669) (ISRCTN74743444). *Int J Stroke* 2007; 2:144-50.
45. Harker LA, Ross R, Slichter SJ, Scott CR. Homocystine-induced arteriosclerosis. The role of endothelial cell injury and platelet response in its genesis. *J Clin Invest* 1976; 58:731-41.
46. Harpel PC, Chang VT, Borth W. Homocysteine and other sulfhydryl compounds enhance the binding of lipoprotein(a) to fibrin: a potential biochemical link between thrombosis, atherogenesis, and sulfhydryl compound metabolism. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1992; 89:10193-7.
47. Heinecke JW, Rosen H, Suzuki LA, Chait A. The role of sulfur-containing amino acids in superoxide production and modification of low density lipoprotein by arterial smooth muscle cells. *J Biol Chem* 1987; 262:10098-103.
48. Heinz J, Kropf S, Domrose U, Westphal S, Borucki K, Luley C, Neumann KH, Dierkes J. B vitamins and the risk of total mortality and cardiovascular disease in end-stage renal disease: results of a randomized controlled trial. *Circulation* 2010; 121:1432-8.
49. Herath E. Ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung renaler und lienaler Widerstandsindices eine selektive Beurteilung der chronischen Nierenschädigung? 2011.
50. Herrmann W, Obeid R. Hyperhomocysteinemia and response of methionine cycle intermediates to vitamin treatment in renal patients. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43:1039-47.
51. Herzog CA. Sudden cardiac death and acute myocardial infarction in dialysis patients: perspectives of a cardiologist. *Semin Nephrol* 2005; 25:363-6.
52. Herzog CA. Can we prevent sudden cardiac death in dialysis patients? *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2:410-2.
53. Herzog CA, Mangrum JM, Passman R. Sudden cardiac death and dialysis patients.

- Semin Dial 2008; 21:300-7.
54. Herzog CA, Asinger RW, Berger AK, Charytan DM, Diez J, Hart RG, Eckardt KU, Kasiske BL, McCullough PA, Passman RS, DeLoach SS, Pun PH, Ritz E. Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2011; 80:572-86.
  55. Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002; 62:1524-38.
  56. House JD, Brosnan ME, Brosnan JT. Characterization of homocysteine metabolism in the rat kidney. *Biochem J* 1997; 328 ( Pt 1):287-92.
  57. Hubner U, Geisel J, Kirsch SH, Kruse V, Bodis M, Klein C, Herrmann W, Obeid R. Effect of 1 year B and D vitamin supplementation on LINE-1 repetitive element methylation in older subjects. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:649-55.
  58. Ingrosso D, Cimmino A, Perna AF, Masella L, De Santo NG, De Bonis ML, Vacca M, D'Esposito M, D'Urso M, Galletti P, Zappia V. Folate treatment and unbalanced methylation and changes of allelic expression induced by hyperhomocysteinaemia in patients with uraemia. *Lancet* 2003; 361:1693-9.
  59. Jabs K, Koury MJ, Dupont WD, Wagner C. Relationship between plasma S-adenosylhomocysteine concentration and glomerular filtration rate in children. *Metabolism* 2006; 55:252-7.
  60. Jamison RL, Hartigan P, Kaufman JS, Goldfarb DS, Warren SR, Guarino PD, Gaziano JM. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA* 2007; 298:1163-70.
  61. Jha V, Garcia-Garcia G, Iseki K, Li Z, Naicker S, Plattner B, Saran R, Wang AY, Yang CW. Chronic kidney disease: global dimension and perspectives. *Lancet* 2013; 382:260-72.
  62. Jonasson T, Ohlin AK, Gottsater A, Hultberg B, Ohlin H. Plasma homocysteine and markers for oxidative stress and inflammation in patients with coronary artery disease- a prospective randomized study of vitamin supplementation. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43:628-34.
  63. Jungers P, Chauveau P, Bandin O, Chadeaux B, Aupetit J, Labrunie M, Descamps-Latscha B, Kamoun P. Hyperhomocysteinemia is associated with atherosclerotic occlusive arterial accidents in predialysis chronic renal failure patients. *Miner*

- Electrolyte Metab 1997; 23:170-3.
64. Jungers P, Massy ZA, Nguyen Khoa T, Fumeron C, Labrunie M, Lacour B, Descamps-Latscha B, Man NK. Incidence and risk factors of atherosclerotic cardiovascular accidents in predialysis chronic renal failure patients: a prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12:2597-602.
  65. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis* 2002; 39:S1-266.
  66. Kannel WB, McGee D, Gordon T. A general cardiovascular risk profile: the Framingham Study. *Am J Cardiol* 1976; 38:46-51.
  67. Kannel WB, Abbott RD, Savage DD, McNamara PM. Epidemiologic features of chronic atrial fibrillation: the Framingham study. *N Engl J Med* 1982; 306:1018-22.
  68. Keith DS, Nichols GA, Gullion CM, Brown JB, Smith DH. Longitudinal follow-up and outcomes among a population with chronic kidney disease in a large managed care organization. *Arch Intern Med* 2004; 164:659-63.
  69. Kerins DM, Koury MJ, Capdevila A, Rana S, Wagner C. Plasma S-adenosylhomocysteine is a more sensitive indicator of cardiovascular disease than plasma homocysteine. *Am J Clin Nutr* 2001; 74:723-9.
  70. Kielstein JT, Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? *Am J Kidney Dis* 2005; 46:186-202.
  71. Kim M, Long TI, Arakawa K, Wang R, Yu MC, Laird PW. DNA methylation as a biomarker for cardiovascular disease risk. *PLoS One* 2010; 5:e9692.
  72. Kirsch SH, Knapp JP, Geisel J, Herrmann W, Obeid R. Simultaneous quantification of S-adenosyl methionine and S-adenosyl homocysteine in human plasma by stable-isotope dilution ultra performance liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2009; 877:3865-70.
  73. Langman LJ, Cole DE. Homocysteine. *Crit Rev Clin Lab Sci* 1999; 36:365-406.
  74. Lee M, Saver JL, Chang KH, Liao HW, Chang SC, Ovbiagele B. Low glomerular filtration rate and risk of stroke: meta-analysis. *BMJ* 2010; 341:c4249.
  75. Lentz SR, Sadler JE. Inhibition of thrombomodulin surface expression and protein C activation by the thrombogenic agent homocysteine. *J Clin Invest* 1991; 88:1906-14.
  76. Levey AS, Atkins R, Coresh J, Cohen EP, Collins AJ, Eckardt KU, Nahas ME, Jaber BL, Jadoul M, Levin A, Powe NR, Rossert J, Wheeler DC, Lameire N, Eknoyan G. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives - a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int*

- 2007; 72:247-59.
77. Lichthardt R. Spezielle pathologische Anatomie von Rudolf Virchow; Mitschriften des Studenten Justus Rabus aus den Jahren 1852/53, 2003.
  78. Lindner A, Charra B, Sherrard DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974; 290:697-701.
  79. Loehrer FM, Angst CP, Brunner FP, Haefeli WE, Fowler B. Evidence for disturbed S-adenosylmethionine : S-adenosylhomocysteine ratio in patients with end-stage renal failure: a cause for disturbed methylation reactions? *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:656-61.
  80. Löffler G, Petrides PE. *Biochemie des Menschen*. Springer Verlag 2006; 8.Auflage.
  81. Loland KH, Bleie O, Blix AJ, Strand E, Ueland PM, Refsum H, Ebbing M, Nordrehaug JE, Nygard O. Effect of homocysteine-lowering B vitamin treatment on angiographic progression of coronary artery disease: a Western Norway B Vitamin Intervention Trial (WENBIT) substudy. *Am J Cardiol* 2010; 105:1577-84.
  82. London GM, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, Adda H. Arterial structure and function in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:1713-24.
  83. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18:1731-40.
  84. Longenecker JC, Coresh J, Powe NR, Levey AS, Fink NE, Martin A, Klag MJ. Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: the CHOICE Study. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:1918-27.
  85. Lonn E, Held C, Arnold JM, Probstfield J, McQueen M, Micks M, Pogue J, Sheridan P, Bosch J, Genest J, Yusuf S. Rationale, design and baseline characteristics of a large, simple, randomized trial of combined folic acid and vitamins B6 and B12 in high-risk patients: the Heart Outcomes Prevention Evaluation (HOPE)-2 trial. *Can J Cardiol* 2006; 22:47-53.
  86. Lonn E, Yusuf S, Arnold MJ, Sheridan P, Pogue J, Micks M, McQueen MJ, Probstfield J, Fodor G, Held C, Genest J, Jr. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in vascular disease. *N Engl J Med* 2006; 354:1567-77.
  87. Luo X, Xiao Y, Song F, Yang Y, Xia M, Ling W. Increased plasma S-adenosylhomocysteine levels induce the proliferation and migration of VSMCs through an oxidative stress-ERK1/2 pathway in apoE(-/-) mice. *Cardiovasc Res* 2012; 95:241-50.
  88. Malinow MR, Kang SS, Taylor LM, Wong PW, Coull B, Inahara T, Mukerjee D,

- Sexton G, Upson B. Prevalence of hyperhomocyst(e)inemia in patients with peripheral arterial occlusive disease. *Circulation* 1989; 79:1180-8.
89. Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Fermo I, Benedetto FA, Cataliotti A, Bellanuova I, Malatino LS, Soldarini A. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61:609-14.
90. Mann JF, Sheridan P, McQueen MJ, Held C, Arnold JM, Fodor G, Yusuf S, Lonn EM. Homocysteine lowering with folic acid and B vitamins in people with chronic kidney disease--results of the renal Hope-2 study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23:645-53.
91. Maron BA, Loscalzo J. Homocysteine. *Clin Lab Med* 2006; 26:591-609, vi.
92. Maron BA, Loscalzo J. The treatment of hyperhomocysteinemia. *Annu Rev Med* 2009; 60:39-54.
93. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de Jong PE, Coresh J, Gansevoort RT. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet* 2010; 375:2073-81.
94. McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56:111-28.
95. Menon V, Sarnak MJ, Greene T, Wang X, Pereira AA, Beck GJ, Kusek JW, Selhub J, Collins AJ, Levey AS, Shlipak MG. Relationship between homocysteine and mortality in chronic kidney disease. *Circulation* 2006; 113:1572-7.
96. Miller CH, Duerre JA. Oxidative deamination of S-adenosyl-L-homocysteine by rat kidney L-amino acid oxidase. *J Biol Chem* 1969; 244:4273-6.
97. Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW, Robinson K, Dennis VW. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *Circulation* 1998; 97:138-41.
98. Mudd SH, Skovby F, Levy HL, Pettigrew KD, Wilcken B, Pyeritz RE, Andria G, Boers GH, Bromberg IL, Cerone R, et al. The natural history of homocystinuria due to cystathionine beta-synthase deficiency. *Am J Hum Genet* 1985; 37:1-31.
99. Mudd SH, Finkelstein JD, Refsum H, Ueland PM, Malinow MR, Lentz SR, Jacobsen DW, Brattstrom L, Wilcken B, Wilcken DE, Blom HJ, Stabler SP, Allen RH, Selhub J, Rosenberg IH. Homocysteine and its disulfide derivatives: a suggested consensus terminology. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1704-6.
100. Nanayakkara PW, Kiefte-de Jong JC, Stehouwer CD, van Ittersum FJ, Olthof MR, Kok RM, Blom HJ, van Guldener C, ter Wee PM, Smulders YM. Association between

- global leukocyte DNA methylation, renal function, carotid intima-media thickness and plasma homocysteine in patients with stage 2-4 chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23:2586-92.
101. Nygard O, Vollset SE, Refsum H, Stensvold I, Tverdal A, Nordrehaug JE, Ueland M, Kvale G. Total plasma homocysteine and cardiovascular risk profile. The Hordaland Homocysteine Study. *JAMA* 1995; 274:1526-33.
  102. O'Hare AM, Glidden DV, Fox CS, Hsu CY. High prevalence of peripheral arterial disease in persons with renal insufficiency: results from the National Health and Nutrition Examination Survey 1999-2000. *Circulation* 2004; 109:320-3.
  103. O'Hare AM, Vittinghoff E, Hsia J, Shlipak MG. Renal insufficiency and the risk of lower extremity peripheral arterial disease: results from the Heart and Estrogen/Progestin Replacement Study (HERS). *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1046-51.
  104. Omrani HQ, Shandiz EE, Qabai M, Chaman R, Fard HA, Qaffarpoor M. Hyperhomocysteinemia, folate and B12 vitamin in Iranian patients with acute ischemic stroke. *ARYA Atheroscler* 2011; 7:97-101.
  105. Perna AF, Ingrosso D. Low hydrogen sulphide and chronic kidney disease: a dangerous liaison. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27:486-93.
  106. Refsum H, Guttormsen AB, Fiskerstrand T, Ueland PM. Hyperhomocysteinemia in terms of steady-state kinetics. *Eur J Pediatr* 1998; 157 Suppl 2:S45-9.
  107. Rogacev KS, Pickering JW, Seiler S, Zawada AM, Emrich I, Fliser D, Heine GH. The Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration (CKD-EPI) equation incorporating both cystatin C and creatinine best predicts individual risk: a cohort study in 444 patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29:348-55.
  108. Sarnak MJ, Coronado BE, Greene T, Wang SR, Kusek JW, Beck GJ, Levey AS. Cardiovascular disease risk factors in chronic renal insufficiency. *Clin Nephrol* 2002; 57:327-35.
  109. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Cullerton B, Hamm LL, McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raij L, Spinosa DJ, Wilson PW. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2003; 108:2154-69.
  110. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Cullerton B, Hamm LL,



- McCullough PA, Kasiske BL, Kelepouris E, Klag MJ, Parfrey P, Pfeffer M, Raij L, Spinosa DJ, Wilson PW. Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease: a statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Hypertension* 2003; 42:1050-65.
111. Schatz RA, Vunnam CR, Sellinger OZ. S-Adenosyl-L-homocysteine in brain : Regional concentrations, catabolism, and the effects of methionine sulfoximine. *Neurochem Res* 1977; 2:27-38.
112. Schatz RA, Vunnam CR, Sellinger OZ. Species and tissue differences in the catabolism of S-adenosyl-L-homocysteine: a quantitative, chromatographic study. *Life Sci* 1977; 20:375-83.
113. Schatz RA, Wilens TE, Sellinger OZ. Decreased transmethylation of biogenic amines after in vivo elevation of brain S-adenosyl-l-homocysteine. *J Neurochem* 1981; 36:1739-48.
114. Selhub J, Jacques PF, Wilson PW, Rush D, Rosenberg IH. Vitamin status and intake as primary determinants of homocysteinemia in an elderly population. *JAMA* 1993; 270:2693-8.
115. Seliger SL, Gillen DL, Longstreth WT, Jr., Kestenbaum B, Stehman-Breen CO. Elevated risk of stroke among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* 2003; 64:603-9.
116. Sen U, Munjal C, Qipshidze N, Abe O, Gargoum R, Tyagi SC. Hydrogen sulfide regulates homocysteine-mediated glomerulosclerosis. *Am J Nephrol* 2010; 31:442-55.
117. Sharma P, Kumar J, Garg G, Kumar A, Patowary A, Karthikeyan G, Ramakrishnan L, Brahmachari V, Sengupta S. Detection of altered global DNA methylation in coronary artery disease patients. *DNA Cell Biol* 2008; 27:357-65.
118. Sipkens JA, Hahn NE, Blom HJ, Lougheed SM, Stehouwer CD, Rauwerda JA, Krijnen PA, van Hinsbergh VW, Niessen HW. S-Adenosylhomocysteine induces apoptosis and phosphatidylserine exposure in endothelial cells independent of homocysteine. *Atherosclerosis* 2012; 221:48-54.
119. Sipkens JA, Hahn N, van den Brand CS, Meischl C, Cillessen SA, Smith DE, Juffermans LJ, Musters RJ, Roos D, Jakobs C, Blom HJ, Smulders YM, Krijnen PA, Stehouwer CD, Rauwerda JA, van Hinsbergh VW, Niessen HW. Homocysteine-induced apoptosis in endothelial cells coincides with nuclear NOX2 and peri-nuclear NOX4 activity. *Cell Biochem Biophys* 2013; 67:341-52.

120. Smith DE, Hornstra JM, Kok RM, Blom HJ, Smulders YM. Folic acid supplementation does not reduce intracellular homocysteine, and may disturb intracellular one-carbon metabolism. *Clin Chem Lab Med* 2013; 51:1643-50.
121. Song Y, Cook NR, Albert CM, Van Denburgh M, Manson JE. Effect of homocysteine-lowering treatment with folic Acid and B vitamins on risk of type 2 diabetes in women: a randomized, controlled trial. *Diabetes* 2009; 58:1921-8.
122. Stabler SP, Allen RH. Quantification of serum and urinary S-adenosylmethionine and S-adenosylhomocysteine by stable-isotope-dilution liquid chromatography-mass spectrometry. *Clin Chem* 2004; 50:365-72.
123. Stenvinkel P, Karimi M, Johansson S, Axelsson J, Suliman M, Lindholm B, Heimbürger O, Barany P, Alvestrand A, Nordfors L, Qureshi AR, Ekström TJ, Schalling M. Impact of inflammation on epigenetic DNA methylation - a novel risk factor for cardiovascular disease? *J Intern Med* 2007; 261:488-99.
124. Stuhlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* 2001; 104:2569-75.
125. Suliman ME, Qureshi AR, Barany P, Stenvinkel P, Filho JC, Anderstam B, Heimbürger O, Lindholm B, Bergström J. Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 57:1727-35.
126. Suliman ME, Lindholm B, Barany P, Bergström J. Hyperhomocysteinemia in chronic renal failure patients: relation to nutritional status and cardiovascular disease. *Clin Chem Lab Med* 2001; 39:734-8.
127. Sydow K, Schwedhelm E, Arakawa N, Bode-Boger SM, Tsikas D, Hornig B, Frolich JC, Boger RH. ADMA and oxidative stress are responsible for endothelial dysfunction in hyperhomocyst(e)inemia: effects of L-arginine and B vitamins. *Cardiovasc Res* 2003; 57:244-52.
128. Tonelli M, Böhm C, Pandeya S, Gill J, Levin A, Kiberd BA. Cardiac risk factors and the use of cardioprotective medications in patients with chronic renal insufficiency. *Am J Kidney Dis* 2001; 37:484-9.
129. Toole JF, Malinow MR, Chambless LE, Spence JD, Pettigrew LC, Howard VJ, Sides EG, Wang CH, Stampfer M. Lowering homocysteine in patients with ischemic stroke to prevent recurrent stroke, myocardial infarction, and death: the Vitamin Intervention for Stroke Prevention (VISP) randomized controlled trial. *JAMA* 2004; 291:565-75.
130. Touboul PJ, Hennerici MG, Meairs S, Adams H, Amarenco P, Bornstein N, Csiba L,

- Desvarieux M, Ebrahim S, Fatar M, Hernandez Hernandez R, Jaff M, Kownator S, Prati P, Rundek T, Sitzer M, Schminke U, Tardif JC, Taylor A, Vicaut E, Woo KS, Zannad F, Zureik M. Mannheim carotid intima-media thickness consensus (2004-2006). An update on behalf of the Advisory Board of the 3rd and 4th Watching the Risk Symposium, 13th and 15th European Stroke Conferences, Mannheim, Germany, 2004, and Brussels, Belgium, 2006. *Cerebrovasc Dis* 2007; 23:75-80.
131. Tsai JC, Perrella MA, Yoshizumi M, Hsieh CM, Haber E, Schlegel R, Lee ME. Promotion of vascular smooth muscle cell growth by homocysteine: a link to atherosclerosis. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1994; 91:6369-73.
132. Ueland PM, Refsum H, Stabler SP, Malinow MR, Andersson A, Allen RH. Total homocysteine in plasma or serum: methods and clinical applications. *Clin Chem* 1993; 39:1764-79.
133. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* 1992; 339:572-5.
134. Valli A, Carrero JJ, Qureshi AR, Garibotto G, Barany P, Axelsson J, Lindholm B, Stenvinkel P, Anderstam B, Suliman ME. Elevated serum levels of S-adenosylhomocysteine, but not homocysteine, are associated with cardiovascular disease in stage 5 chronic kidney disease patients. *Clin Chim Acta* 2008; 395:106-10.
135. van der Velde M, Matsushita K, Coresh J, Astor BC, Woodward M, Levey A, de Jong P, Gansevoort RT, Levey AS, de Jong PE, El-Nahas M, Eckardt KU, Kasiske BL, Ninomiya T, Chalmers J, Macmahon S, Tonelli M, Hemmelgarn B, Sacks F, Curhan G, Collins AJ, Li S, Chen SC, Hawaii Cohort KP, Lee BJ, Ishani A, Neaton J, Svendsen K, Mann JF, Yusuf S, Teo KK, Gao P, Nelson RG, Knowler WC, Biló HJ, Joosten H, Kleefstra N, Groenier KH, Auguste P, Veldhuis K, Wang Y, Camarata L, Thomas B, Manley T. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int* 2011; 79:1341-52.
136. van Guldener C, Donker AJ, Jakobs C, Teerlink T, de Meer K, Stehouwer CD. No net renal extraction of homocysteine in fasting humans. *Kidney Int* 1998; 54:166-9.
137. Vasan RS, Beiser A, D'Agostino RB, Levy D, Selhub J, Jacques PF, Rosenberg IH, Wilson PW. Plasma homocysteine and risk for congestive heart failure in adults without prior myocardial infarction. *JAMA* 2003; 289:1251-7.
138. Wagner C, Koury MJ. S-Adenosylhomocysteine: a better indicator of vascular disease than homocysteine? *Am J Clin Nutr* 2007; 86:1581-5.

139. Wall RT, Harlan JM, Harker LA, Striker GE. Homocysteine-induced endothelial cell injury in vitro: a model for the study of vascular injury. *Thromb Res* 1980; 18:113-21.
140. Weihrauch A. Sind renale Widerstandsindices nierenspezifische Ultraschallparameter? – Detektion der linksventrikulären diastolischen Dysfunktion als weiteren extrarenalen Einflussfaktor, 2011.
141. Wen CP, Cheng TY, Tsai MK, Chang YC, Chan HT, Tsai SP, Chiang PH, Hsu CC, Sung PK, Hsu YH, Wen SF. All-cause mortality attributable to chronic kidney disease: a prospective cohort study based on 462 293 adults in Taiwan. *Lancet* 2008; 371:2173-82.
142. Wilcken DE, Wilcken B. The pathogenesis of coronary artery disease. A possible role for methionine metabolism. *J Clin Invest* 1976; 57:1079-82.
143. Wilcken DE, Wilcken B. The natural history of vascular disease in homocystinuria and the effects of treatment. *J Inherit Metab Dis* 1997; 20:295-300.
144. Wizemann V, Tong L, Satayathum S, Disney A, Akiba T, Fissell RB, Kerr PG, Young EW, Robinson BM. Atrial fibrillation in hemodialysis patients: clinical features and associations with anticoagulant therapy. *Kidney Int* 2010; 77:1098-106.
145. Wolfson M, Laidlaw SA, Flugel-Link RM, Strong CJ, Salusky IB, Kopple JD. Effect of vitamin B-6 deficiency on plasma amino acid levels in chronically azotemic rats. *J Nutr* 1986; 116:1865-72.
146. World Health Organization. Global Health Report. Preventing chronic diseases. A vital investment. 2005.
147. World Heart Federation. Global Health Report. "25X25" Fight against cardiovascular disease. 2013.
148. Xiao Y, Zhang Y, Wang M, Li X, Su D, Qiu J, Li D, Yang Y, Xia M, Ling W. Plasma S-adenosylhomocysteine is associated with the risk of cardiovascular events in patients undergoing coronary angiography: a cohort study. *Am J Clin Nutr* 2013; 98:1162-9.
149. Yach D, Hawkes C, Gould CL, Hofman KJ. The global burden of chronic diseases: overcoming impediments to prevention and control. *JAMA* 2004; 291:2616-22.
150. Yi P, Melnyk S, Pogribna M, Pogribny IP, Hine RJ, James SJ. Increase in plasma homocysteine associated with parallel increases in plasma S-adenosylhomocysteine and lymphocyte DNA hypomethylation. *J Biol Chem* 2000; 275:29318-23.
151. Zawada AM, Rogacev KS, Heine GH. Clinical relevance of epigenetic dysregulation in chronic kidney disease-associated cardiovascular disease. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28:1663-71.

152. Zhang QL, Koenig W, Raum E, Stegmaier C, Brenner H, Rothenbacher D. Epidemiology of chronic kidney disease: results from a population of older adults in Germany. *Prev Med* 2009; 48:122-7.
153. Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS, Cataliotti A, Bellanuova I, Boger R. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62:339-45.
154. Zoungas S, McGrath BP, Branley P, Kerr PG, Muske C, Wolfe R, Atkins RC, Nicholls K, Fraenkel M, Hutchison BG, Walker R, McNeil JJ. Cardiovascular morbidity and mortality in the Atherosclerosis and Folic Acid Supplementation Trial (ASFAST) in chronic renal failure: a multicenter, randomized, controlled trial. *J Am Coll Cardiol* 2006; 47:1108-16.

## 8. Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei all denjenigen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertationsschrift beigetragen haben.

Allen voran danke ich Herrn Prof. Dr. Danilo Fliser, Leiter der Klinik für Innere Medizin IV des Universitätsklinikums des Saarlandes, der es mir ermöglichte, die vorliegende Dissertationsschrift in seinem Institut zu verfassen.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Gunnar H. Heine für die Überlassung des Themas, für die so wertvollen fachlichen Diskussionen, die unzähligen Gespräche, die mich sowohl wissenschaftlich als auch persönlich weitergebracht haben, für seine unermüdliche Energie und fachliche Begeisterung, die mir so oft Mut und Ideen gaben, das Thema nochmals aus einer ganz anderen Perspektive wahrzunehmen. Aber vor allem möchte ich mich für seine menschliche Art bedanken, die eine sehr angenehme freundschaftliche Atmosphäre schaffen konnte und für all die Möglichkeiten und das Vertrauen, das er mir entgegen gebracht hat. Er hat es endgültig geschafft, mir die Nephrologie sowie die wissenschaftlich-epidemiologische Arbeit ans Herz zu legen.

Ein weiteres Dankeschön möchte ich meinem Betreuer Herrn Dr. Adam Zawada aussprechen, der mit seinem ruhigen Wesen und viel Geduld jede einzelne meiner Fragen beantwortete und mich durch konstruktive Kritik und durch viele Anregungen ungemein unterstützte.

Ich danke den Mitgliedern der Arbeitsgruppe 1 der Klinik für Innere Medizin IV, insbesondere Frau Dr. Sarah Seiler und Herrn Dr. Kyrill Rogacev, die zu jeder Zeit ein offenes Ohr für mich hatten und mir in Rat und Tat zur Seite standen, sowie Frau Marie Blinn, die mich an unzähligen Nachmittagen mit viel Geduld in der Sonographie unterrichtete.

Mein besonderer Dank gilt außerdem dem Laborteam der Klinik für Innere Medizin IV um Frau Martina Wagner sowie den Leitern vom Zentrallabor des Universitätsklinikums Herrn Prof. Dr. Jürgen Geisel und Frau Prof. Dr. Rima Obeid für die Hilfe zur Laboranalyse.

Des Weiteren möchte ich mich bei allen Mitgliedern der nephrologischen Ambulanz

bedanken, bei den Krankenschwestern Andrea, Sigrun, Elke, Martina, Inna und bei den Ärztinnen Frau Dr. Yvonne Michaeli und Frau Dr. Jeannette Marell, ohne deren Hilfe eine Studie wie die CARE FOR HOME Studie eine ist, nicht zu verwirklichen gewesen wäre.

Ich möchte mich darüber hinaus bei den vorhergehenden Doktorandinnen Esther Herath, Anja Weihrauch, Franziska Flügge und Pagah Shafein bedanken, die liebevoll die Patienten in die CARE FOR HOME Studie einschlossen und es mir somit ermöglichten auf wichtige Baselinedaten zurückgreifen zu können. Außerdem danke ich Frau Annette Offenhäuser, die in den entscheidenden Momenten einen Trumpf aus dem Ärmel zog, sowie allen Teilnehmern der CARE FOR HOME Studie für ihre Zeit und ihre Geduld, ohne deren Bereitschaft unsere wissenschaftliche Arbeit in diesem Rahmen nicht möglich wäre und natürlich all denjenigen, die keine Mühe und Zeit gescheut haben, die vorliegende Dissertationsschrift Korrektur zu lesen.

Zu guter Letzt danke ich meiner Familie, meinen Eltern, meiner Schwester Janneken und meiner aller besten Freundin Sina: Ihr habt mich zu dem gemacht, was ich heute bin, dieses Dankeschön kann man nicht auf einem Blatt Papier zum Ausdruck bringen!

## **9. Publikationen / Vorträge**

### **9.1 Publikation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit**

Rogacev KS, Pickering J, Seiler S, Zawada AM, Emrich IE, Fliser D, Heine GH. The CKD-EPI equation incorporating both cystatin c and creatinine best predicts individual risk: a cohort study in 444 patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant.* 2014; 29:348-55.

Seiler S, Rogacev KS, Roth HJ, Shafein P, Emrich IE, Neuhaus S, Floege J, Fliser D, Heine GH. Associations of FGF-23 and sKlotho with cardiovascular outcomes among patients with CKD stages 2 to 4. (zum Zeitpunkt der Einreichung der Dissertationsschrift bei *Clin J Am Soc Nephrol.* zur Publikation akzeptiert).

Rogacev KS, Zawada AM, Emrich IE, Seiler S MD, Böhm M, Fliser D MD, Woollard KJ, Heine GH. Intermediate monocyte counts are determined by surrogates of cholesterol efflux capacity (Apo A and HDL cholesterol) and predict cardiovascular events in chronic kidney disease. (zum Zeitpunkt der Einreichung der Dissertationsschrift im Gutachterverfahren)

### **9.2 Präsentation der zentralen Ergebnisse der Promotionsarbeit durch die Verfasserin der Dissertationsschrift**

Insa E. Emrich, Adam M. Zawada, Kyrill S. Rogacev, Jürgen Geisel, Rima Obeid, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Subclinical atherosclerosis, renal function and C1 metabolism. 43. Jahrestagung des Arbeitskreises 'Klinischer Lipidstoffwechsel' 28.11. - 30.11.2013 in Maikammer / Pfalz (Freier Vortrag)

Insa E. Emrich, Adam M. Zawada, Kyrill S. Rogacev, Sarah Seiler, Jürgen Geisel, Rima Obeid, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. SAH - ein neuer nicht traditioneller Risikofaktor? 120. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V. 26.04. - 29.04.2014 in Wiesbaden (angenommen als Posterpräsentation)



### **9.3 Präsentation von weiteren Teilergebnissen der Promotionsarbeit durch die Verfasserin der Dissertationsschrift**

Insa E. Emrich, Kyrill S. Rogacev, John Pickering, Sarah Seiler, Adam M. Zawada, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Ist die Verwendung der CKD-EPI-Formel basierend auf Cystatin C und Kreatinin sinnvoll im klinischen Alltag?

Jahrestagung der Arbeitsgemeinschaft „Junge Niere“

15.06. - 16.06.2013 in Regensburg (Freier Vortrag)

Insa E. Emrich, Sarah Seiler, Kyrill S. Rogacev, John Pickering, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Ist die Kreatinin und - Cystatin C - basierte CKD-EPI-Formel gegenüber der Kreatinin-basierten MDRD-Formel besser geeignet, die renale Prognose bei chronischer Nierenerkrankung abzuschätzen?

57. Jahrestagung der Saarländisch-Pfälzischen InternistenGesellschaft e.V.

07.03. - 09.03.2013 in Neustadt an der Weinstraße (Posterpräsentation mit Posterpreis)

Insa E. Emrich, Sarah Seiler, Kyrill S. Rogacev, John Pickering, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Prognostische Bedeutung einer Reklassifikation chronisch nierenkranker Menschen nach der Kreatinin- und Cystatin- basierten CKD-EPI-Formel.

119. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V.

06.04. - 09.04.2013 in Wiesbaden (Posterpräsentation)

Insa E. Emrich, John Pickering, Sarah Seiler, Kyrill S. Rogacev, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Die  $CKD-EPI_{Krea-Cys}$  Formel erlaubt eine präzisere kardiovaskuläre Prognoseabschätzung chronisch nierenkranker Patienten als die MDRD Formel.

5. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie

05.10. - 08.10.2013 in Berlin (Posterpräsentation)

Insa E. Emrich, Kyrill S. Rogacev, Sarah Seiler, Adam M. Zawada, Danilo Fliser, Gunnar H. Heine. Erlaubt die BIS-2-Formel eine bessere kardiovaskuläre und renale Prognoseabschätzung als die  $CKD-EPI_{Krea-Cys}$  Formel?

120. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V.

26.04. – 29.04.2014 in Wiesbaden (angenommen als ‚Freier Vortrag‘ im Rahmen des Young Investigator Awards aus dem Schwerpunkt „Epidemiologie / Versorgungsforschung“)

## **10. Lebenslauf**