

Aus dem Klinikum Stuttgart  
Akademisches Lehrkrankenhaus der Universität Tübingen  
Zentralinstitut für Klinische Chemie und  
Laboratoriumsmedizin

**Vergleich von ausgewählten Serumparametern  
der Lipoproteinoxidation und Inflammation  
bei Nierentransplantierten  
in der stabilen Posttransplantationsphase und  
bei Patienten mit Metabolischem Syndrom**

**Inaugural-Dissertation  
zur Erlangung des Doktorgrades  
der Medizin**

**der Medizinischen Fakultät  
der Eberhard Karls Universität  
zu Tübingen**

**vorgelegt von**

**Häfner, Simone Johanna**

**2018**

Dekan:	Professor Dr. I. B. Autenrieth
1. Berichterstatter:	Professor Dr. E. Wieland
2. Berichterstatter:	Privatdozentin Dr. M. Guthoff
Tag der Disputation:	21.02.2018

Meiner Mutter  
in Liebe und Dankbarkeit



# I Inhaltsverzeichnis

<b>I</b>	<b>INHALTSVERZEICHNIS .....</b>	<b>I</b>
<b>II</b>	<b>ABBILDUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>III</b>
<b>III</b>	<b>TABELLENVERZEICHNIS .....</b>	<b>IV</b>
<b>IV</b>	<b>ABKÜRZUNGSVERZEICHNIS .....</b>	<b>V</b>
<b>V</b>	<b>PHYSIKALISCHE EINHEITEN UND STATISTISCHE MAßZAHLEN .....</b>	<b>VIII</b>
<b>1</b>	<b>EINLEITUNG .....</b>	<b>1</b>
1.1	Atherosklerose .....	1
1.2	Lipoproteinoxidation und Atherosklerose .....	5
1.2.1	Lipoproteine .....	5
1.2.2	Oxidierete Lipoproteine geringer Dichte (oxLDL) .....	8
1.3	IgG-Autoantikörper gegen oxLDL (anti-oxLDL-IgG) und Atherosklerose .....	13
1.4	Hochsensitives C-reaktives Protein (hsCRP) und Atherosklerose .....	16
1.5	Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko .....	20
1.5.1	Metabolisches Syndrom.....	20
1.5.2	Stabile Posttransplantationsphase nach Nierentransplantation ..	22
1.6	Zielsetzung der Arbeit .....	25
<b>2</b>	<b>MATERIAL UND METHODEN .....</b>	<b>26</b>
2.1	Studienpopulation .....	26
2.1.1	Einschlusskriterien .....	26
2.1.2	Ausschlusskriterien .....	27
2.2	Studienablauf .....	29
2.2.1	Medizinische Daten.....	30
2.2.2	Klinische Untersuchung und Blutentnahme .....	30
2.3	Laborchemische Analysen .....	31
2.3.1	Übliche klinisch-chemische Parameter .....	31
2.3.2	OxLDL-Messung .....	33
2.3.3	Anti-oxLDL-IgG-Messung .....	36
2.4	Statistik.....	40
<b>3</b>	<b>ERGEBNISSE.....</b>	<b>44</b>
3.1	Patientencharakteristika.....	44
3.1.1	Blutdruckwerte, demografische und anthropometrische Daten... ..	44
3.1.2	Klinische Charakteristika.....	47
3.1.3	Laborchemische Werte .....	54
3.2	Vergleich von ausgewählten Serumparametern der Lipoproteinoxidation und Inflammation.....	58
3.2.1	OxLDL.....	58

# Inhaltsverzeichnis

---

3.2.2	Anti-oxLDL-IgG .....	62
3.2.3	HsCRP .....	66
<b>4</b>	<b>DISKUSSION.....</b>	<b>70</b>
4.1	Patientencharakteristika .....	70
4.2	OxLDL .....	72
4.2.1	Analysenmethoden zur Bestimmung von oxLDL .....	72
4.2.2	OxLDL bei der gesunden Kontrollgruppe .....	74
4.2.3	OxLDL bei der MetS-Gruppe .....	74
4.2.4	OxLDL bei den NT-Gruppen .....	77
4.3	Anti-oxLDL-IgG .....	79
4.3.1	Analysenmethoden zur Bestimmung von anti-oxLDL-IgG .....	79
4.3.2	Anti-oxLDL-IgG bei der gesunden Kontrollgruppe .....	81
4.3.3	Anti-oxLDL-IgG bei der MetS-Gruppe .....	82
4.3.4	Anti-oxLDL-IgG bei den NT-Gruppen.....	83
4.4	HsCRP .....	85
4.4.1	Analysenmethode zur Bestimmung von hsCRP .....	85
4.4.2	HsCRP bei der gesunden Kontrollgruppe .....	85
4.4.3	HsCRP bei der MetS-Gruppe.....	85
4.4.4	HsCRP bei den NT-Gruppen .....	87
4.5	Limitationen der Arbeit .....	89
<b>5</b>	<b>ZUSAMMENFASSUNG .....</b>	<b>91</b>
<b>VI</b>	<b>LITERATURVERZEICHNIS .....</b>	<b>XCIII</b>
<b>VII</b>	<b>POSTERPRÄSENTATIONEN .....</b>	<b>CIV</b>
<b>VIII</b>	<b>ANHANG.....</b>	<b>CV</b>
<b>IX</b>	<b>ERKLÄRUNG ZUM EIGENANTEIL .....</b>	<b>CXVII</b>
<b>X</b>	<b>DANKSAGUNG.....</b>	<b>CXVIII</b>

## II Abbildungsverzeichnis

Abb. 1.1 Entwicklung der atherosklerotischen Plaque, modifiziert nach [5].....	2
Abb. 1.2 Endogener Stoffwechselweg der Lipoproteine, modifiziert nach [23] ...	7
Abb. 1.3 Die Rolle von oxLDL in der Atherogenese, modifiziert nach [18] .....	11
Abb. 1.4 Die Rolle von anti-oxLDL-IgG-IK in der Atherogenese, in Anlehnung an [42] .....	15
Abb. 1.5 HsCRP als Biomarker der Atherosklerose, modifiziert nach [7,61] ....	18
Abb. 2.1 Prinzip eines Sandwich-ELISA, in Anlehnung an [90].....	33
Abb. 2.2 Prinzip eines indirekten ELISA.....	37
Abb. 2.3 Box-Whisker-Plot, in Anlehnung an [91].....	41
Abb. 3.1 Gewichtsverteilung gemäß der WHO-Klassifikation.....	46
Abb. 3.2 Therapieregime der nierentransplantierten Patienten .....	53
Abb. 3.3 LDL/HDL-Ratio im Gruppenvergleich.....	55
Abb. 3.4 Verteilung des logtransformierten oxLDL .....	60
Abb. 3.5 Mittelwerte mit Fehlerbalken von oxLDL .....	61
Abb. 3.6 Verteilung des logtransformierten anti-oxLDL-IgG .....	64
Abb. 3.7 Mittelwerte mit Fehlerbalken von anti-oxLDL-IgG .....	65
Abb. 3.8 Verteilung des logtransformierten hsCRP .....	68
Abb. 3.9 Mittelwerte mit Fehlerbalken von hsCRP .....	69

### III Tabellenverzeichnis

Tab. 1.1 Charakterisierung der Plasmalipoproteine, in Anlehnung an [3,20].....	5
Tab. 1.2 Effekte der Immunsuppressiva bei Nierentransplantierten [79] .....	24
Tab. 2.1 MetS-Definition nach modifizierten AHA/NHLBI-Kriterien [70,88] .....	27
Tab. 2.2 Ausschlusskriterien .....	28
Tab. 2.3 Aus der Krankenakte erfasste medizinische Daten .....	30
Tab. 2.4 Übliche klinisch-chemische Parameter.....	32
Tab. 2.5 Geräte, Materialien und Reagenzien der oxLDL-Messung.....	36
Tab. 2.6 Geräte, Materialien und Reagenzien der anti-oxLDL-IgG-Messung...	39
Tab. 2.7 Interpretation der Effektstärke Cohen's d, modifiziert nach [93] .....	43
Tab. 3.1 Blutdruckwerte, demografische und anthropometrische Daten .....	44
Tab. 3.2 WHO-Gewichtsklassifikation anhand des BMI [94] .....	45
Tab. 3.3 Diabetes mit Erkrankungsdauer und Folgeerkrankungen .....	47
Tab. 3.4 Mikroangiopathien .....	48
Tab. 3.5 Makroangiopathien.....	48
Tab. 3.6 Kardiovaskuläre und antidiabetische Medikation .....	49
Tab. 3.7 Primärerkrankungen sowie Dialyseart und -dauer .....	50
Tab. 3.8 Transplantationsart und -häufigkeit, Posttransplantationsdauer sowie Rejektionen .....	51
Tab. 3.9 Immunsuppressive Medikation.....	52
Tab. 3.10 Fett- und Glukosestoffwechselfparameter .....	54
Tab. 3.11 Entzündungsparameter .....	57
Tab. 3.12 Nierenfunktionsparameter .....	57
Tab. 3.13 Statistische Kennzahlen von oxLDL .....	58
Tab. 3.14 Effektstärke von oxLDL .....	59
Tab. 3.15 Statistische Kennzahlen von anti-oxLDL-IgG .....	62
Tab. 3.16 Post-hoc-Test und Effektstärke von anti-oxLDL-IgG .....	63
Tab. 3.17 Statistische Kennzahlen von hsCRP .....	66
Tab. 3.18 Post-hoc-Test und Effektstärke von hsCRP .....	67



## IV Abkürzungsverzeichnis

AAK	Autoantikörper
ADPKD	autosomal dominant polycystic kidney disease, autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung
AGE	advanced glycation end products
AHA	American Heart Association
AHT	arterielle Hypertonie
AK	Antikörper
ALT	Alanin-Aminotransferase
Ang II	Angiotensin II
ANOVA	analysis of variance, Varianzanalyse
anti-oxLDL-AK	Autoantikörper gegen oxidierte(s) Lipoprotein(e) geringer Dichte
anti-oxLDL-IgG	Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidierte(s) Lipoprotein(e) geringer Dichte
anti-oxLDL-IgG-IK	Immunkomplex(e) aus oxLDL und anti-oxLDL-IgG
ApoB-100	Apolipoprotein B-100
AS	Atherosklerose
AST	Aspartat-Aminotransferase
Aza	Azathioprin
BMI	Body Mass Index, Körpermassenindex
BOT	basal unterstützte orale Therapie
cAVK	cerebrale arterielle Verschlusskrankheit
CD 36	cluster of differentiation 36, Scavenger-Rezeptor Klasse B
CE	Cholesterinester
CHOL	Gesamtcholesterin
CM	Chylomikronen
CNI	Calcineurin-Inhibitor(en)
C-Peptid	connecting peptide
CRP	C-reactive protein, C-reaktives Protein
CsA	Cylosporin A, Ciclosporin
CT	konventionelle Insulintherapie
Cu-oxLDL	in vitro mittels Oxidation durch Kupfer hergestellte(s) oxLDL
CV	cardiovascular, kardiovaskulär
CVD	cardiovascular disease, Herz-Kreislauf-Erkrankung(en)
CVE	cardiovascular event, kardiovaskuläre(s) Ereignis(se)
CVR	cardiovascular risk, kardiovaskuläres Risiko
CVRF	cardiovascular risk factors, kardiovaskuläre Risikofaktoren
DM	Diabetes mellitus
DMT2	Diabetes mellitus Typ 2
DNA	deoxyribonucleic acid, Desoxyribonukleinsäure
dNP	diabetische Nephropathie
dPNP	diabetische Polyneuropathie
dRP	diabetische Retinopathie
EC	endothelial cell, Endothelzelle(n)
ED	endotheliale Dysfunktion

## Abkürzungsverzeichnis

---

EDTA	Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
eNOS	endothelial nitric oxide synthase, endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase
FcγR	Fc-gamma-Rezeptor
FFA	free fatty acid, freie Fettsäure(n)
FGF	fibroblast growth factor, Fibroblasten-Wachstumsfaktor
G-CSF	granulocyte colony-stimulating factor, Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
GLP-1	Glucagon-like Peptide-1
GMP	Guanosinmonophosphat
HbA1c	glykiertes Hämoglobin A
HDL	high density lipoprotein, Lipoprotein(e) hoher Dichte
HL	hepatische Lipase
HMG-CoA- Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
HRP	horseradish peroxidase, Meerrettichperoxidase
hsCRP	high-sensitivity C-reactive protein, hochsensitives C-reaktives Protein
ICAM-1	intercellular adhesion molecule-1, interzelluläres Adhäsionsmolekül-1
ICT	intensivierte konventionelle Insulintherapie
IDF	International Diabetes Federation
IDL	intermediate density lipoprotein, Lipoprotein(e) mittlerer Dichte
IFN-γ	Interferon-gamma
IgG; IgM	Immunglobulin G; Immunglobulin M
IK	Immunkomplex(e)
IL-1; IL-1β	Interleukin-1; Interleukin-1 beta
IL-2; IL-4; IL-6	Interleukin-2; Interleukin-4; Interleukin-6
IMPDH	Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase
KHK	koronare Herzkrankheit
LC-MS/MS	liquid chromatography tandem-mass spectrometry, Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie
LDL	low density lipoprotein, Lipoprotein(e) geringer Dichte
Lp(a)	Lipoprotein(a)
LPL	Lipoproteinlipase
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1, Makrophagen- Chemoattraktorprotein-1 oder CC-Chemokin-Ligand-2
M-CSF	macrophage colony-stimulating factor, Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor
MDA	Malondialdehyd
MDA-LDL	in vitro mit Malondialdehyd modifizierte(s) LDL
MetS	Metabolisches Syndrom
MMF	Mycophenolat-Mofetil
MMP	matrix-metalloproteinase, Matrix-Metalloprotease(n)

## Abkürzungsverzeichnis

---

moLDL	minimally oxidized low density lipoprotein, geringgradig oxidierte(s) Lipoprotein(e) geringer Dichte
MPA	mycophenolic acid, Mycophenolsäure
MPS	mycophenolate sodium, Mycophenolat-Natrium
NCEP-ATP III	National Cholesterol Education Program – Adult Treatment Panel III
NHLBI	National Heart, Lung and Blood Institute
NODAT	new-onset diabetes after transplantation, neu aufgetretener Diabetes mellitus nach Transplantation
NO	Stickstoffmonoxid
NT	Nierentransplantierte
NTx	Nierentransplantation
OAD	orales Antidiabetikum
OSE	oxidationsspezifische(s) Epitop(e)
oxLDL	(highly) oxidized low density lipoprotein, (hochgradig) oxidierte(s) Lipoprotein(e) geringer Dichte
oxLDL-IK	Immunkomplex(e) aus oxLDL und anti-oxLDL-Antikörper
oxPL	oxidierte Phospholipide
PAI-1	Plasminogenaktivator-Inhibitor-1
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PDGF	platelet-derived growth factor, Blutplättchen-Wachstumsfaktor
PL	Phospholipide
Pred	Prednisolon
ROS	reactive oxygen species, reaktive Sauerstoffspezies
RR	Blutdruck
sdLDL	small, dense low density lipoprotein, kleine(s), dichte(s) Lipoprotein(e) geringer Dichte
SIT	supplementäre Insulintherapie
SMC	smooth muscle cell, glatte Muskelzelle(n)
SR	Scavenger-Rezeptor(en);
SR-A	Scavenger-Rezeptor(en) Klasse A
SR-B1	Scavenger-Rezeptor Klasse B Typ 1 = HDL-Rezeptor
Tac	Tacrolimus
TG	Triglyceride
T <sub>H</sub> 1-/T <sub>H</sub> 2-Zellen	Typ 1- bzw. Typ 2-Helferzellen
TMB	Tetramethylbenzidin
TNF- $\alpha$	Tumor-Nekrose-Faktor-alpha
TSH	Thyreoidea-stimulierendes Hormon
TZ	Thrombozyten
VCAM-1	vascular cell adhesion molecule-1, vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1
VLDL	very low density lipoprotein, Lipoprotein(e) sehr geringer Dichte
vs.	versus
WHO	World Health Organization, Weltgesundheitsorganisation

## V Physikalische Einheiten und statistische Maßzahlen

kg	Kilogramm	SI-Basiseinheit der Masse
g	Gramm	SI-Einheit der Masse, $1 \text{ g} = 10^{-3} \text{ kg}$
mg	Milligramm	SI-Einheit der Masse, $1 \text{ mg} = 10^{-6} \text{ kg}$
$\mu\text{g}$	Mikrogramm	SI-Einheit der Masse, $1 \text{ mg} = 10^{-9} \text{ kg}$
ng	Nanogramm	SI-Einheit der Masse, $1 \text{ ng} = 10^{-12} \text{ kg}$
pg	Pikogramm	SI-Einheit der Masse, $1 \text{ pg} = 10^{-15} \text{ kg}$
s	Sekunde	SI-Basiseinheit der Zeit
min	Minute	SI-Einheit der Zeit, $1 \text{ min} = 60 \text{ s}$
m	Meter	SI-Basiseinheit der Länge
cm	Zentimeter	SI-Einheit der Länge, $1 \text{ cm} = 10^{-2} \text{ m}$
mm	Millimeter	SI-Einheit der Länge, $1 \text{ mm} = 10^{-3} \text{ m}$
nm	Nanometer	SI-Einheit der Länge, $1 \text{ nm} = 10^{-9} \text{ m}$
$\text{m}^2$	Quadratmeter	Einheit der Fläche
l	Liter	Einheit des Volumens
dl	Deziliter	Einheit des Volumens, $1 \text{ dl} = 10^{-1} \text{ l}$
ml	Milliliter	Einheit des Volumens, $1 \text{ ml} = 10^{-3} \text{ l}$
$\mu\text{l}$	Mikroliter	Einheit des Volumens, $1 \text{ ml} = 10^{-6} \text{ l}$
mol	Mol	SI-Basiseinheit der Stoffmenge
mmol	Millimol	SI-Einheit der Stoffmenge, $1 \text{ mmol} = 10^{-3} \text{ mol}$
$^{\circ}\text{C}$	Grad Celcius	Einheit der Temperatur
rpm	revolutions per minute	Einheit der Frequenz, $1 \text{ rpm} = 1/\text{min} = \text{min}^{-1}$ , Umdrehungen pro Minute.
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule	Einheit des statischen Drucks
u	unified atomic mass unit (Dalton)	Einheit der Masse, 1/12 der Masse des Kohlenstoffatoms, $1 \text{ u} = 1,66 \times 10^{-27} \text{ kg}$
mu	milliunit	Einheit der Masse, $1 \text{ mu} = 10^{-3} \text{ u} = 1,66 \times 10^{-30} \text{ kg}$
lg	dekadischer Logarithmus	Logarithmus zur Basis 10, $\lg 1 = 10^1$
n	Stichprobenumfang	Anzahl Personen einer Stichprobe
M	arithmetisches Mittel	Lagemaß
Md	Median	Lagemaß
SD	standard deviation	Streumaß, Standardabweichung
IQR	interquartile range	Streumaß, Interquartilbereich
EK	excess kurtosis	Formmaß, Exzess oder Überkurtosis: Abweichung von der Kurtosis der Normalverteilung: $k - 3 = 0$
SK	skewness	Formmaß, Schiefe
d	Cohen´s d	Maßzahl der Effektstärke
F	F-Wert	Prüfgröße der induktiven Statistik
KI	Konfidenzintervall	Bereich des Schätzwerts eines statistischen Parameters, der bei einer gewählten Wahrscheinlichkeit für die Grundgesamtheit zutrifft.

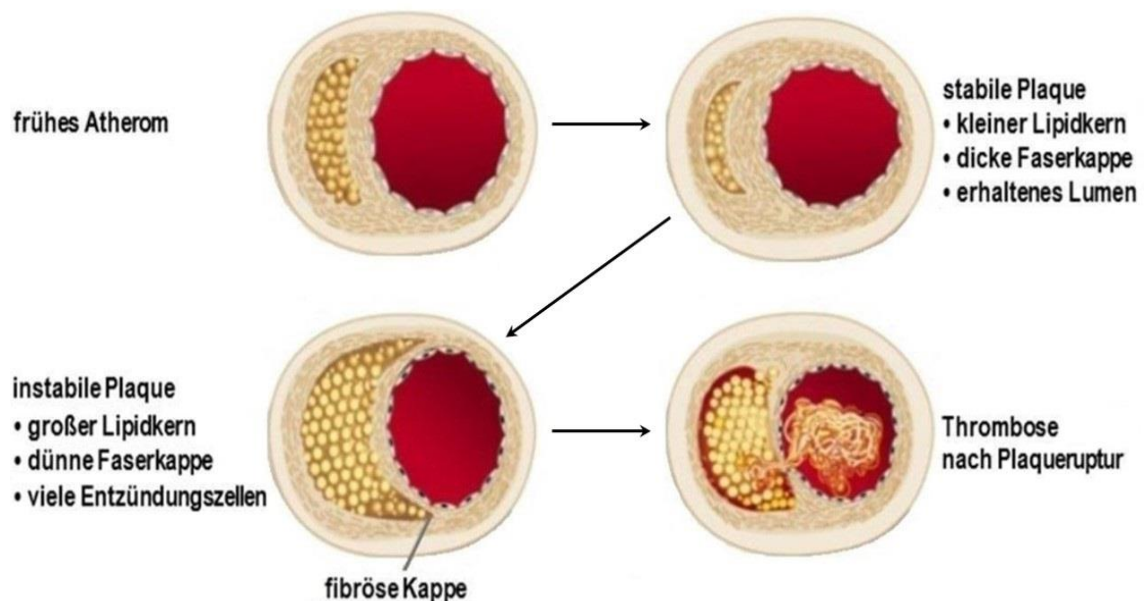
# 1 Einleitung

## 1.1 Atherosklerose

Die Atherosklerose (AS) ist die häufigste chronische arterielle Gefäßerkrankung und mit ihren Folgeerkrankungen sowohl in Europa als auch in den USA für die meisten Todesfälle verantwortlich [1–3]. Die Volkskrankheit manifestiert sich vor allem an den Herzkranzarterien, wo sie als koronare Herzkrankheit (KHK) bezeichnet wird und unter anderem zum akuten Myokardinfarkt oder plötzlichen Herztod führen kann. Tritt sie an den hirnversorgenden Arterien auf, besteht eine cerebrale arterielle Verschlusskrankheit (cAVK), die in der Folge einen ischämischen Schlaganfall auslösen kann. Kommt die AS an den Extremitätenarterien vor, so handelt es sich um die periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK). Die vorgenannten Erkrankungen werden, weil sie sich an großen Arterien manifestieren, auch unter dem Begriff Makroangiopathien zusammengefasst. Kommt es bei Diabetikern dagegen zu stenosierenden Veränderungen kleiner Gefäße, den Arteriolen und Kapillaren, spricht man von Mikroangiopathien. Diese finden sich am häufigsten an Niere, Netzhaut und peripheren Nerven der unteren Extremität und werden entsprechend ihrer Lokalisation als diabetische Nephropathie (dNP), diabetische Retinopathie (dRP) und diabetische Polyneuropathie (dPNP) bezeichnet [3].

Von der Weltgesundheitsorganisation (WHO) wird die AS als „variable Kombination von Intimaveränderungen der Arterien, bestehend aus herdförmigen Ansammlungen von Lipiden, komplexen Kohlenhydraten, Blut und Blutbestandteilen, Bindegewebe und Kalziumablagerungen, verbunden mit Veränderungen der Arterienmedia“ definiert [4]. Solche pathologischen Gefäßwandveränderungen bestehen aus einem lipidreichen nekrotischen Kern mit einer Bindegewebskappe und werden als atherosklerotische Plaques bezeichnet [5]. Die Plaquebildung in der Gefäßwand der großen Arterien kann bereits im Kindes- oder Jugendalter beginnen und als chronischer Prozess über Jahrzehnte hin symptomlos fortschreiten [6,7]. Im Erwachsenenalter manifestiert sich die AS durch die vorgenannten makroangiopathischen Erkrankungen, die zusammenfassend auch als Herz-Kreislauf-Erkrankungen (CVD) bezeichnet werden, wobei

die Häufigkeit kardiovaskulärer Ereignisse (CVE) wie Herzinfarkt oder Schlaganfall mit zunehmendem Alter ansteigt [8]. Das Auftreten solcher CVE hängt hauptsächlich von der Zusammensetzung und Stabilität der Plaque und weniger vom Stenierungsgrad ab [5]. Je kleiner der nekrotische Kern, d. h. je geringer der Anteil an Lipiden und Entzündungszellen und je dicker die Bindegewebskappe, desto stabiler ist die Plaque. Je dünner die Faserkappe und je höher die Zahl der Entzündungszellen im nekrotischen Kern, desto instabiler ist die Plaque und desto höher ist die Gefahr der Ruptur mit nachfolgender okklusiver Gefäßthrombosierung. Die durch den Thrombus entstandene Minderperfusion führt zur Ischämie des Versorgungsgebietes des jeweiligen Organs, die sich klinisch als Akutkomplikation wie Herzinfarkt, ischämischer Insult oder Tod manifestiert [5,6,9]. Abb. 1.1 zeigt die Entwicklung einer Plaque.



**Abb. 1.1 Entwicklung der atherosklerotischen Plaque, modifiziert nach [5]**

In der arteriellen Gefäßwand entsteht in der Intima über Bildung von Schaumzellen ein frühes Atherom, das sich zu einer stabilen Plaque mit kleinem Lipidkern, dicker Faserkappe und erhaltenem Gefäßlumen entwickelt. Wird die Plaque bei zunehmendem Lipidkern mit vielen Entzündungszellen und dünner Faserkappe instabil, führt dies zur Ruptur mit Entleerung ihres Inhalts ins Lumen, worauf sich eine Thrombose mit nachfolgender Gefäßokklusion bildet. Je nach Lokalisation entstehen Akutkomplikationen wie Myokardinfarkt, ischämischer Insult oder Tod [5,9].

Das Verständnis von der Pathogenese der AS hat sich in den letzten Jahrzehnten tiefgreifend gewandelt. Wurde die AS früher lediglich für eine Lipidspeicherkrankheit gehalten, so geht man heute davon aus, dass es sich um eine chronisch-entzündliche Gefäßerkrankung mit immunologischer Komponente handelt, an der neben modifizierten Lipoproteinen geringer Dichte (LDL) eine Vielzahl von Zellen und Mediatoren beteiligt sind [5,7,10,11]. Ross begründete die Hypothese, dass die AS eine entzündliche Reaktion auf eine endotheliale Dysfunktion (*response to injury*) sei [12]. BROWN und GOLDSTEIN entdeckten, dass Makrophagen *in vitro* modifizierte LDL nicht über den regulären LDL-Rezeptor, sondern über einen alternativen Rezeptor aufnehmen [13], der wegen seines breiten Ligandenspektrums als Scavenger-Rezeptor (*scavenger, engl.: Straßenkehrer*) bezeichnet wird [14]. Inzwischen sind verschiedene Klassen der Scavenger-Rezeptoren (SR) bekannt [14,15]. Zur LDL-Modifikation *in vivo* berichteten STEINBERG ET AL., dass mittels Oxidation veränderte LDL über SR von Makrophagen aufgenommen werden, wobei Schaumzellen entstehen [16]. STEINBERG begründete die Hypothese, dass die oxidative Modifikation von LDL Ausgangspunkt der Plaque-Bildung und damit der AS sei [14,17]. In verschiedenen klinischen Studien wurde daraufhin untersucht, ob CVE durch Gabe eines Antioxidans, beispielsweise Vitamin E, reduziert werden können. Bei einer Meta-Analyse von n = ca. 80000 gesunden Studienteilnehmern konnte jedoch kein positiver Einfluss auf das kardiovaskuläre (CV)-Outcome festgestellt werden. Bei Hochrisikopatienten mit dialysepflichtiger terminaler Niereninsuffizienz oder mit Diabetes mellitus mit dem Haptoglobin 2-2-Genotyp wurde allerdings durch Gabe von Vitamin E eine Reduktion der CVE von beachtlichen 47 % bis 70 % erreicht [14,18].

Kardiovaskuläre Risikofaktoren (CVRF), also Faktoren, die das Risiko für das Auftreten einer CVD erhöhen, wurden erstmals im Rahmen der FRAMINGHAM-STUDIE untersucht [19]. Inzwischen wurden auch bei anderen epidemiologischen Studien zahlreiche CVRF ermittelt, die sich in ihrer proatherogenen Wirkung an der Gefäßwand nicht einfach nur addieren, sondern in komplexer Weise potenzieren. Zu den bisher bekannten CVRF zählen beispielsweise die arterielle

Hypertonie (AHT), die Dyslipidämie mit erhöhten LDL und erniedrigten Lipoproteinen hoher Dichte (HDL), der Nikotinabusus sowie der Diabetes mellitus (DM) [6]. Der DM stellt ein KHK-Äquivalent dar, weshalb Diabetiker auch als Hochrisikopatienten bezeichnet werden [20]. Weitere CVRF sind männliches Geschlecht, höheres Lebensalter, positive Familienanamnese für frühzeitige CVE, Hypertriglyceridämie [8], familiäre Hypercholesterinämie, verursacht durch einen genetisch bedingten LDL-Rezeptor-Defekt [20], Depression und erhöhtes Lipoprotein(a) (Lp(a)) [6]. Außerdem ist das kardiovaskuläre Risiko (CVR) erhöht bei der Adipositas und dem Metabolischen Syndrom, ebenso bei chronischen, systemischen, subklinischen Entzündungsprozessen, bei bestimmten Infektionserregern und bei der Hyperhomocysteinämie [6]. Zur Einschätzung des individuellen CVR ist immer das Gesamtrisiko (*global risk*) zu bewerten, nicht nur einzelne CVRF [8].

Ein erhöhter LDL-Wert im Plasma wurde bei 70 % der Patienten, die an einer KHK erkrankt waren, festgestellt [8]. ASSMANN ET AL. berichteten, dass das Risiko, innerhalb von 8 Jahren als Erstereignis einen Herzinfarkt oder einen plötzlichen Herztod zu erleiden, bei denjenigen Teilnehmern der PROCAM-STUDIE, die einen LDL-Wert > 163 mg/dl hatten, 4,3-mal so hoch war, wie bei solchen, die einen LDL-Wert < 133 mg/dl aufwiesen [21]. Je nach Ursache werden die Lipoprotein-stoffwechselstörungen in primäre, d.h. genetisch bedingte, und in sekundäre, d. h. durch eine andere Grunderkrankung oder durch Medikamente ausgelöste, Hyperlipoproteinämien eingeteilt. Zu den genetisch bedingten Ursachen gehört ein autosomal-dominant vererbter LDL-Rezeptor-Defekt, der unbehandelt schon bei Kindern zu einem Myokardinfarkt führt [8,20]. Die Therapie der genetisch bedingten Hyperlipoproteinämie besteht in der LDL-Apherese, z. B. mittels Heparin-induzierter extrakorporaler LDL-Präzipitation (HELP), bei der bis zu 70 % der LDL extrakorporal eliminiert werden [8] und die gemäß einer Untersuchung von WIELAND ET AL. als sicher und biokompatibel eingestuft werden kann [22]. Sekundäre Hyperlipoproteinämien, welche durch Erkrankungen wie DM oder Niereninsuffizienz sowie durch Medikamente wie Immunsuppressiva bedingt sind, können im Gegensatz hierzu entweder durch Therapie der Grunderkrankung oder durch lipidsenkende Medikamente behandelt werden [8,20].



## 1.2 Lipoproteinoxidation und Atherosklerose

### 1.2.1 Lipoproteine

Lipoproteine stellen die wasserlösliche Transportform der hydrophoben Lipide dar, die wichtigster Energielieferant des Organismus und Bestandteil von Zellmembranen, Steroidhormonen und Gallensäure sind [8,20]. Zusammengesetzt sind die Lipoproteine aus einem hydrophoben Kern von Cholesterinestern (CE) und Triglyceriden (TG) sowie aus einer hydrophilen Hülle aus Cholesterin, Phospholipiden (PL) und Proteinen, den sog. Apolipoproteinen [20]. Apolipoproteine tragen als hydrophile Strukturproteine neben dem Transport der Lipide zu verschiedenen Organen und Geweben auch als Rezeptor-Liganden zur Lipidaufnahme in die Zelle bei. Darüber hinaus modulieren sie die Aktivität von Enzymen des Lipoproteinstoffwechsels [8,20]. Je nach Lipid- und Proteinzusammensetzung variieren die Plasmalipoproteine hinsichtlich ihrer Dichte. Deshalb werden sie gemäß ihrem Dichtegradient in der Ultrazentrifuge, wobei mit zunehmendem Proteinanteil die Dichte ansteigt, in fünf Hauptklassen eingeteilt, nämlich in Chylomikronen (CM), in Lipoproteine sehr geringer Dichte (VLDL), in Lipoproteine mittlerer Dichte (IDL), in Lipoproteine geringer Dichte (LDL) und in Lipoproteine hoher Dichte (HDL) [3,8]. Tab. 1.1 zeigt eine Übersicht über die Lipoproteine sowie ihre Lipid- und Proteinzusammensetzung.

**Tab. 1.1 Charakterisierung der Plasmalipoproteine, in Anlehnung an [3,20]**

Lipoproteine (Klassen)	Dichte (g/ml)	Lipide (%)	hoher Lipidanteil	Proteine (%)	Apolipoproteine (wichtigste)
CM	< 0,950	99	TG, exogen	1	A-I, B-48, C-I, C-II, C-III, E
VLDL	0,950 - 1,006	87	TG, endogen	13	B-100, C-I, C-II, C-III, E
IDL	1,007 - 1,019	82	CE	18	B-100, E
LDL	1,020 - 1,063	75	CE	25	B-100
HDL	> 1,063	50	PL, CE	50	A-I, A-II, C-I, C-II, C-III, D, E

Abkürzungen: CM, Chylomikronen; VLDL, Lipoproteine sehr geringer Dichte; IDL, Lipoproteine mittlerer Dichte; LDL, Lipoproteine geringer Dichte; HDL, Lipoproteine hoher Dichte; CE, Cholesterinester; TG, Triglyceride; PL, Phospholipide; A-I, Apolipoprotein A-I; A-II, Apolipoprotein A-II; B-100, Apolipoprotein B-100; B-48, Apolipoprotein B-48; C-I, Apolipoprotein C-I; C-II, Apolipoprotein C-II; C-III, Apolipoprotein C-III; D, Apolipoprotein D; E, Apolipoprotein E.

Je nach Bildungsort und Transportrichtung werden verschiedene Stoffwechselwege der Lipoproteine unterschieden, nämlich exogener und endogener Stoffwechselweg sowie reverser Cholesterintransport.

Beim exogenen Stoffwechselweg werden im Darm aus resorbierten Nahrungsfetten CM gebildet und über das Lymphsystem ins Blut transportiert, wo sie von der Lipoproteinlipase (LPL) an peripheren Blutkapillaren gespalten und nach Abgabe freier Fettsäuren (FFA) als sog. Remnants von der Leber aufgenommen werden [8,20].

Beim endogenen Stoffwechselweg werden in der Leber VLDL, die 60 % TG, 20% CE sowie Apolipoprotein B-100 (ApoB-100) enthalten [8], gebildet und über das Blut in die Peripherie transportiert [20]. Dort werden die TG der VLDL durch die an Blutkapillaren gebundene LPL aufgespalten. Hierbei entstehen FFA, die zur Energieversorgung genutzt werden können [20,23]. Das Zwischenprodukt IDL wird entweder wieder von der Leber über verschiedene Rezeptoren aufgenommen oder von der hepatischen Lipase weiter zu LDL aufgespalten [8,23]. Durch Bindung von ApoB-100 an den ubiquitären LDL-Rezeptor geben LDL Cholesterin an periphere Zellen ab [8,20,23]. LDL transportieren 80 % des gesamten, im Blut vorhandenen Cholesterins [8]. Eliminiert werden LDL vor allem von der Leber, wo sie an den LDL-Rezeptor binden, der sie konzentrationsabhängig aus dem Blut aufnimmt. Die Leber reguliert die Cholesterinkonzentration im Blut nicht nur dadurch, dass sie LDL aufnimmt, sondern auch dadurch, dass sie Cholesterin selbst produziert. Die 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMG-CoA-Reduktase) stellt dabei das Schlüsselenzym der intrazellulären Cholesterinsynthese in der Leber dar [8].

Beim reversen Cholesterintransport nehmen HDL, die in Leber und Darm gebildet werden, die CE aus peripheren Zellen, Makrophagen oder Schaumzellen wieder auf und geben sie entweder über das Cholesterinester-Transferprotein an VLDL ab und erhalten im Austausch TG oder transportieren sie zur Leber zurück, wo die CE über den HDL-Rezeptor (SR-B1) aufgenommen und mit der Gallensäure ausgeschieden werden [3,8,20,23].

In Abb. 1.2 ist der endogene Stoffwechselweg der Lipoproteine schematisch dargestellt.

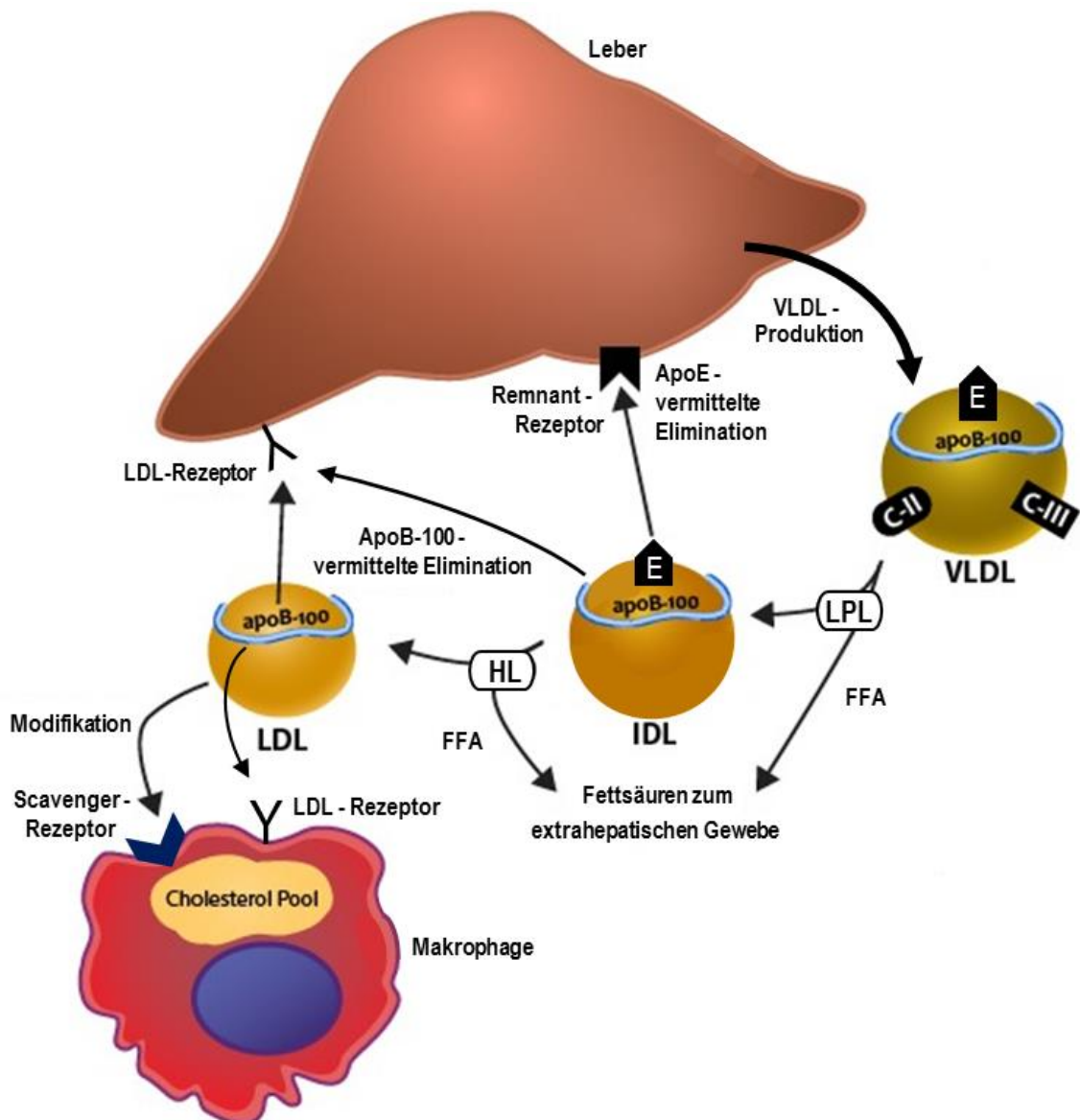


Abb. 1.2 Endogener Stoffwechselweg der Lipoproteine, modifiziert nach [23]

Abkürzungen: VLDL, Lipoproteine sehr geringer Dichte; IDL, Lipoproteine mittlerer Dichte; LDL, Lipoproteine geringer Dichte; apoB-100, Apolipoprotein B-100; C-II, Apolipoprotein C-II; C-III, Apolipoprotein C-III; E, Apolipoprotein E; LPL, Lipoproteinlipase; FFA, freie Fettsäuren; HL, hepatische Lipase.

ApoB-100 haltige VLDL werden in der Leber gebildet und ins Blut abgegeben. In der Peripherie spaltet die an Blutkapillaren gebundene LPL die Triglyceride der VLDL auf, damit die Zellen die FFA verwerten können. Das Zwischenprodukt IDL wird entweder von der Leber über verschiedene Rezeptoren aufgenommen oder von der HL weiter gespalten, sodass cholesterinreiche LDL entstehen. Zirkulierende LDL geben durch ApoB-100-vermittelte Bindung an den ubiquitären LDL-Rezeptor Cholesterin an periphere Zellen ab oder werden von der Leber aufgenommen. Werden LDL modifiziert und von Makrophagen phagozytiert, entstehen cholesterinhaltige Schaumzellen [8,23].

Werden LDL modifiziert, kann das zugehörige ApoB-100 nicht mehr vom LDL-Rezeptor, sondern nur noch von Multiligandenrezeptoren der Makrophagen erkannt werden [8,23]. Mögliche Modifikationsformen von LDL sind Glykosylierung bei Hyperglykämie, Carbamylierung bei Hyperurikämie, Glykoxydation, also Glykosylierung mit anschließender Oxidation, Acetylierung, Ethylierung oder Methylierung. Die häufigste Modifikation von LDL in vivo ist die Oxidation durch reaktive Sauerstoffspezies (ROS), wobei oxidierte LDL entstehen [24].

### **1.2.2 Oxidierte Lipoproteine geringer Dichte (oxLDL)**

OxLDL stellen eine heterogene Gruppe oxidativ modifizierter LDL dar, die sich bezüglich ihres Oxidationsgrades, ihrer Struktur und ihrer Funktion unterscheiden. Der Oxidationsgrad hängt maßgeblich von der Anzahl der in den LDL vorhandenen Antioxidantien ab, weiterhin von der LDL-Partikelgröße sowie der ernährungsabhängigen Lipidzusammensetzung innerhalb der nativen LDL. Die Oxidationsstufen reichen von geringgradig oxidiert (minimally oxidized LDL, moLDL) bis hochgradig oxidiert (highly oxidized LDL, oxLDL) [6,15,25]. Da die Oxidation im subendothelialen Raum von Arterien stattfindet, befinden sich oxLDL hauptsächlich im Gewebe [15,26]. Gelangen sie aus der Intima ins Blut, weisen sie dort eine kurze Halbwertszeit auf, da sie entweder vom retikuloendothelialen System aus der Zirkulation entfernt [26] oder von Autoantikörpern in Immunkomplexen (IK) gebunden werden (oxLDL-IK) [27]. Über 90 % des sich im Plasma befindlichen oxLDL sind in IK gebunden [28]. In der atherosklerotischen Plaque können oxLDL sowohl in ungebundener Form [29] als auch in oxLDL-IK nachgewiesen werden [30].

Voraussetzung für die Oxidation von Lipoproteinen in der Intima der Gefäßwand ist die endotheliale Dysfunktion (ED), welche durch die in Kapitel 1.1 genannten CVRF oder durch hämodynamische Aspekte hervorgerufen wird [18]. Die ED löst eine Permeabilitätssteigerung des Endothels aus, mit der Folge, dass native LDL aus dem Plasma konzentrationsabhängig in die Intima der Gefäßwand diffundieren, wo sie von Proteoglykanen durch Bindung an ApoB-100 in der Matrix retiniert werden (*trapping*) [6]. Die endotheliale 12/15-Lipoxygenase oxidiert native LDL,

sodass zunächst moLDL entstehen [6,31]. Auch HDL können aus dem Blut passiv in die Intima diffundieren. Dort wirken sie als Gegenspieler zu LDL dadurch antiatherogen, dass ihr Enzym Paraoxonase-1 die Oxidation von LDL hemmt sowie den Cholesterinanteil aus LDL aufnimmt und zur Leber zurücktransportiert [6].

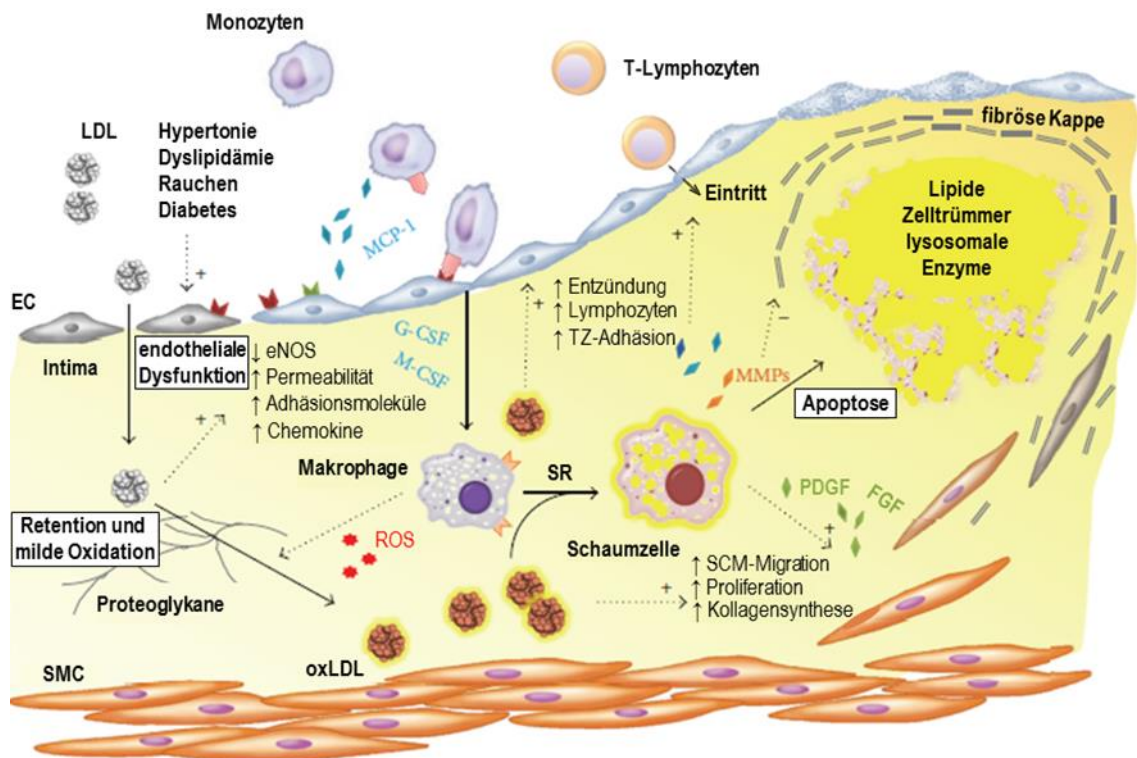
MoLDL wirken proinflammatorisch, indem sie Endothelzellen (EC) sowohl zur Sekretion von Chemokinen, wie Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1 (MCP-1), und von Wachstumsfaktoren, wie Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor (M-CSF), als auch zur Expression von Adhäsionsmolekülen, wie E-Selektin, P-Selektin, interzelluläres Adhäsionsmolekül-1 (ICAM-1) und vaskuläres Zelladhäsionsmolekül-1 (VCAM-1), anregen [6]. Darüber hinaus hemmen moLDL die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS), was zu einer Abnahme des vasoprotektiven Stickstoffmonoxids (NO) und somit zu Progression der ED im Sinne einer Permeabilitätssteigerung führt [6]. Aufgrund der nur geringgradigen Oxidation ihres ApoB-100 werden moLDL nach wie vor vom LDL-Rezeptor erkannt und konzentrationsabhängig aufgenommen, sodass es nicht zu einer Schaumzellbildung kommen kann [15].

Auch Monozyten und T-Lymphozyten gelangen in die Intima. Sie kommen zunächst über Selektine mit der Endotheloberfläche in Kontakt (*rolling*). Dann binden Monozyten über das auf ihrer Zelloberfläche vorhandene Integrin  $\alpha 4\beta 1$  (VLA-4) an das endotheliale Adhäsionsmolekül VCAM-1 [6] und gelangen mittels Diapedese entlang eines MCP-1-Gradienten in die Intima, wo sie sich unter dem Einfluss von M-CSF zu Makrophagen ausdifferenzieren [32]. Auch T-Lymphozyten adhäreren über VCAM-1 am Endothel und treten mittels Diapedese entlang eines Konzentrationsgradienten aus Chemokinen in die Gefäßwand ein [5].

In der Intima befindliche Makrophagen sezernieren ROS, Zytokine, z. B. Interleukin-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) und Tumor-Nekrose-Faktor- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) [18], Proteoglykane sowie M-CSF. Sie erhalten und verstärken somit die Prozesse der Lipoprotein-oxidation und der Inflammation [6]. Darüber hinaus präsentieren sie den eingewanderten T-Lymphozyten oxidiertes ApoB-100, was zu deren Aktivierung

und Ausdifferenzierung in unterschiedliche Subgruppen wie Typ1- und Typ 2-Helferzellen ( $T_{H1}$ - und  $T_{H2}$ -Zellen) führt. Die  $T_{H1}$ -Zellen produzieren wiederum proinflammatorische Zytokine wie  $TNF-\alpha$ , Tumor-Nekrose-Faktor- $\beta$  [12] und Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) [5], das u. a. die SR-Expression induziert [6]. Die  $T_{H2}$ -Zellen tragen nicht nur zur Aktivierung der B-Zellen und zu deren Transformation in Antikörper (AK)-produzierende Plasmazellen bei, sondern ermöglichen auch durch Sekretion verschiedener Interleukine, wie Interleukin-4 (IL-4), den AK-Klassenwechsel von Immunglobulin M (IgM) zu Immunglobulin G (IgG) [11,33].

MoLDL werden durch ROS, aber auch durch Enzyme wie Myeloperoxidase, Sphingomyelinase oder sekretorische Phospholipase-2 hochgradig oxidiert (oxLDL) [6]. Der ApoB-100-Anteil wird dadurch so stark modifiziert, dass oxLDL ihre Konformation ändern und eine negative Ladung annehmen. Daher werden sie nicht mehr vom LDL-Rezeptor, sondern von SR, vor allem der Klassen A (SR-A) und B (CD 36), erkannt und aufgenommen [14,26]. Die SR auf der Zelloberfläche von Makrophagen werden trotz zunehmender intrazellulärer Cholesterinmenge nicht herunter reguliert (fehlender negativer Feedback-Mechanismus) [14], sodass die Makrophagen oxLDL konzentrationsunabhängig aufnehmen, was zur intrazellulären Akkumulation von CE führt [18]. Die nunmehr lipidbeladenen Makrophagen werden, weil ihr CE-reiches Zytosol unter dem Mikroskop schaumig aussieht, als Schaumzellen bezeichnet [5]. Das makroskopische Korrelat von Schaumzellansammlungen in der Intima sind sog. Fettstreifen (*fatty streaks*), die bereits bei Jugendlichen auftreten [32]. Weiterhin können auch glatte Muskelzellen (SMC) SR exprimieren, oxLDL unreguliert phagozytieren und sich zu Schaumzellen entwickeln [14]. Indem Schaumzellen proinflammatorische Zytokine, wie IL-1 $\beta$ ,  $TNF-\alpha$  und Interleukin-6 (IL-6), sezernieren, welche die Produktion Akuter-Phase-Proteine, wie C-reaktives Protein oder Fibrinogen, in der Leber stimulieren [7] und das Chemokin MCP-1 ausschütten, welches weitere Monozyten zur Immigration in die Intima animiert [12], halten sie den Entzündungsprozess aufrecht. OxLDL tragen außer zur Schaumzellbildung in vielfältiger Weise zur Initiierung, Progression und Komplikation von atherosklerotischen Plaques bei, wie in Abb. 1.3 schematisch dargestellt.



**Abb. 1.3 Die Rolle von oxLDL in der Atherogenese, modifiziert nach [18]**

Abkürzungen: LDL, Lipoproteine geringer Dichte; EC, Endothelzelle; SMC, glatte Muskelzelle; eNOS, endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase; ROS, reaktive Sauerstoffspezies; oxLDL, oxidierte Lipoproteine geringer Dichte; MCP-1, Makrophagen-Chemoattraktorprotein-1; G-CSF, Granulozyten-Kolonie-stimulierender Faktor; M-CSF, Monozyten-Kolonie-stimulierender Faktor; TZ, Thrombozyten; SR, Scavenger-Rezeptor; MMP, Matrix-Metalloprotease; PDGF, Blutplättchen-Wachstumsfaktor; FGF, Fibroblasten-Wachstumsfaktor.

Kardiovaskuläre Risikofaktoren führen zur endothelialen Dysfunktion, sodass LDL aus dem Blut in die Intima gelangen, wo sie retiniert und geringgradig oxidiert werden (grau), worauf sie die endotheliale Dysfunktion verstärken, indem sie die eNOS hemmen, die EC zur Produktion von Adhäsionsmolekülen und Chemokinen anregen und die Permeabilität der EC steigern. Zirkulierende Monozyten adhären an den EC und gelangen entlang eines MCP-1-Gradienten in die Intima, wo sie sich unter dem Einfluss von M-CSF zu Makrophagen ausdifferenzieren. OxLDL (braun) entstehen durch hochgradige Oxidation mittels von Makrophagen sezernierten ROS und stimulieren T-Lymphozyten zur Einwanderung in die Intima sowie Makrophagen zur Sekretion proinflammatorischer Zytokine. OxLDL werden von Makrophagen über SR unreguliert phagozytiert, sodass Schaumzellen entstehen, die sich subintimal ansammeln und durch Sekretion von Wachstumsfaktoren Einwanderung, Proliferation und Kollagensynthese von SMC induzieren. Nachdem die Schaumzellen gestorben sind, konfluieren die freigesetzten Cholesterinester zu einem Lipidkern. Durch Bildung einer kollagenreichen Kappe, die den nekrotischen Kern vom Gefäßlumen abschirmt, entsteht die stabile atheromatöse Plaque [6,18].

OxLDL wirken selbst chemotaktisch auf Plasma-Monozyten und regen Makrophagen nicht nur zur Sekretion proinflammatorischer Zytokine an [14], sondern hindern diese auch daran, die Intima wieder zu verlassen [18]. Weiterhin wirken oxLDL zytotoxisch auf die Schaumzellen, bei deren Nekrose lysosomale Enzyme und akkumulierte CE in den subendothelialen Raum freigesetzt werden und zu einem lipidreichen, nekrotischen Kern konfluieren [34]. OxLDL stimulieren auch EC, Makrophagen und Schaumzellen zur Produktion von Blutplättchen-Wachstumsfaktor (PDGF) sowie von Fibroblasten-Wachstumsfaktor (FGF). PDGF initiiert die Einwanderung der SMC aus der Media in die Intima, während FGF zur Proliferation der SMC führt. Weiterhin regen oxLDL die SMC zur Produktion von Kollagen an, aus dem die fibröse Kappe gebildet wird, die den nekrotischen Kern umgibt. Dieser nekrotische Kern besteht neben Schaumzellen und extrazellulären Lipiden auch aus Zelltrümmern, die durch eine gestörte Efferozytose, also einen ineffizienten Abbau von apoptotischen und nekrotischen Zellen, entstehen [18]. Schließlich führt der Aufbau einer bindegewebigen Kapsel zur Bildung und Zunahme einer stabilen atheromatösen Plaque. Die hierdurch bedingte Intimahyperplasie wird zum Erhalt des Gefäßlumens bis zu einem gewissen Grad durch Vasodilatation ausgeglichen (*remodeling*) [12]. Auch zum Abbau der bindegewebigen Kapsel - und damit zur Instabilität der Plaque - tragen oxLDL bei, indem sie EC, Makrophagen und Schaumzellen anregen, Matrix-Metalloproteasen zu sezernieren, die das Bindegewebe der Kappe andauen sowie die kollagenbildenden SMC in die Apoptose treiben [18]. Zusätzlich inhibiert das von T<sub>H</sub>1-Zellen produzierte IFN- $\gamma$  die Kollagenneuproduktion der SMC, sodass die fibröse Kapsel immer dünner und instabiler wird, was schließlich zur Kapselruptur führt [5]. Als Folge der Ruptur entleeren sich Bestandteile des thrombogenen Plaqueinhalts, wie der Gewebefaktor (*tissue factor*), ins Gefäßlumen und führen zur intravasalen Bildung eines stenosierenden oder okkludierenden Thrombus [7], der sich als Komplikation der fortgeschrittenen atherosklerotischen Plaque klinisch als CVE manifestiert (siehe Kapitel 1.1) [9]. OxLDL interagieren hierbei über verschiedene SR mit Thrombozyten und tragen so zu deren Adhäsion und Aggregation bei. Gleichzeitig führen oxLDL zur Vaskonstriktion und unterbinden die fibrinolytische Aktivität am Endothel [18]. Durch



Induktion der EC-Apoptose verstärken oxLDL außerdem die ED [14,34]. OxLDL wirken somit nicht nur proatherogen, sondern auch proinflammatorisch und prothrombogen.

Aufgrund der dargestellten experimentellen Ergebnisse wurde in unterschiedlichen klinischen Studien untersucht, ob oxLDL mit CVRF oder CVD assoziiert sind. Hierbei zeigte sich, dass der oxLDL-Wert (gemessen im Plasma oder Serum mit dem AK 4E6) unter anderem beim Metabolischen Syndrom [35–37] sowie bei KHK [38], cAVK [39] und pAVK [39] erhöht ist. Weiterhin wurde festgestellt, dass der oxLDL-Wert durch Statingabe reduziert wird [26], und zwar zum einen, indem LDL als Substrat vermindert wird, zum anderen, indem ROS gesenkt werden – was man als pleiotropen Effekt der Statine bezeichnet [40]. Ein prädiktiver Wert für zukünftige CVE von oxLDL im Blut konnte in vielen, aber nicht in allen, klinischen Studien nachgewiesen werden [18,26].

### **1.3 IgG-Autoantikörper gegen oxLDL (anti-oxLDL-IgG) und Atherosklerose**

Je nach Lokalisation und Umfang der oxidativen Modifikation von LDL bilden Plasmazellen unterschiedliche Autoantikörper (AAK) gegen sog. oxidationsspezifische Epitope (OSE) von oxLDL [11,41–43]. Zu den OSE zählen oxidiertes Phosphatidylcholin, Malondialdehyd (MDA) oder 4-Hydroxynonenal, wobei die beiden letztgenannten an Lysinreste von ApoB-100 gebunden sind [11,41,42,44]. Autoantikörper gegen oxLDL (anti-oxLDL-AK) werden hauptsächlich in den Klassen IgG und IgM gebildet [42,45] und kommen sowohl gebunden in IK als auch ungebunden im Blut sowie in atheromatösen Plaques der Intima vor [42,46,47]. Ungebundene, im Blut zirkulierende anti-oxLDL-AK weisen eine geringere Affinität zu oxLDL als gebundene anti-oxLDL-AK auf und sind nur in geringen Mengen im Blut und in der Intima vorhanden. Die Mehrzahl der anti-oxLDL-AK weist eine hohe Affinität zu oxLDL auf und ist in IK gebunden [42]. IK kommen sowohl im Blut zirkulierend als auch in atheromatösen Plaques der Intima vor und enthalten vor allem anti-oxLDL-AK vom IgG-Typ [42,47]. Aus der IgG-Fraktion können überwiegend solche AAK isoliert werden, die gegen MDA-LDL

(anti-MDA-LDL-IgG) und gegen oxLDL, das dem in vitro durch Kupfer oxidierten LDL weitestgehend entspricht (anti-Cu-oxLDL-IgG), gerichtet sind. Das deutet darauf hin, dass MDA-Lysin, welches sich sowohl auf in vitro durch Kupfer oxidiertem LDL (Cu-oxLDL) als auch auf MDA-LDL befindet, das am häufigsten vorkommende OSE darstellt [41,42]. Insgesamt kommen humane anti-oxLDL-IgG, die aus IK isoliert wurden, als anti-Cu-oxLDL-IgG und als anti-MDA-LDL-IgG gleich häufig vor [42].

Die zirkulierende IgG-Fraktion kann in verschiedene Subklassen unterteilt werden [45,46]. Am häufigsten werden IgG1 und IgG3 nachgewiesen, die beide proinflammatorisch sowie proatherogen wirken sollen, weil sie zum einen mit Fc $\gamma$ -Rezeptoren phagozytierender Zellen wie Makrophagen interagieren, was zur Inkorporation von IK mit Bildung von Schaumzellen sowie zur Sekretion proinflammatorischer Zytokine führt, und weil sie zum anderen das Komplementsystem über den klassischen Weg aktivieren [42,46].

Zunächst wurde angenommen, dass der Schweregrad der AS indirekt quantifiziert werden könne, indem anti-oxLDL-AK bestimmt werden, die als Blutbestandteile besser nachzuweisen sind als hauptsächlich in der Intima vorkommende oxLDL [42]. Inzwischen wird jedoch davon ausgegangen, dass anti-oxLDL-AK an der Pathogenese der AS modulierend beteiligt sind und sowohl proatherogen als auch antiatherogen wirken können [42,48]. So sollen natürliche AK vom IgM-Typ einen atheroprotektiven Effekt haben, indem sie die Aufnahme von oxLDL in Makrophagen über SR der Klasse B, nämlich CD 36 und SR-B1, hemmen und somit die Schaumzellbildung verhindern. Außerdem sollen sie die IL-6-Bildung in Makrophagen inhibieren und so antiinflammatorisch wirken [48]. Im Gegensatz hierzu werden AK vom anti-oxLDL-IgG-Typ proatherogene Wirkungen zugeschrieben. Sie sollen sowohl das Komplementsystem als auch die Zytokinsekretion von Makrophagen deutlich stärker aktivieren als oxLDL [42].

In Abb. 1.4 ist schematisch die pathophysiologische Funktion von Immunkomplexen aus oxLDL und anti-oxLDL-IgG (anti-oxLDL-IgG-IK) bei der Atherogenese dargestellt.

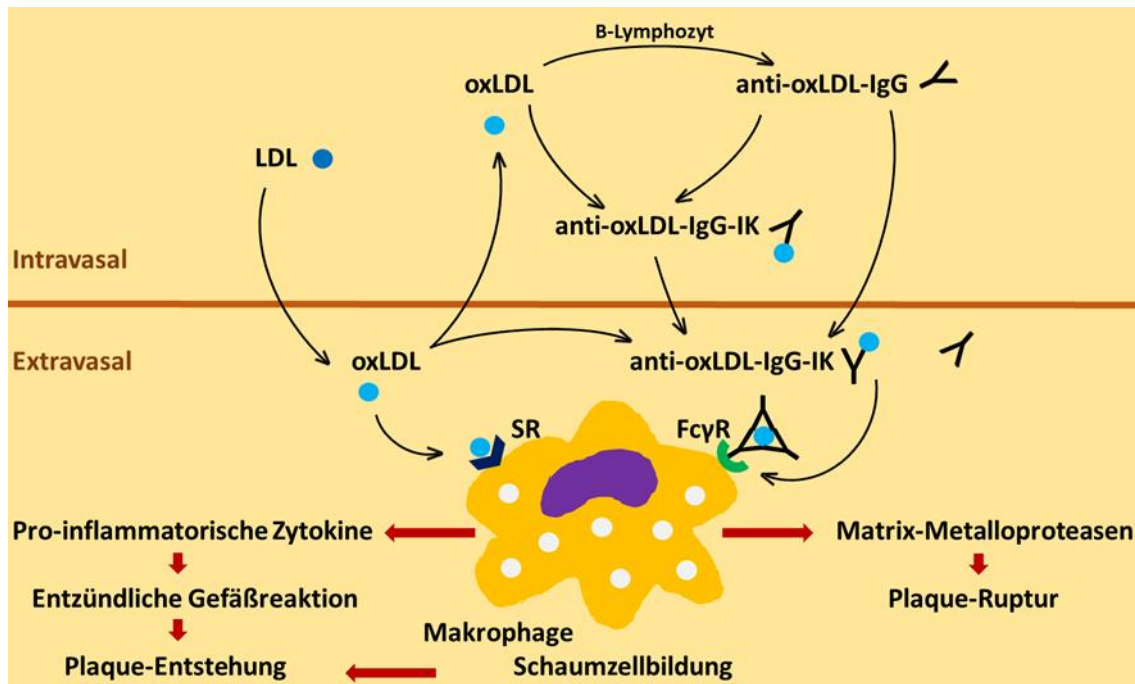


Abb. 1.4 Die Rolle von anti-oxLDL-IgG-IK in der Atherogenese, in Anlehnung an [42]

Abkürzungen: LDL, Lipoproteine geringer Dichte; oxLDL, oxidierte Lipoproteine geringer Dichte; anti-oxLDL-IgG, Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidierte Lipoproteine geringer Dichte; anti-oxLDL-IgG-IK, Immunkomplex aus oxLDL und anti-oxLDL-IgG; SR, Scavenger-Rezeptor; FcγR, Fcγ-Rezeptor.

Aufgrund einer endothelialen Dysfunktion gelangen LDL vom Blut in die Gefäßwand, wo oxLDL entstehen. Ein Teil der oxLDL diffundieren zurück ins Gefäßlumen, wo sie zur Bildung von Autoantikörpern wie anti-oxLDL-IgG beitragen. Anti-oxLDL-IgG bilden sowohl intravasal als auch, nachdem sie das Endothel passiert haben, extravasal anti-oxLDL-IgG-IK, wobei intravasale anti-oxLDL-IgG-IK in die Gefäßwand diffundieren. In der Intima werden anti-oxLDL-IgG-IK vom FcγR der Makrophagen gebunden und stimulieren Zytokinsekretion und Schäumzellbildung deutlich stärker als ungebundene oxLDL über den SR. Dabei beschleunigen anti-oxLDL-IgG-IK nicht nur die Bildung der atheromatösen Plaque, sondern tragen auch zur klinisch relevanten Plaqueruptur bei, indem sie Schäumzellen anregen, Matrix-Metalloproteasen zu sezernieren, die die fibröse Kappe der Plaque andauen [6,42].

Weder die pathophysiologische Funktion von anti-oxLDL-AK noch dessen klinische Relevanz ist bisher abschließend geklärt [41,45]. Widersprüchliche Studienergebnisse sind nicht nur durch Unterschiede der Patientenkollektive in Art und Anzahl bedingt, sondern vor allem dadurch, dass es für anti-oxLDL-AK keine standardisierte Analysenmethode gibt. Je nach Messmethode werden anti-oxLDL-AK in ungebundener oder gebundener Form sowie in den Subklassen IgM oder IgG bestimmt. Außerdem werden verschiedene in vitro hergestellte Antigene verwendet, wobei Cu-oxLDL und MDA-LDL am häufigsten sind [41,44,49].

Klinische Studien zur Frage einer möglichen Assoziation von anti-Cu-oxLDL-IgG und AS zeigen unterschiedliche, teils widersprüchliche, Ergebnisse: So war beispielsweise einerseits die Zunahme des anti-Cu-oxLDL-IgG-Werts um seine Standardabweichung bei der italienischen Allgemeinbevölkerung mit einem höheren Risiko verbunden, sowohl ein CVE zu erleiden als auch an einem solchen zu versterben [50]. Andererseits stellte der anti-Cu-oxLDL-IgG-Titer für den Eintritt eines CVE einschließlich CV-Mortalität weder bei Patienten, bei denen eine klinische Indikation für eine Koronarangiographie bestand [51], noch bei Patienten mit bekannter KHK einen prädiktiven Wert dar [52]. Darüber hinaus wurde anti-Cu-oxLDL-IgG im Blut nicht nur in der Allgemeinbevölkerung und bei AS-Patienten, sondern auch bei Patienten mit rheumatoider Arthritis, mit systemischem Lupus erythematoses, mit Antiphospholipid-Syndrom und mit Psoriasis nachgewiesen [45].

### **1.4 Hochsensitives C-reaktives Protein (hsCRP) und Atherosklerose**

Das C-reaktive Protein (CRP) gehört zur Familie der Pentraxine und besteht aus fünf gleichartigen, symmetrisch um eine Zentralpore angeordneten, nicht kovalent gebundenen Untereinheiten mit jeweils 206 Aminosäuren [53,54]. Als löslicher *pattern recognition receptor* (PRR) ist es Teil des angeborenen Immunsystems und erkennt eingedrungene Erreger oder körpereigene pathologisch veränderte Strukturen. Mit seiner ligandenbindenden Seite (B-Seite) bindet CRP calciumabhängig Phosphorylcholin, das sowohl auf der Zellmembran körperfremder Bakterien als auch auf körpereigenen nekrotischen oder apoptotischen Zellen sowie auf der oxLDL-Hülle vorkommt. Weiterhin kann CRP mit seiner B-Seite an SR wie *lectin-like oxidized LDL receptor-1* (LOX-1) binden [10,55]. Mit seiner aktiven Seite (A-Seite) kann es einerseits als Opsonin an verschiedene Fcγ-Rezeptoren binden, was zur Phagozytose durch Makrophagen führt und deren Zytokinsekretion stimuliert, andererseits kann es an die Komplement-Untereinheit C1q binden, die das Komplementsystem über den klassischen AK-vermittelten Weg aktiviert [55].

Als Akute-Phase-Protein steigt CRP im Blut vor allem bei bakteriellen Infektionen, aber auch bei Gewebeschäden, wie beim akuten Herzinfarkt oder nach Operationen, bereits nach 6 Stunden an und kann den Ausgangswert zehntausendfach übersteigen. Da standardisierte Analysenmethoden vorhanden sind, ist die CRP-Bestimmung im Blut zum Screening bzw. zur Verlaufskontrolle von Entzündungen etabliert [53].

Wenn CRP im Blut mittels hochsensitiver Analysenmethode bis zu einem Wert von 0,3 mg/l [56] nachgewiesen wird, bezeichnet man es als hsCRP [57]. Anhand des hsCRP-Werts kann im Blut die chronisch-inflammatorische Komponente der AS quantifiziert werden [7]. Auch in atherosklerotischen Läsionen aller Stadien, vor allem in instabilen bzw. rupturierten atheromatösen Plaques, ist hsCRP zu finden [58], wo es unter anderem in einer stärker proinflammatorisch wirkenden monomeren Struktur vorkommt [55]. HsCRP hält die mit der AS assoziierte subklinische Inflammation aufrecht, indem es die ED verstärkt, die Adhäsion von Monozyten an die EC fördert und die Produktion von vasodilatierendem NO durch die EC hemmt. Weiterhin stimuliert hsCRP Makrophagen zur Produktion von ROS sowie zur Phagozytose von oxLDL und trägt damit zur Atherogenese bei. Schließlich fördert es die Thrombozytenaggregation [55]. In kleineren Mengen kann hsCRP auch von hypertrophen Adipozyten [59] sowie direkt am Ort der Plaquebildung von EC, SMC und Makrophagen [60] produziert werden. Hauptsächlich wird es jedoch, wie in Abb. 1.5 dargestellt, nach Stimulation von IL-6 in der Leber synthetisiert [60,59].

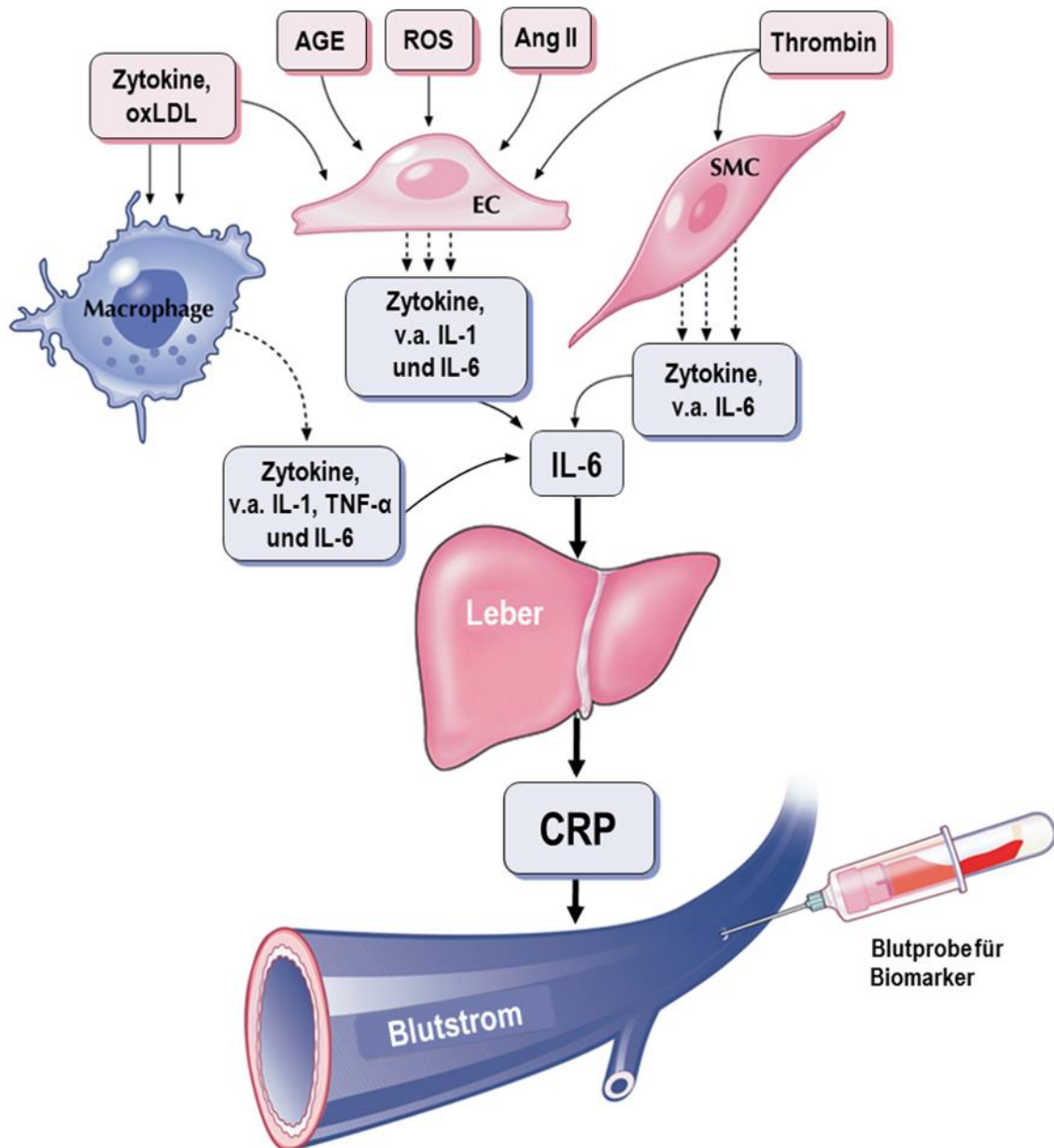


Abb. 1.5 HsCRP als Biomarker der Atherosklerose, modifiziert nach [7,61]

Abkürzungen: oxLDL, oxidierte Lipoproteine geringer Dichte; AGE, advanced glycation end products; ROS, reaktive Sauerstoffspezies; Ang II, Angiotensin II; EC, Endothelzelle; SMC, glatte Muskelzelle; IL-6, Interleukin-6; IL-1, Interleukin-1; TNF- $\alpha$ , Tumor-Nekrose-Faktor-alpha; CRP, C-reaktives Protein.

Die in der Abbildung genannten Faktoren stimulieren Makrophagen, EC und SMC zur Sekretion von proinflammatorischen Zytokinen, wie IL-1, TNF- $\alpha$  und IL-6. Diese gelangen über das Blut zur Leber, wo insbesondere IL-6 die Bildung von CRP induziert, das sich als Marker der subklinischen Entzündung, gemessen mit hochsensitiven Verfahren (hsCRP), als Prädiktor zukünftiger Herz-Kreislauf-Ereignisse bewährt hat und standardisiert im Blut gemessen werden kann [7,61].

Dass hsCRP einen prädiktiven Wert für CVE besitzt, wurde erstmals 1997 im NEW ENGLAND JOURNAL OF MEDICINE publiziert. RIDKER ET AL. konnten in der PHYSICIANS HEALTH STUDY bei gesunden Männern mit einem durchschnittlichen Alter von 59 Jahren zeigen, dass jahrelang stabil erhöhte hsCRP-Ausgangswerte mit einem dreifach erhöhten Myokardinfarktrisiko und einem doppelt so hohen Schlaganfallrisiko assoziiert sind [62]. Nachdem standardisierte hsCRP-Tests kommerziell erhältlich waren, wurde in einer Vielzahl von Studien der prädiktive Wert von hsCRP für CVE und CV-Mortalität untersucht und bestätigt [59]. 2003 gaben die US-amerikanischen Zentren für Krankheitskontrolle und Prävention (CDC) gemeinsam mit der AMERICAN HEART ASSOCIATION (AHA) dazu eine Stellungnahme mit Empfehlungen für die klinische Praxis heraus. Hierin wird hsCRP als derzeit bester vorhandener, mit standardisierten hochsensitiven Analysemethoden messbarer Inflammationsmarker zur Prädiktion von CVE beurteilt. Der höchste Nutzen einer zusätzlichen hsCRP-Bestimmung scheint in der Primärprävention zur weiteren Risiko-Differenzierung bei Patienten mit einem mittelgradigen 10-Jahres-CVD-Risiko von 10-20% zu bestehen, dies ist aber nicht bewiesen. In der Sekundärprävention wird unabhängig vom hsCRP-Wert eine umfassende CV-Diagnostik und Therapie empfohlen. Das CVR wird gemäß der in der Bevölkerung bestehenden Verteilung der Blutspiegel von hsCRP in gering (< 1 mg/l), mittelgradig (1-3 mg/l) und hoch (> 3 mg/l) eingeteilt, wobei Personen mit hsCRP-Werten im oberen Tertil ein doppelt so hohes CVR aufweisen wie solche mit hsCRP-Werten im unteren Tertil. Werte > 10 mg/l werden als mögliche Akute-Phase-Antwort eingeordnet, und es wird deshalb empfohlen, eine Kontrolle durchzuführen sowie bei Fortbestehen des hsCRP-Wertes > 10 mg/l eine weiterführende Abklärung einer nicht CV-Ätiologie zu veranlassen [56].

Gemäß der Metaanalyse von KAPTOGE ET AL., die 2010 im LANCET veröffentlicht wurde und 54 prospektive Studien mit insgesamt n = 160309 Studienteilnehmern umfasst, nimmt pro Standardabweichung des logtransformierten hsCRP das multivariate, angepasste relative Risiko für eine KHK um den Faktor 1,37 und die

CV-Mortalität um den Faktor 1,55 zu [63]. Der prädiktive Wert von hsCRP (relatives Risiko 1,37) ist mit dem der AHT (relatives Risiko 1,35) vergleichbar und höher als der des Gesamtcholesterins (relatives Risiko 1,16) [63]. RIDKER ET AL. entwickelten deshalb den *Reynolds Risk Score*, in dem neben den klassischen CVRF auch hsCRP und die Familienanamnese sowie bei bekanntem DM der HbA1c-Wert aufgenommen wurden. Hierdurch wird die Prädiktion von Myokardinfarkt oder Schlaganfall in der Primärprävention von Männern und Frauen gegenüber anderen Score-Systemen, die nach FRAMINGHAM-Kriterien oder vom AMERICAN COLLEGE OF CARDIOLOGY und der AHA entworfen wurden, deutlich verbessert [57]. RIDKER postuliert, dass Patienten mit AS einen höheren Bedarf an einer entzündungssenkenden Therapie (Ziel-hsCRP < 2 mg/l) als an einer lipidsenkenden Therapie (Ziel-LDL < 70 mg/dl) haben [64]. Da jedoch die Rolle der Inflammation bei der AS bisher nicht abschließend geklärt ist, geht die Forschung zu potentiellen Therapie-Targets weiter [65].

## **1.5 Patienten mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko**

### **1.5.1 Metabolisches Syndrom**

Das Metabolische Syndrom (MetS) umfasst eine Kombination von Risikofaktoren für CVD. Als Hauptkomponenten des MetS werden vom NATIONAL CHOLESTEROL EDUCATION PROGRAM ADULT TREATMENT PANEL III (NCEP-ATP III) viszerale Adipositas, proatherogene Dyslipidämie, AHT und Insulinresistenz mit Hyperglykämie genannt, die von einer prothrombotischen und proinflammatorischen Stoffwechsellage begleitet werden [66]. Eine Hyperglykämie umfasst beim MetS sowohl eine pathologische Glukosetoleranz als auch einen bereits manifesten Typ-2-Diabetes (DMT2). Die als proatherogen bezeichnete Dyslipidämie besteht aus erhöhten TG und erniedrigten HDL [67]. REAVEN beschrieb erstmals die Insulinresistenz als pathophysiologische Grundlage des MetS und definierte sie als eine zur Hyperinsulinämie führende Glukoseverwertungsstörung, als deren Folge sowohl ein DMT2 auftreten sowie das Risiko für eine CVD ansteigen kann [68].



Mehrere Fachgesellschaften und Organisationen haben das MetS unterschiedlich definiert. 2001 wurde gemäß US-amerikanischem NCEP-ATP III das MetS so festgelegt, dass drei der folgenden fünf Kriterien erfüllt sein müssen: *Bauchumfang* > 102 cm bei Männern und > 88 cm bei Frauen, *TG* ≥ 150 mg/dl, *HDL* < 40 mg/dl bei Männern und < 50 mg/dl bei Frauen, *Blutdruck* ≥ 130/ ≥ 85 mmHg und *Nüchtern glukose* ≥ 110 mg/dl [69]. Im Jahr 2005 veröffentlichten sowohl die AHA und das NATIONAL HEART, LUNG, AND BLOOD INSTITUTE (NHLBI) in den USA [70] als auch der in Brüssel ansässige weltweit größte Diabetes-Dachverband INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF) [71] verschiedene Definitionen des MetS. Dabei stimmten die AHA/NHLBI und die IDF in den Kriterien *TG* ≥ 150 mg/dl, *HDL* < 40 mg/dl bei Männern und < 50 mg/dl bei Frauen, *Blutdruck* ≥ 130/ ≥ 85 mmHg und *Nüchtern glukose* ≥ 100 mg/dl oder jeweils entsprechende medikamentöse Therapie überein [70,71]. Von der IDF wurde die viszerale Adipositas jedoch als *Conditio sine qua non* eingestuft und die Grenzwerte für den *Bauchumfang* wurden um je 8 cm im Vergleich zur AHA/NHLBI herabgesetzt, wobei zusätzlich zur viszeralen Adipositas zwei weitere Kriterien erfüllt sein mussten [71]. Die AHA/NHLBI setzte in Anlehnung an das NCEP-ATP III die Grenzwerte des *Bauchumfangs* mit ≥ 102 cm bei Männern und ≥ 88 cm bei Frauen fest und übernahm dessen Wertung der fünf Kriterien als gleichberechtigt und frei kombinierbar, sofern drei davon vorlagen [70]. Im Jahr 2009 erfolgte zwischen der AHA/NHLBI und IDF sowie weiteren Organisationen dahingehend eine Harmonisierung, dass alle fünf Komponenten der MetS-Definition von 2005, von denen mindestens drei erfüllt sein müssen, als gleichberechtigt festgelegt wurden [72]. Hinsichtlich des Ziels einer Vereinheitlichung der Grenzwerte für den *Bauchumfang* wurden weitere Studien für notwendig erachtet. Bis dahin wurde die Verwendung länder- und bevölkerungsspezifischer Werte empfohlen.

Daten der NATIONAL HEALTH AND NUTRITION EXAMINATION SURVEY-II (NHANES-II) zeigen, dass das Risiko, an einem CVE zu versterben, bei Personen mit MetS (definiert nach NCEP-ATP III) im Vergleich zu Personen ohne MetS um 37 % erhöht ist [73]. Gemäß Ergebnissen der NHANES-III liegt in den USA bei 24 % der Erwachsenen ein MetS (definiert nach NCEP-ATP III) vor [74]. Das Risiko,

einen nichttödlichen Myokardinfarkt oder einen Schlaganfall zu erleiden, ist bei diesen 2-fach bzw. 2,2-fach erhöht im Vergleich zu Personen ohne MetS [75]. In Deutschland hat das MetS (definiert nach AHA/NHLBI) gemäß einer Untersuchung an n = 35869 Patienten in 1511 Hausarztpraxen eine Prävalenz von 20 % [76].

Der enge Zusammenhang zwischen einem erhöhten CVR und dem MetS ist vor allem auf die viszerale Adipositas zurückzuführen. Hypertrophe Adipozyten sind endokrin aktiv und produzieren u. a. IL-6, MCP-1 und Plasminogenaktivator-Inhibitor-1 (PAI-1). IL-6 führt zur Bildung von Akute-Phase-Proteinen wie CRP, Fibrinogen und PAI-1 in der Leber. So entsteht nicht nur die für die AS typische chronische subklinische Entzündung, sondern auch ein prothrombotischer Zustand. MCP-1 animiert zirkulierende Monozyten zur Immigration ins Fettgewebe, wo sie sich in Makrophagen ausdifferenzieren und durch Sekretion von TNF- $\alpha$  die Inflammation und das CVR weiter verstärken [77]. Die Therapie des MetS sieht in erster Linie eine Verminderung der Insulinresistenz mittels Gewichtsreduktion durch Ernährungsumstellung und regelmäßige Bewegung (Ausdauersportarten) vor. Bei Bedarf wird auch medikamentös behandelt [66].

### **1.5.2 Stabile Posttransplantationsphase nach Nierentransplantation**

Die Nierentransplantation (NTx) ist bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz die Therapie der Wahl [78]. Nachdem bedeutende Fortschritte bei der Vermeidung von Abstoßungen und bei der Sicherstellung der Transplantatfunktion in der frühen Phase nach NTx erzielt werden konnten, stehen zunehmend CVD im Vordergrund, die überwiegend in der stabilen Posttransplantationsphase auftreten. Nierentransplantierte (NT) versterben im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung drei bis fünf Mal häufiger an einem frühzeitigen CVE [79].

Die zur Rejektionsvermeidung eingesetzte immunsuppressive Erhaltungstherapie besteht in der Regel aus der Kombination eines Calcineurin-Inhibitors (CNI) mit einem Purinsynthese-Inhibitor und einem Glucocorticoid. Zu den CNI zählen Tacrolimus (Tac) und Ciclosporin (CsA). Obwohl sie sich in ihrer chemischen

Struktur unterscheiden, binden beide an zytoplasmatische Proteine von T-Lymphozyten, sog. Immunophilinen. Das zyklische Polypeptid CsA bindet an Cyclophilin, das Makrolid Tac an das zytoplasmatische FK 506 Bindungsprotein. In beiden Fällen bilden die CNI mit dem jeweiligen Immunophilin einen intrazellulären Komplex, der die Aktivierung der Calciumphosphatase Calcineurin, und damit die Transkription von Zytokingenen, beispielsweise für Interleukin-2 (IL-2), TNF- $\alpha$  und IFN- $\gamma$ , hemmt. Dadurch wird die Aktivierung der T-Lymphozyten und damit auch die T-Zell-abhängige Aktivierung der B-Lymphozyten inhibiert [80].

Der am häufigsten eingesetzte Purinsynthese-Inhibitor, die Mycophenolsäure (MPA), hemmt die Inosin-Monophosphat-Dehydrogenase (IMPDH), ein Enzym der De-novo-Synthese des Purins Guanosinmonophosphat (GMP) selektiv, reversibel und nicht-kompetitiv. Im Gegensatz zu anderen Zellen des Organismus, die Purine durch Wiederverwendung von Nukleotid-Abbauprodukten über den sog. Salvage-Pathway herstellen können, sind Lymphozyten bei der Desoxyribonukleinsäure (DNA)-Synthese auf die Neubildung von GMP und damit auf die IMPDH-Aktivität angewiesen. Eine Inhibition der IMPDH führt damit zu einer selektiven Proliferationshemmung der T- und B-Lymphozyten. Die MPA liegt in Form von zwei verschiedenen Prodrugs vor. Zum einen als Mycophenolat-Mofetil (MMF), einem MPA-Ester, der schnell enteral resorbiert wird, zum anderen als Mycophenolat-Natrium (MPS), dem Salz der MPA, das wegen seiner magensaftresistenten Beschichtung (*enteric-coated*) erst im Dünndarm freigesetzt wird und deshalb weniger gastrointestinale Nebenwirkungen auslöst [80].

Das zusätzlich verabreichte Prednisolon (Pred), ein Glucocorticoid, inhibiert die Genexpression proinflammatorischer Zytokine wie IL-1, IL-2, IL-6 und TNF- $\alpha$ , indem es an den intrazytoplasmatischen Glucocorticoid-Rezeptor bindet. Dies führt vor allem zur Proliferationshemmung von T-Zellen [80].

Bei NT sind bis zu 75 % [81] der Gesamt-Mortalität auf CVE wie Myokardinfarkt [82] und plötzlichen Herztod [79] zurückzuführen. Das hohe CVR bei NT ist unter anderem durch das gehäufte Vorkommen des MetS bedingt, welches mit einer chronischen subklinischen Inflammation [79,83], auch bei NT messbar durch

erhöhte hsCRP-Werte [84], einhergeht und mit einer chronischen Transplantatdysfunktion vergesellschaftet ist [84,85]. Ebenso wie in der Allgemeinbevölkerung hat hsCRP auch bei NT einen prädiktiven Wert für CVE und CV-Mortalität [86,87]. Das Risiko, 12 Monate nach NTx ein CVE zu erleiden, ist bei NT mit MetS 3,4-fach höher als bei NT ohne MetS [83]. Die Prävalenz des MetS (definiert nach NCEP-ATP III) ist im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung mit 32 % [83] bis 63 % [85] deutlich erhöht und steigt mit zunehmender Posttransplantationsdauer an [83,85]. Dafür wird in erster Linie die Immunsuppression verantwortlich gemacht, wobei insbesondere unter Tac und Pred eine Zunahme des MetS beobachtet wird [84]. Eine starke diabetogene Wirkung wird Tac zugeschrieben, das die häufigste Ursache eines neu aufgetretenen Diabetes mellitus nach Transplantation (NODAT) darstellt, während eine Lipiderhöhung am meisten von Pred und eine AHT am stärksten ausgeprägt von CsA hervorgerufen oder verstärkt wird. MMF und MPS haben im Wesentlichen keinen stoffwechselentgleisenden Effekt und sind damit als Ergänzung eines CNI sehr gut geeignet [78,79,82]. Eine Übersicht der erwünschten und unerwünschten Wirkungen der Immunsuppressiva ist in Tab. 1.2 dargestellt.

**Tab. 1.2 Effekte der Immunsuppressiva bei Nierentransplantierten [79]**

	Akute Rejektion	GFR	AHT	Lipide	NODAT
Prednisolon	↓	-	↑↑	↑↑	↑↑
Ciclosporin	↓↓	↓↓	↑↑↑	↑↑	↑
Tacrolimus	↓↓	↓↓	↑↑	↑	↑↑
MMF/MPS	↓	-	-	-	-

Abkürzungen: MMF, Mycophenolat-Mofetil; MPS, Mycophenolat-Natrium; GFR, glomeruläre Filtrationsrate; AHT, arterielle Hypertonie; NODAT, neu aufgetretener Diabetes mellitus nach Transplantation.

Anmerkungen: Die Richtung der Pfeile zeigt die Richtung der Wirkung als Zunahme oder Abnahme an. Die Anzahl der Pfeile zeigt die Stärke des Effekts an.

Zusätzliche CVRF bei NT sind Dialysedauer, postmortale Nierenspende, Ischämiezeit, Anzahl der akuten Rejektionen, Anämie, Proteinurie und Niereninsuffizienz bzw. Transplantatdysfunktion, definiert durch eine geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (GFR) unter 40 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> [79,82,87]. Bei NT können CVRF auch nach dem Entstehungszeitpunkt, nämlich vor oder nach NTx,

eingeteilt werden [79]. Zu den CVRF, die bereits vor NTx vorhanden sein können, zählen beispielsweise Alter, vorbestehender DM, vorbestehende CVD (KHK, cAVK und pAVK), Rauchen, Dialysedauer und postmortale Nierenspende. Zu den CVRF, die nach NTx auftreten können und eine mögliche Folge der immunsuppressiven Therapie darstellen, gehören unter anderem Dyslipidämie, NODAT und AHT, wobei letztgenannte zu einer Linksherzhypertrophie, einer Proteinurie sowie einer GFR unter 40 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> führen kann [79,82].

Die Therapie vorbestehender und neu aufgetretener CVRF ist bei NT neben dem Erhalt der Transplantatfunktion der wichtigste präventive Faktor der CV-Mortalität. Ab einer Posttransplantationsdauer von 12 Monaten spielt der DM (vorbestehend oder NODAT) für das Patientenüberleben sogar eine wichtigere Rolle als die akute Rejektion, denn NT mit DM weisen eine Verdreifachung der CVE sowie eine Verdopplung der Gesamt-Mortalität, verglichen mit NT ohne DM, auf [79,82].

### **1.6 Zielsetzung der Arbeit**

Ziel der vorliegenden Arbeit war es, bei Patienten mit bekanntem erhöhtem CVR, nämlich bei NT mit und ohne MetS sowie bei Patienten mit MetS klinische und laborchemische Daten zum CVR-Profil zu erheben und durch Vergleich von ausgewählten Serumparametern der Lipoproteinoxidation (oxLDL und anti-oxLDL-IgG) und Inflammation (hsCRP) Erkenntnisse darüber zu gewinnen, ob sich die Patientengruppen diesbezüglich voneinander unterscheiden.

Die Erkenntnisse dieser Arbeit sollen dazu beitragen, das CVR-Profil sowie den Einfluss der immunsuppressiven Erhaltungstherapie auf das CVR von NT besser einschätzen zu können, um durch geeignete Therapiemaßnahmen zur Reduktion der erhöhten CV-Mortalität bei NT in der stabilen Posttransplantationsphase beitragen zu können.

## **2 Material und Methoden**

Der Prüfplan zur vorliegenden Studie wurde vor Beginn dieser Arbeit der Ethik-Kommission an der Medizinischen Fakultät der Universität Tübingen und am Universitätsklinikum Tübingen zur Begutachtung vorgelegt und am 10.02.2011 unter der Projekt-Nummer 001/2011BO2 genehmigt.

### **2.1 Studienpopulation**

Im Zeitraum von Mai 2011 bis Januar 2012 wurden N = 233 Teilnehmer für die Studie rekrutiert, von denen insgesamt N = 208 Teilnehmer in die Studie eingeschlossen wurden. Die Studienpopulation bestand aus vier Gruppen. Zum einen die gesunde Kontrollgruppe (n = 52), zum anderen die NT-Gruppe ohne MetS (n = 56) und die NT-Gruppe mit MetS (n = 50) sowie die Gruppe der Patienten mit MetS (n = 50). Alle Patienten und Probanden wurden gemäß den nachfolgend genannten Ein- und Ausschlusskriterien in verschiedenen Kliniken des Klinikums Stuttgart oder an der Universität Hohenheim rekrutiert.

#### **2.1.1 Einschlusskriterien**

Eingeschlossen wurden Männer und Frauen zwischen 18 und 90 Jahren, die nach erfolgter Aufklärung ihr schriftliches Einverständnis gegeben hatten.

Bei den NT-Gruppen wurden darüber hinaus nur solche Patienten in die Studie eingeschlossen, die eine immunsuppressive Therapie mit einem CNI (Tac oder CsA) erhielten und die eine Posttransplantationsdauer von mindestens 6 Monaten aufwiesen.

Die Einschlusskriterien für das MetS wurden, wie in Tab. 2.1 dargestellt, gemäß der Definition der AHA/NHLBI festgelegt [70], wobei beim Kriterium Blutzucker der HbA1c-Wert gemäß den WHO-Diagnosekriterien für DM ergänzt wurde [88].

**Tab. 2.1 MetS-Definition nach modifizierten AHA/NHLBI-Kriterien [70,88]**

Mindestens drei der fünf folgenden Kriterien müssen vorliegen:

Viszerale Adipositas	bei Frauen Bauchumfang $\geq 88$ cm bei Männern Bauchumfang $\geq 102$ cm
Abnorme Nüchtern- glukose oder Diabetes mellitus <sup>1</sup>	Nüchtern- glukose im venösen Plasma $\geq 100$ mg/dl oder HbA1c $\geq 6,5$ % oder bereits eingeleitete antidiabetische Therapie
Arterielle Hypertonie	systolischer Blutdruck $\geq 130$ mmHg oder diastolischer Blutdruck $\geq 85$ mmHg oder bereits eingeleitete antihypertensive Therapie
Hypertriglyceridämie	Triglyceride $\geq 150$ mg/dl oder bereits eingeleitete Therapie zur Senkung der Triglyceride <sup>2</sup>
Erniedrigtes HDL-Cholesterin	bei Frauen HDL $< 50$ mg/dl oder bei Männern HDL $< 40$ mg/dl oder bereits eingeleitete Therapie zur Erhöhung des HDL <sup>2</sup>

Abkürzungen: HbA1c, glykiertes Hämoglobin A; HDL, Lipoproteine hoher Dichte.

### 2.1.2 Ausschlusskriterien

In der folgenden Tab. 2.2 sind zunächst die für alle vier Gruppen in gleichem Maße gültigen Ausschlusskriterien dargestellt. Besondere gruppenspezifische Ausschlusskriterien werden in den Absätzen genannt, in denen die Rekrutierung der jeweiligen Gruppe im Einzelnen beschrieben ist.

<sup>1</sup> Gemäß den WHO-Diagnosekriterien für Diabetes mellitus wurde der HbA1c-Wert ergänzt [88].

<sup>2</sup> Eine bereits eingeleitete Therapie zur Senkung der Triglyceride oder zur Erhöhung von HDL ist gemäß der AHA/NHLBI durch eine Therapie mit Fibraten oder Nikotinsäurederivaten definiert. Da im Klinikum Stuttgart Nicotinsäure bzw. Nicotinamid nicht gelistet ist, wurde in dieser Arbeit nur geprüft, ob bei den Teilnehmern Fibrate verordnet waren.

**Tab. 2.2 Ausschlusskriterien**

---

**Alle Studienteilnehmer**

---

Schwangerschaft

Onkologische Erkrankungen, sofern keine operative Sanierung stattgefunden hat, aktuell ein Rezidiv vorhanden ist oder zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Strahlen- oder Chemotherapie besteht

Entzündliche Erkrankungen, wie diabetisches Fußsyndrom, Pneumonie oder symptomatischer Harnwegsinfekt

Schlaganfall < 1 Monat

Operation in Vollnarkose < 1 Monat

Klinisch manifeste Depression mit Einnahme von Antidepressiva

Anämie (Hämoglobin < 8 g/dl)

Autoimmunerkrankungen mit Dauermedikation oder aktuell akutem Schub<sup>3</sup>

Neurodegenerative Erkrankungen<sup>4</sup>

Erkrankungen der Atemwege, sofern eine Dauertherapie mit mehr als einem inhalativen Bronchodilatator/Tag besteht<sup>5</sup>

Entzündungen des Gastrointestinaltraktes mit Dauermedikation oder aktuell akutem Schub<sup>6</sup>

Schilddrüsenerkrankungen mit akuter Stoffwechsellage<sup>7</sup>

Diabetes mellitus Typ 1

Neuropathie nicht-diabetischer Genese<sup>8</sup>

Blutzucker > 400 mg/dl

Transaminasen-Anstieg > 5-fach des oberen Normwertes

---

Die Rekrutierung der gesunden Probanden erfolgte im Zeitraum vom 24.05.2011 bis zum 31.08.2011 an der Universität Hohenheim durch Aushang und im Klinikum Stuttgart beim Klinikpersonal. Es wurden nur solche Teilnehmer eingeschlossen, bei denen - über die vorgenannten Ausschlusskriterien hinaus - weder eine immunsuppressive Therapie, noch ein gemäß Tab. 2.1 definiertes

---

<sup>3</sup> Wie Hashimoto-Thyreoiditis, Morbus Basedow, rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmunhepatitis, Myasthenia gravis, Sarkoidose, Lupus erythematoses, Sklerodermie.

<sup>4</sup> Wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Amyotrophe Lateralsklerose, Chorea Huntington, frontotemporale Demenz, Lewy-Körperchen-Demenz.

<sup>5</sup> Wie Asthma oder chronisch obstruktive Lungenerkrankung (COPD).

<sup>6</sup> Wie Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn.

<sup>7</sup> Manifeste Hyper- oder Hypothyreose.

<sup>8</sup> Wie alkoholische oder urämische Neuropathie, Vitamin B12-Mangel.



MetS noch ein DMT2 oder Makroangiopathien (KHK, pAVK, cAVK) vorlagen. Von  $n = 59$  Teilnehmern konnten  $n = 52$  Probanden in die Gruppe der Gesunden eingeschlossen werden. Aufgrund der erhobenen Befunde wurden  $n = 3$  Teilnehmer von den ursprünglich für gesund gehaltenen Probanden der Patientengruppe zugeordnet, die ein MetS aufwies.

Außerdem wurden  $n = 60$  Patienten, die sich im Zeitraum vom 28.07.2011 bis zum 20.01.2012 teilstationär oder stationär in der Klinik für Endokrinologie, Diabetologie und Geriatrie am Klinikum Stuttgart befanden, als Studienteilnehmer rekrutiert. Hiervon erfüllten  $n = 50$  Patienten die Einschlusskriterien für das MetS gemäß der in Tab. 2.1 dargestellten Definition. In die MetS-Gruppe wurden, über die vorbeschriebenen Ausschlusskriterien hinaus, nur solche Patienten eingeschlossen, die keine immunsuppressive Therapie erhielten.

Weiterhin wurden im Zeitraum vom 15.06.2011 bis zum 07.12.2011  $n = 114$  Patienten mit NTx im Rahmen der regulären Transplantationsnachsorge in der nephrologischen Ambulanz der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten am Klinikum Stuttgart rekrutiert, wovon  $n = 106$  Patienten die vorstehend genannten Ein- und Ausschlusskriterien erfüllten. Davon entsprachen  $n = 50$  nierentransplantierte Patienten den in Tab. 2.1 dargestellten MetS-Kriterien. Demzufolge wurde eine NT-Gruppe mit MetS und eine NT-Gruppe ohne MetS ( $n = 56$  Patienten) gebildet.

## 2.2 Studienablauf

Alle Teilnehmer wurden über die Studie mündlich und schriftlich aufgeklärt; die schriftliche Patienteninformation ist im Anhang beigefügt (vgl. Anhang A). Die Zustimmung zur Studienteilnahme erfolgte durch Unterschrift auf der Einwilligungserklärung (vgl. Anhang B). Zur Pseudonymisierung wurde jedem Patienten vor Beginn der Datenerfassung ein individueller Nummerncode zugewiesen. Die so verschlüsselten Daten wurden elektronisch erfasst und ausgewertet. Bei allen Studienteilnehmern wurden die nachfolgend genannten Untersuchungen in gleicher Weise durchgeführt und deren Befunde sowie die aus der Krankenakte entnommenen medizinischen Daten im Case Report Form dokumentiert (vgl. Anhang C).

### 2.2.1 Medizinische Daten

Tab. 2.3 zeigt die aus der Krankenakte entnommenen medizinischen Daten.

**Tab. 2.3 Aus der Krankenakte erfasste medizinische Daten**

---

#### **Erfassung bei allen Patienten**

Diabetes mellitus Typ 2 mit Erkrankungsdauer

Mikroangiopathien (dNP, dRP und dPNP)

Makroangiopathien (KHK, pAVK und cAVK)

aktuelle kardiovaskuläre und antidiabetische Medikation

#### **Zusätzliche Erfassung bei den Transplantatgruppen**

zur Nierentransplantation führende Primärerkrankung

Dialyseart und -dauer

Transplantationsart und -häufigkeit

Posttransplantationsdauer

NODAT mit Erkrankungsdauer

Abstoßungen<sup>9</sup>

Calcineurin-Inhibitor mit Tagesdosis

Purinsynthese-Inhibitor mit Tagesdosis

Prednisolon mit Tagesdosis

---

Abkürzungen: dNP, diabetische Nephropathie; dRP, diabetische Retinopathie; dPNP, diabetische Polyneuropathie; KHK, koronare Herzkrankheit; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; cAVK, cerebrale arterielle Verschlusskrankheit; NODAT, neu aufgetretener Diabetes mellitus nach Transplantation.

### 2.2.2 Klinische Untersuchung und Blutentnahme

Bei den Probanden wurden Körpergröße, Körpergewicht und Blutdruck tagesaktuell ermittelt. Der Blutdruck wurde hierbei im Sitzen nach fünf Minuten Ruhe mit einer Oberarmmanschette und einem Stethoskop am rechten Oberarm gemessen, wobei sich der Messpunkt auf Herzhöhe befand. Bei den Patienten wurden Körpergröße, Körpergewicht und Blutdruck aus der Krankenakte entnommen oder am Studientag gemessen.

---

<sup>9</sup> Ob Abstoßungen vorlagen, wurde anhand der BANFF-Klassifikation in der revidierten Fassung von 2013 beurteilt [89]. Borderline-Veränderungen mit dem histologischen Befund einer fokalen milden Tubulitis ohne intimale Arteriitis wurden als Borderline-Rejektion wie BANFF 4 IA mit einer Cortisonstoßtherapie behandelt und als Abstoßung gewertet.

Der Body Mass Index (BMI) wurde gemäß der Formel

$$BMI = \frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{(\text{Körpergröße [m]})^2}$$

bei allen Teilnehmern berechnet. Sowohl bei der gesunden Kontrollgruppe als auch bei den Patienten wurde der Bauchumfang am Tag der Studienteilnahme morgens im Stehen horizontal auf Höhe des Umbilicus in Expiration gemessen.

Im Rahmen der Routineblutentnahme wurde nach zwölfstündiger Nahrungskarenz bei allen Patientengruppen einmalig zusätzlich 40 ml venöses Blut vor der täglichen Medikamenteneinnahme entnommen. Lediglich bei den Probanden war eine studienbedingte Venenpunktion für die Blutentnahme erforderlich.

Um eine vollständige Gerinnung und Vortrennung der Blutbestandteile zu erreichen, wurden die gefüllten Blutröhrchen (Serum-Gel-Monovetten, Sarstedt) nach der Blutentnahme zunächst ca. 30 Minuten in einen Reagenzglashalter gestellt. Dann wurden sie 10 Minuten zentrifugiert (20°C, 3600 rpm, Standzentrifuge ROTIXA 50 RS, Hettich). Der Überstand wurde in 2 ml Safe-Lock-Tubes (Eppendorf) abpipettiert. Die so hergestellten Serum-Aliquots der NT-Gruppen wurden bei -80°C, diejenigen der MetS-Gruppe und der Gruppe der Gesunden bei -20°C eingefroren und gelagert. Aus diesen Serum-Aliquots erfolgten die analytischen Bestimmungen der Parameter oxLDL und anti-oxLDL-IgG mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) im Batch.

## **2.3 Laborchemische Analysen**

### **2.3.1 Übliche klinisch-chemische Parameter**

Die in Tab. 2.4 dargestellten laborchemischen Parameter wurden gemäß der genannten Methode am Studientag im Routinebetrieb mit den hierfür validierten Geräten im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin des Klinikums Stuttgart gemessen.

**Tab. 2.4 Übliche klinisch-chemische Parameter**

<b>Parameter</b>	<b>Material</b>	<b>Methode</b>
<b>Dimension VISTA</b> (Siemens Healthcare Diagnostics)		
hsCRP	Serum	Nephelometrie
Gesamtcholesterin	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
HDL-Cholesterin	Heparin-Plasma	Fotometrie, direkt enzymatisch
LDL-Cholesterin	Heparin-Plasma	Fotometrie, direkt enzymatisch
VLDL-Cholesterin <sup>10</sup>	Heparin-Plasma	berechnet
Triglyceride	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
HbA1c	EDTA-Vollblut	Turbidimetrie
Glukose	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
Kreatinin	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
AST	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
ALT	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
TSH	Heparin-Plasma	Chemilumineszenz-Immunoassay
Kreatinin	Urin	Fotometrie, enzymatisch
gProtein/gKreatinin <sup>11</sup>	Urin	berechnet
<b>ADVIA Centaur</b> (Siemens Healthcare Diagnostics)		
C-Peptid	Heparin-Plasma	Chemilumineszenz-Immunoassay
<b>ADVIA 2120</b> (Siemens Healthcare Diagnostics)		
kleines Blutbild	EDTA-Vollblut	Durchflusszytometrie
<b>BN ProSpec</b> (Siemens Healthcare Diagnostics)		
Lp(a) <sup>12</sup>	Serum	Nephelometrie
<b>LC-MS/MS-Anlage aus Alliance 2695 und Quattro micro API</b> (Waters)		
Tacrolimus	EDTA-Vollblut	LC-MS/MS (Talspiegel)
Ciclosporin	EDTA-Vollblut	LC-MS/MS (Talspiegel)
<b>IMMULITE 2000</b> (Siemens Healthcare Diagnostics)		
IL-6 <sup>12</sup>	Serum	Chemilumineszenz-Immunoassay

Bisher noch nicht eingeführte Abkürzungen: EDTA, Ethylen-Diamin-Tetra-Acetat; AST, Aspartat-Aminotransferase; ALT, Alanin-Aminotransferase; TSH, Thyreoidea-stimulierendes Hormon; LC-MS/MS, Flüssigchromatographie mit Tandem-Massenspektrometrie.

<sup>10</sup> VLDL-Cholesterin wurde bei Triglyceriden < 400 mg/dl als Quotient aus Triglyceride ÷ 5 berechnet. Bei Triglyceriden > 400 mg/dl wurde VLDL nicht berechnet, da hier mit hoher Wahrscheinlichkeit Chylomikronen und andere atypische Lipoproteine (Remnants, IDL) vorlagen.

<sup>11</sup> Quotient aus Eiweiss im Urin und Kreatinin im Urin.

<sup>12</sup> Serum wurde bei -20°C oder -80°C eingefroren und Messung erfolgte im Batch.

### 2.3.2 OxLDL-Messung

#### Prinzip

In Abb. 2.1 ist das Prinzip eines Sandwich-ELISA schematisch dargestellt.

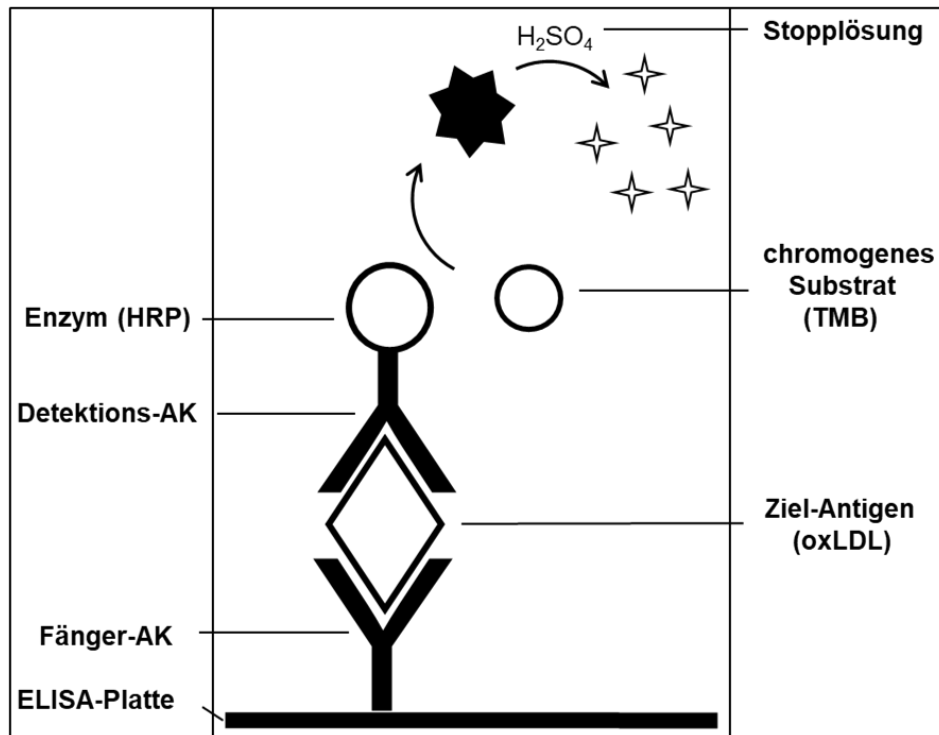


Abb. 2.1 Prinzip eines Sandwich-ELISA, in Anlehnung an [90]

Das Ziel-Antigen befindet sich wie in einem Sandwich zwischen zwei spezifischen AK (Fänger-AK und Detektions-AK mit Reporterenzym) und wird durch Zugabe eines Substrats und einer Stopplösung über eine Farbreaktion quantitativ bestimmt.

Abkürzungen: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Schwefelsäure; HRP, Meerrettichperoxidase; TMB, Tetramethylbenzidin; AK, Antikörper.

Mit einem Sandwich-ELISA können *Antigene* über eine enzymatische Farbreaktion quantitativ bestimmt werden. Der Name Sandwich-ELISA ist darauf zurückzuführen, dass sich das zu detektierende Antigen wie in einem Sandwich zwischen zwei AK befindet, wobei die AK jeweils an unterschiedliche Epitope des gesuchten Antigens binden. Die Mikrotiterstreifen sind hierfür mit einem spezifisch gegen das Ziel-Antigen gerichteten AK beschichtet. Nach Zugabe der Probe bindet das gesuchte Antigen während der Inkubationszeit spezifisch an den Fänger-AK (*capture antibody*). Um unspezifische Reaktionen zu vermeiden, werden alle nicht gebundenen Probenbestandteile durch mehrmalige Waschschritte entfernt. Sodann wird ein zweiter, mit einem Reporterenzym konjugierter

Detektions-AK zugegeben (*detection antibody*), der ebenfalls an das Ziel-Antigen bindet. Danach wird ein enzymspezifisches chromogenes Substrat hinzugefügt, wodurch das entstandene Produkt sichtbar gemacht wird. Durch Zusatz von Schwefelsäure wird die Reaktion gestoppt, was zu einem Farbumschlag führt. Die Farbintensität wird photometrisch gemessen und ist proportional zur Konzentration des Ziel-Antigens in den Proben.

### *Vorbereitung*

Die eingefrorenen Serum-Aliquots wurden im Kühlschrank aufgetaut und zusammen mit den Reagenzien auf Raumtemperatur (18-25°C) gebracht. Währenddessen wurde auf einem Protokollblatt die Belegung der Mikrotiterstreifen festgelegt, indem jeweils die Position für Standards, Proben und Kontrollen (immer Doppelbestimmungen) markiert wurden. Dann wurden für die Probenverdünnung jeweils zwei Safe-Lock-Tubes mit dem Pseudonymisierungscode der zu messenden Serumproben beschriftet. Die gefriergetrockneten Standards und Kontrollen wurden jeweils in 1000 µl destilliertem und deionisiertem Wasser aufgelöst. Danach wurden folgende Verdünnungen vorgenommen: 50 ml des Waschpuffer-Konzentrats mit 1000 ml destilliertem und deionisiertem Wasser (1:21), 1,2 ml des Enzym-Konjugats mit 12 ml des Enzym-Konjugatpuffers (1:11) und 50 ml des Verdünnungspuffers mit 150 ml destilliertem und deionisiertem Wasser (1:4). Dabei wurde jeweils auf eine gute Durchmischung geachtet.

Die Proben wurden in zwei Schritten verdünnt. Zunächst wurden je 2000 µl des Verdünnungspuffers und je 25 µl der Serumprobe in die ersten beschrifteten Tubes vorgelegt (Vorverdünnung 1:81) und durch mehrmaliges Schwenken der zuvor verschlossenen Tubes gemischt. Aus diesen vorverdünnten Proben wurden jeweils 25 µl entnommen, wiederum mit jeweils 2000 µl des Verdünnungspuffers in die zweiten vorbeschrifteten Tubes pipettiert und wieder durch mehrmaliges Schwenken der zuvor geschlossenen Tubes gemischt (Gesamtverdünnung 1:6561). Sofern nicht anderweitig angegeben, wurden alle Versuchsschritte bei Raumtemperatur (18-25°C) durchgeführt.

### *Durchführung*

In die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen, die mit dem murinen, monoklonalen Fänger-AK 4E6 gegen kovalent an ApoB-100 gebundene Aldehyde von humanem Cu-oxLDL beschichtet waren, wurden je 25  $\mu\text{l}$  der verdünnten Proben, Kontrollen und Standards gemäß der auf dem Protokollblatt festgelegten Reihenfolge pipettiert und jeweils 100  $\mu\text{l}$  Testpuffer nachgelegt. Die Mikrotiterplatte wurde mit selbstklebender Folie luftdicht abgedeckt und 2 Stunden auf einem Plattenschüttler (800 rpm) inkubiert. Während dieser Zeit wurde in der Serumprobe vorhandenes oxLDL spezifisch an den Fänger-AK gebunden. Die Kontrollen und Standards enthielten humanes Cu-oxLDL, das ebenfalls spezifisch an den primären AK gebunden wurde. Alle nicht gebundenen Partikel wurden mit dem Testpuffer verworfen. Daraufhin erfolgten sechs Waschschriffe mit je 350  $\mu\text{l}$  Waschpuffer. Reste des Waschpuffers wurden entfernt, indem die Mikrotiterstreifen auf Zellstoff kräftig ausgeklopft wurden. Anschließend wurden 100  $\mu\text{l}$  einer Lösung in die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen pipettiert, die den monoklonalen, murinen, mit dem Enzym Meerrettichperoxidase konjugierten, Detektions-AK 8A2-HRP enthielt. Die mit Folie luftdicht abgedeckte Mikrotiterplatte wurde 1 Stunde unter Schütteln (800 rpm) inkubiert. Während dieser Zeit bildete der zweite Detektions-AK mit oxLDL einen Antigen-AK-Komplex. Die Lösung, die den ungebundenen, überschüssigen Detektions-AK enthielt, wurde verworfen. Es folgten sechs Waschschriffe mit je 350  $\mu\text{l}$  Waschpuffer. Die Mikrotiterstreifen wurden danach erneut auf Zellstoff kräftig ausgeklopft. Dann wurde das chromogene Substrat Tetramethylbenzidin (je 200  $\mu\text{l}$ ) zugesetzt, wobei eine Blaufärbung entstand. Nach 15 Minuten wurde die Reaktion durch Zugabe von je 50  $\mu\text{l}$  Schwefelsäure beendet, was einen Farbumschlag von blau nach gelb verursachte. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte für 5 Sekunden auf den Schüttler gestellt und vorsichtig gemischt. Da die Farbintensität proportional zu der Konzentration von oxLDL war, erfolgte die Bestimmung der Extinktion photometrisch bei 450 nm (mit 620 nm als Referenz). Die Software des Photometers erstellte aus den Werten der Standards eine linear-logarithmisch skalierte Eichkurve. Anhand dieser Eichkurve konnte den gemessenen optischen Dichten der

Proben je eine Konzentration zugeordnet werden. Der jeweilige Verdünnungsfaktor wurde bei der Berechnung berücksichtigt. Die Nachweisgrenze lag nach Herstellerangaben bei < 1 µg/l.

### Material

Verwendete Geräte, Materialien und Reagenzien sind in Tab. 2.5 dargestellt.

**Tab. 2.5 Geräte, Materialien und Reagenzien der oxLDL-Messung**

<b>Geräte</b>	<b>Hersteller</b>
Standzentrifuge ROTIXA 50 RS	Hettich, Tuttlingen
Magnetrührer COMBIMAG RCO	IKA, Staufen
Vortex-Schüttler Reax top	Heidolph, Schwabach
Plattformschüttler Polymax 1040	Heidolph, Schwabach
Mikroplatten-Lesegerät MRX TC Revelation	Dynex, Chantilly, VA, US
Software Revelation, Version 4.25	Dynex, Chantilly, VA, US
<b>Materialien</b>	
variable 8-Kanalpipette Research (30-300 µl)	Eppendorf, Hamburg
variable Pipette Reference (10-100 µl, 100-1000 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen, epT.I.P.S. (20-300 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen (200 µl, 1000 µl)	Sarstedt, Nümbrecht
Safe-Lock Tubes (1,5 ml, 2 ml)	Eppendorf, Hamburg
<b>Reagenzien</b>	
Aqua dest., Ecotainer	B. Braun, Melsungen
Oxidized LDL ELISA Kit	Mercodia, Uppsala, SE

Abkürzungen: VA, Virginia; US, USA; dest., destilliert; SE, Schweden.

### 2.3.3 Anti-oxLDL-IgG-Messung

#### Prinzip

Mit einem indirekten ELISA können *Antikörper* quantitativ bestimmt werden. Hierbei wird der Nachweis des gesuchten AK aus der Probe nicht direkt, sondern indirekt über einen sekundären, mit einem Reporterenzym konjugierten Detektions-AK geführt. Dazu werden Mikrotiterstreifen verwendet, die mit einem für den Ziel-AK spezifischen Antigen beschichtet sind. Nach Zugabe der Probe



bindet der Ziel-AK während der Inkubationszeit spezifisch an das Antigen. Um unspezifische Reaktionen zu vermeiden, werden alle nicht gebundenen Probenbestandteile durch mehrmalige Waschschrte entfernt. Ein zweiter, mit einem Reporterenzym konjugierter AK wird dazugegeben, wobei sich ein Antigen-AK-AK-Komplex bildet. Danach wird ein enzymespezifisches chromogenes Substrat hinzugefügt. Durch Zusatz von Schwefelsäure wird die Reaktion gestoppt, was zu einem erneuten Farbumschlag führt. Die Farbintensität wird photometrisch gemessen und ist proportional zur Konzentration des Ziel-AK in den Proben. Abb. 2.2 zeigt schematisch das Prinzip eines indirekten ELISA.

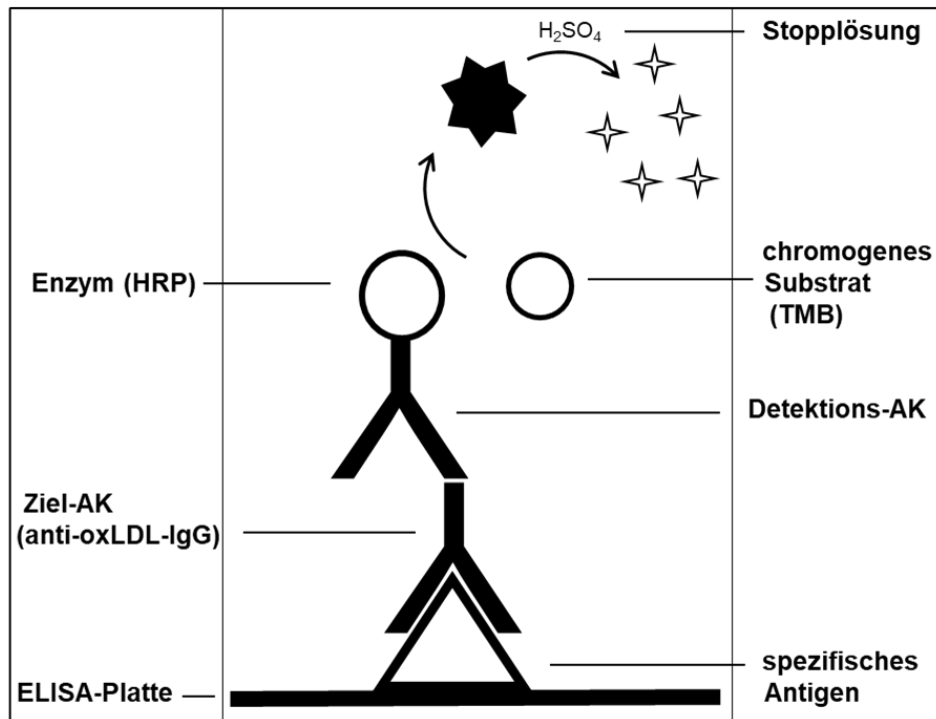


Abb. 2.2 Prinzip eines indirekten ELISA

Die Festphase ist mit dem Antigen beschichtet, an das der Ziel-AK bindet. Durch Zugabe eines zweiten, mit einem Reporterenzym konjugierten Detektions-AK, der spezifisch an den primären, gesuchten AK bindet, wird der Ziel-AK über Zugabe eines Substrats und einer Stopplösung indirekt durch eine Farbreaktion quantitativ bestimmt.

Abkürzungen: H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, Schwefelsäure; HRP, Meerrettichperoxidase; TMB, Tetramethylbenzidin; AK, Antikörper.

### Vorbereitung

Die eingefrorenen Serum-Aliquots wurden im Kühlschrank aufgetaut und zusammen mit den Reagenzien auf Raumtemperatur (18-25°C) gebracht.

Währenddessen wurde auf einem Protokollblatt die Belegung der Mikrotiterstreifen festgelegt, indem jeweils die Position für Leerwert, Standards, Proben und Kontrollen (immer Doppelbestimmungen) markiert wurde. Danach wurden 50 ml des Waschpuffer-Konzentrats mit 950 ml destilliertem und deionisiertem Wasser verdünnt (1:20). Sofern nicht anderweitig angegeben, wurden alle Versuchsschritte bei Raumtemperatur (18-25°C) durchgeführt.

### *Durchführung*

Für die Vorverdünnung wurden in die Vertiefungen der Verdünnungsstreifen je 200 µl Verdünnungspuffer vorgelegt. Hierzu wurden paarweise je 50 µl Standards, Proben und Kontrollen gegeben (Vorverdünnung 1:5) und vorsichtig gemischt. Innerhalb von 15 Minuten wurden in die Vertiefungen der Mikrotiterstreifen, die mit humanen Cu-oxLDL beschichtet waren, je 200 µl Verdünnungspuffer und je 20 µl der vorverdünnten Proben, Kontrollen und Standards gemäß der auf dem Protokollblatt festgesetzten Reihenfolge pipettiert (Gesamtverdünnung 1:55). Während der anschließenden 90-minütigen Inkubationszeit bei 37°C bildete sich aus dem in den Proben, Standards und Kontrollen vorhandenen humanen anti-oxLDL-IgG und dem an der Festphase gebundenen oxLDL ein Antigen-AK-Komplex. Nach 90 min wurde der Verdünnungspuffer, in dem die überschüssigen Partikel gelöst waren, verworfen. Es folgten vier Waschschritte mit je 300 µl Waschpuffer. Anschließend wurden 100 µl einer Lösung, die den murinen, mit dem Enzym Meerrettichperoxidase konjugierten, anti-humanen IgG-Detektions-AK enthielt, zugegeben und 30 Minuten inkubiert. Die Lösung mit dem überschüssigen, ungebundenen Detektions-AK wurde verworfen und nicht gebundene Partikel wiederum durch viermaliges Waschen mit je 300 µl Waschpuffer entfernt. Dann wurden je 100 µl des enzymespezifischen chromogenen Substrats Tetramethylbenzidin hinzugegeben und das Gemisch im Dunkeln inkubiert, wobei eine Blaufärbung entstand. Die Reaktion wurde nach 15 Minuten durch Zusatz von je 50 µl Schwefelsäure beendet, was zu einem Farbumschlag von blau nach gelb führte. Die Farbintensität des Produkts, die proportional zu der Konzentration von anti-oxLDL-IgG in den Proben war, wurde photometrisch bestimmt. Nach vorsichtigem Mischen durch leichtes Schütteln erfolgte die

Messung der Extinktion bei 450 nm (mit 620 nm als Referenz). Die Software des Photometers war so programmiert, dass zunächst die optische Dichte des Leerwerts von allen gemessenen Extinktionen abgezogen wurde und dann eine linear-logarithmisch skalierte Eichkurve aus den Werten der Standards erstellt wurde, anhand derer den gemessenen optischen Dichten der Proben je eine Konzentration zugeordnet werden konnte. Die jeweiligen Verdünnungsfaktoren wurden bei der Berechnung berücksichtigt. Die Proben, die eine Konzentration > 1100 µg/ml enthielten, wurden nach zusätzlicher Vorverdünnung (1:3) gemäß dem vorbeschriebenen Verfahren erneut gemessen (Gesamtverdünnung 1:165). Wiesen die Proben auch nach der zweiten Vorverdünnung noch Konzentrationen > 1100 µg/ml auf, wurden sie erneut im Verhältnis 1:11 vorverdünnt und wiederum neu gemessen (Gesamtverdünnung 1:605).

### *Material*

Verwendete Geräte, Materialien und Reagenzien sind in Tab. 2.6 dargestellt.

**Tab. 2.6 Geräte, Materialien und Reagenzien der anti-oxLDL-IgG-Messung**

<b>Geräte</b>	<b>Hersteller</b>
ELISA-Vollautomat Dynex DS2	Dynex, Chantilly, VA, US
Software DS-Matrix	Dynex, Chantilly, VA, US
Rüttler Sarmix 2-n	Sarstedt, Nümbrecht
<b>Materialien</b>	
variable Pipette Reference (10-100 µl, 100-1000 µl)	Eppendorf, Hamburg
Pipettenspitzen (200 µl, 1000 µl)	Sarstedt, Nümbrecht
DS2 Probenspitzen blau	Dynex, Chantilly, VA, US
DS2 Reagenzienspitzen weiss	Dynex, Chantilly, VA, US
DS2 Verdünnungsstreifen	Dynex, Chantilly, VA, US
DS2 Standard- und Kontrollgefäße (2 ml)	Dynex, Chantilly, VA, US
DS2 Reagenzienflaschen (15 ml, 25 ml)	Dynex, Chantilly, VA, US
<b>Reagenzien</b>	
Aqua dest., Ecotainer	B. Braun, Melsungen
oLAB IgG ELISA Kit	Biomedica, Wien, AT

Abkürzungen: VA, Virginia; US, USA; dest., destilliert; AT, Österreich.

## 2.4 Statistik

Die statistischen Auswertungen wurden mit der Statistiksoftware IBM SPSS Statistics für Windows, Version 24.0 (IBM Corp., Armonk, NY, USA) durchgeführt.

### *Prüfung auf Vorliegen von Normalverteilung*

Zunächst wurden alle metrischen Variablen daraufhin überprüft, ob in der jeweiligen Gruppe Normalverteilung vorlag. Dies erfolgte grafisch anhand des Q-Q-Diagramms, Histogramms mit Normalverteilungskurve und Box-Whisker-Plots sowie inferenzstatistisch mit dem Shapiro-Wilk-Test. Zusätzlich wurden die statistischen Kennzahlen Schiefe und Exzess ermittelt, wobei bei beiden bis zu einem Wert  $> -1$  bis  $< 1$  Normalverteilung angenommen wurde. Bei einem Wert zwischen  $|1|$  und  $|2|$  der beiden Kennzahlen wurde aus der jeweiligen Kennzahl und ihrem Standardfehler der Quotient gebildet. Wenn das Ergebnis hieraus  $> -2$  bis  $< 2$  war, wurde ebenfalls Normalverteilung angenommen.

### *Lage- und Streumaße*

Bei der Ergebnisdarstellung wurden folgende Lage- und Streumaße angegeben:

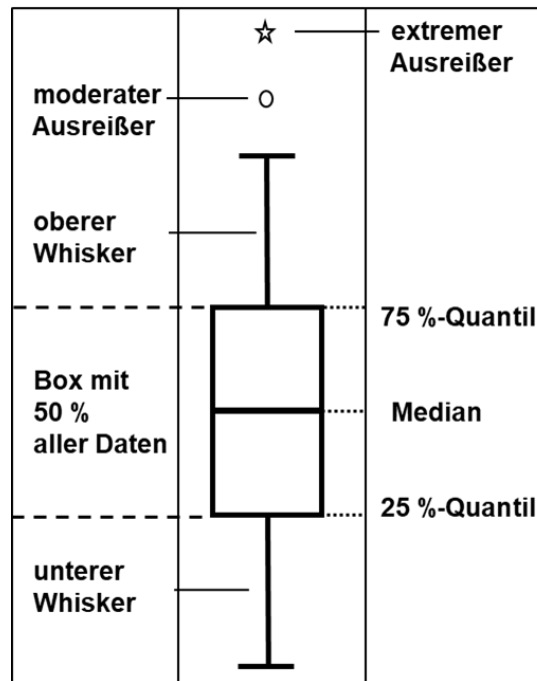
- absolute und relative Häufigkeiten, dargestellt als  $n$  (%), bei nominalen und ordinalen Parametern
- Mittelwert ( $M$ ) und Standardabweichung ( $SD$ ), dargestellt als  $M \pm SD$ , bei metrischen, normalverteilten Variablen
- Median ( $Md$ ) und Interquartilbereich (IQR) durch Nennung des 1. und 3. Quartils, dargestellt als  $Md$  (IQR), bei metrischen, nicht normalverteilten Variablen

Sofern eine metrische Variable in mindestens einer Gruppe nicht normalverteilt war, wurde einheitlich für alle vier Gruppen der  $Md$  (IQR) angegeben.

### *Omnibus-Test und Anwendungsvoraussetzungen*

Die vorgenannten Datenanalysen ergaben, dass bei den drei Zielvariablen oxLDL, anti-oxLDL-IgG und hsCRP keine Normalverteilung vorlag. Deshalb wurde zunächst eine Datentransformation mittels Logarithmieren zur Basis 10 durchgeführt. Hierdurch konnte jeweils in allen Gruppen eine annähernde

Normalverteilung erreicht werden, was durch eine erneute Verteilungsanalyse bestätigt werden konnte. Die Verteilung der drei transformierten Zielvariablen wurde grafisch als Box-Whisker-Plot dargestellt (Abb. 2.3).



**Abb. 2.3** Box-Whisker-Plot, in Anlehnung an [91]

Die Box zeigt die Lage von 50 % der Wertausprägungen der Variable, den Interquartilbereich. Der untere Rand der Box beschreibt den Wert des ersten Quartils, der obere Rand der Box repräsentiert den Wert des dritten Quartils. Der Median (zweites Quartil) wird als Querstrich in der Box dargestellt. Unter- und oberhalb der Box zeigen die „Whiskers“ (Barthaare) als Striche die Lage der übrigen Datenpunkte bis zu einem Abstand des maximal eineinhalbfachen Interquartilbereichs von den Grenzen der Box und enden beide an einem Datenpunkt (Maximum und Minimum). Datenpunkte, die zwischen dem eineinhalbfachen und dem dreifachen Interquartilbereich bzw. mehr als den dreifachen Interquartilbereich von den Grenzen der Box entfernt sind, werden als moderate bzw. extreme Ausreißer gesondert mit einem Kreis bzw. Stern gekennzeichnet.

Maximal zwei moderate Ausreißer pro Gruppe wurden toleriert. Mit dem Levene-Test wurde bestätigt, dass bei allen drei Zielvariablen Varianzhomogenität bestand. Da die einfaktorielle Varianzanalyse (ANOVA), bezogen auf die Abweichung von der Normalverteilungsannahme bei bestehender Varianzhomogenität, robust ist und eine hohe Power aufweist, wurde diese als Omnibus-Test gewählt. Mit der einfaktoriellen ANOVA wurde die jeweilige Zielvariable hsCRP, oxLDL und anti-oxLDL-IgG daraufhin untersucht, ob zwischen den vier unabhängigen

Gruppen ein Unterschied bestand. Insgesamt wurde dreimal zweiseitig auf einen Unterschied getestet.

### *$\alpha$ -Fehler-Korrektur*

Wären die drei Fragestellungen bezüglich des Unterschieds der Zielvariablen zwischen den Gruppen unabhängig und würden sie unter Anwendung mehrerer statistischer Tests an den gleichen Daten bei jeweils  $p \leq 0,05$  auf ihre statistische Signifikanz hin überprüft (mehrere p-Werte entsprechen multiplen Testen), würde die Wahrscheinlichkeit für einen Fehler 1. Art

$$\alpha' = 1 - (1 - \alpha)^{\text{Anzahl der durchgeführten Tests}} [91] = 1 - (1 - 0,05)^3 = 0,143 = 14,3 \%$$

betragen. Sie läge damit in etwa beim Dreifachen der vorgegebenen Fehlerwahrscheinlichkeit von 5 % ( $\alpha$ -Fehler-Kumulierung).

Um das globale Signifikanzniveau von insgesamt 5% zu halten, wurde für alle drei Omnibus-Tests (einfaktorielle ANOVAs) das jeweils pro Zielvariablenvergleich gültige Signifikanzniveau im Rahmen der  $\alpha$ -Fehler-Korrektur gemäß

$$\alpha' = 1 - (1 - \alpha)^{\text{Anzahl der durchgeführten Tests}} = 1 - (1 - 0,02)^3 = 0,059 = 5,9 \%$$

auf je  $p \leq 0,02$  herabgesetzt. Da die vorstehend genannte Formel nur bei mehreren unabhängigen Fragestellungen an denselben Daten zutreffende Ergebnisse liefert, hier jedoch teilweise voneinander abhängige Fragestellungen vorlagen, stellte die berechnete Wahrscheinlichkeit für den Fehler 1. Art von 5,9 % bei den drei Omnibus-Tests nur eine Schätzung für die obere Grenze dar und war tatsächlich niedriger. Für den Post-hoc-Test wurde, wie im folgenden Absatz beschrieben, zusätzlich eine  $\alpha$ -Fehler-Korrektur vorgenommen.

### *Post-hoc-Test*

Bei Feststellung eines signifikanten Unterschieds ( $p \leq 0,02$ ) wurde im Anschluss an die ANOVA ein Post-hoc-Test durchgeführt. Durch paarweisen Vergleich der Gruppenmittelwerte wurde hierbei untersucht, welche Gruppenpaare sich im

Einzelnen signifikant unterschieden. Es wurde der Post-hoc-Test nach Gabriel wegen leicht unterschiedlicher Gruppengröße bei vorhandener Varianzhomogenität gewählt [91], bei dem im verwendeten Statistikprogramm auf dem Signifikanzniveau von  $p \leq 0,02$  für alle 6 getesteten Kombinationen eine automatische p-Wert-Adjustierung, entsprechend einer  $\alpha$ -Fehler-Korrektur nach Bonferroni, vorgenommen wurde.

*Effektstärkenberechnung*

Zur Berechnung der Größenunterschiede der Zielvariablen zwischen den einzelnen Gruppen anhand der Effektstärke Cohen's d, wurde die folgende Formel angewandt, die neben den Gruppenmittelwerten die gepoolte (= mittlere) Standardabweichung mit Besselkorrektur enthält [92]:

$$d_s = \frac{M_1 - M_2}{\sqrt{\frac{(n_1 - 1)SD_1^2 + (n_2 - 1)SD_2^2}{n_1 + n_2 - 2}}}$$

Die Interpretation der berechneten Effektstärke erfolgte gemäß der in Tab. 2.7 angegebenen Einordnung:

**Tab. 2.7 Interpretation der Effektstärke Cohen's d, modifiziert nach [93]**

Effektgröße nach Cohen	Wertebereich für d
kein	< 0,2
klein	≥ 0,2 - < 0,5
mittelgroß	≥ 0,5 - < 0,8
groß	≥ 0,8

### 3 Ergebnisse

#### 3.1 Patientencharakteristika

##### 3.1.1 Blutdruckwerte, demografische und anthropometrische Daten

Für die vorliegende Arbeit konnten insgesamt N = 208 Studienteilnehmer gemäß den vorgenannten Ein- und Ausschlusskriterien gewonnen werden. Im Einzelnen waren dies n = 52 gesunde Probanden als Kontrollgruppe, n = 50 NT mit MetS, n = 56 NT ohne MetS und n = 50 Patienten mit MetS. Die demografischen und anthropometrischen Daten aller Teilnehmer sowie deren Blutdruckwerte zeigt Tab. 3.1 im Überblick.

**Tab. 3.1 Blutdruckwerte, demografische und anthropometrische Daten**

	Gesunde Probanden n = 52	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50	Patienten mit MetS n = 50
männlich	23 (44 %)	39 (70 %)	31 (62 %)	24 (48 %)
weiß/kaukasisch	52 (100 %)	55 (98 %)	49 (98 %)	50 (100 %)
Alter (Jahre)	37 ± 10	52 ± 14	53 ± 13	59 ± 12
RR systolisch (mmHg)	110 (110-120)	125 (116-130)	130 (120-140)	140 (130-140)
RR diastolisch (mmHg)	70 (60-80)	80 (71-85)	80 (74-85)	80 (75-90)
Bauchumfang (cm)	86 ± 8	90 ± 10	102 ± 13	115 ± 13
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	24,1 (22,0-26,4)	22,9 (21,5-25,2)	26,8 (23,6-30,7)	30,8 (28,1-34,5)

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; RR, Blutdruck; BMI, Body Mass Index.

Anmerkungen: Bei den Patienten mit MetS fehlten Angaben zum BMI bei n = 3 Patienten. Sowohl bei den NT ohne MetS als auch bei den NT mit MetS fehlten Angaben zum Bauchumfang bei n = 1 Patient.

Angaben: Absolute und relative Häufigkeiten als n (%), Median und Interquartilbereich als Md (IQR) oder Mittelwert und Standardabweichung als M ± SD.

Bei beiden NT-Gruppen überwog der Männeranteil (70% bzw. 62%), bei der gesunden Kontrollgruppe und der MetS-Gruppe war dagegen der Frauenanteil etwas höher (56% bzw. 52%). Nahezu alle Studienteilnehmer waren Kaukasier.



Die Patienten der MetS-Gruppe waren am ältesten (M = 59 Jahre), das Durchschnittsalter der beiden NT-Gruppen war nahezu gleich hoch (M = 52 bzw. 53 Jahre), wohingegen die gesunde Kontrollgruppe jünger war (M = 37 Jahre). Der systolische Blutdruck stieg von der gesunden Kontrollgruppe (Md = 110 mmHg) über die beiden NT-Gruppen (Md = 125 bzw. 130 mmHg) bis zur Gruppe der MetS-Patienten auf einen Median von 140 mmHg an. Im Gegensatz hierzu zeigte sich beim diastolischen Blutdruck nur ein geringer Unterschied zwischen der gesunden Kontrollgruppe und den drei Patientengruppen (Md = 70 vs. 80 mmHg). Der Bauchumfang nahm von der Kontroll-Gruppe (M = 86 cm) über die NT-Gruppe ohne MetS (M = 90 cm) und die NT-Gruppe mit MetS (M = 102 cm) bis zur MetS-Gruppe (M = 115 cm) zu. Die NT-Gruppe ohne MetS wies einen niedrigeren BMI (Md = 22,9 kg/m<sup>2</sup>) als die gesunde Kontrollgruppe (Md = 24,1 kg/m<sup>2</sup>) auf. Einen höheren BMI hatte die NT-Gruppe mit MetS (Md = 26,8 kg/m<sup>2</sup>), gefolgt von der MetS-Gruppe. Letztgenannte wies mit einem Median von 30,8 kg/m<sup>2</sup> den höchsten BMI auf. Wie in Tab. 3.2 dargestellt, kann gemäß der WHO anhand des BMI eine Klassifikation in verschiedene Gewichtskategorien vorgenommen werden.

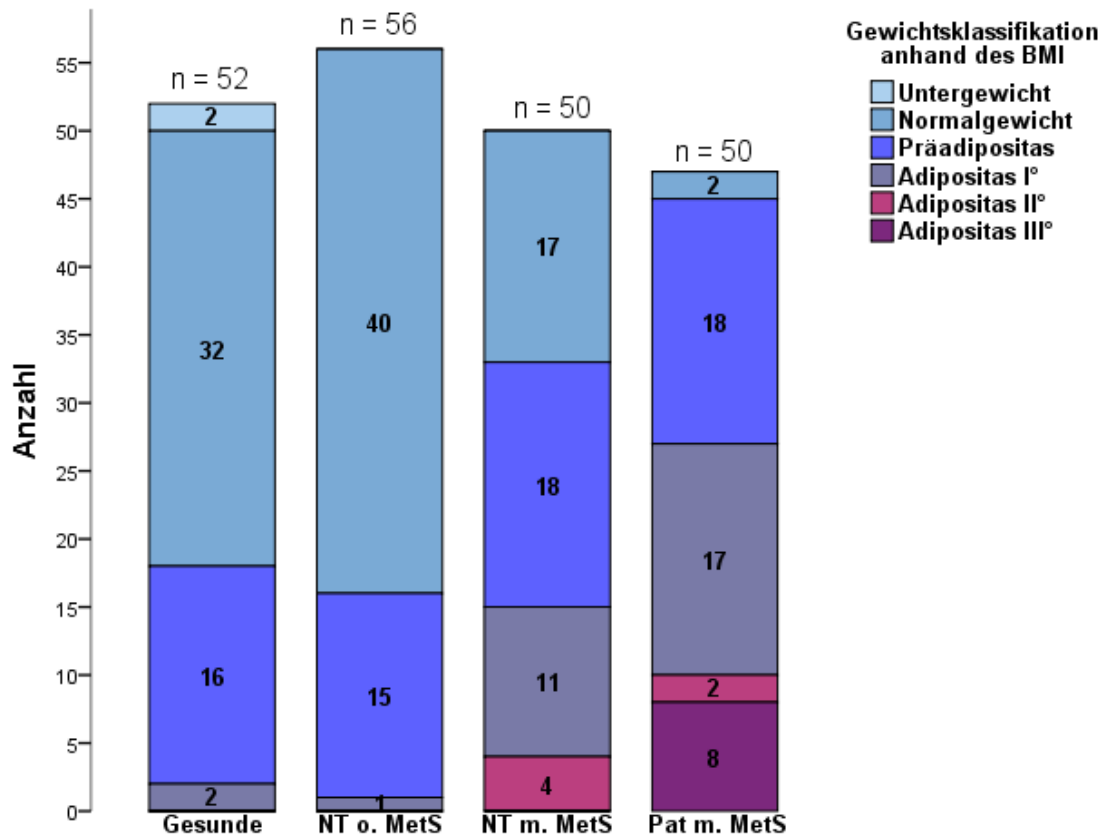
**Tab. 3.2 WHO-Gewichtsklassifikation anhand des BMI [94]**

<b>Kategorie (Europa, USA)</b>	<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>
Untergewicht	< 18,5
Normalgewicht	18,5 - 24,9
Präadipositas	25,0 - 29,9
Adipositas I°	30,0 - 34,9
Adipositas II°	35,0 - 39,9
Adipositas III°	≥ 40

Abkürzungen: WHO, Weltgesundheitsorganisation; BMI, Body Mass Index.

Abb. 3.1 zeigt die BMI-Verteilung der Probanden und Patienten gemäß der WHO-Klassifikation im Gruppenvergleich.

## Ergebnisse



**Abb. 3.1 Gewichtsverteilung gemäß der WHO-Klassifikation**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; o., ohne; m., mit; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; BMI, Body Mass Index; WHO, Weltgesundheitsorganisation.

Anmerkungen: Bei den Patienten mit MetS fehlten Angaben zum BMI bei n = 3 Patienten.  
Angaben: Anzahl der Patienten (n) pro BMI-Kategorie und Gruppe.

Der Gruppenvergleich ergab bei der gesunden Kontrollgruppe und der NT-Gruppe ohne MetS eine annähernd gleiche Gewichtsverteilung von Normalgewichtigen und Präadipösen. Die meisten Normalgewichtigen befanden sich in der NT-Gruppe ohne MetS mit n = 40 Patienten. In der gesunden Kontrollgruppe kamen n = 2 Probanden mit Untergewicht vor. Die NT-Gruppe mit MetS wies einen ungefähr gleichgroßen Anteil an Normalgewichtigen (n = 17) und Präadipösen (n = 18) auf. In der MetS-Gruppe waren die Anteile von präadipösen Patienten (n = 18) und Patienten mit Adipositas I° (n = 17) ungefähr gleich groß. Darüber hinaus war hier bei n = 8 Patienten eine prämorbid Adipositas vorhanden. Nur n = 2 Patienten der MetS-Gruppe waren normalgewichtig. Insgesamt fanden sich die meisten Patienten mit einer Adipositas in der MetS-Gruppe (n = 27), gefolgt von der NT-Gruppe mit MetS (n = 15).

### 3.1.2 Klinische Charakteristika

Die Patienten mit MetS sowie beide NT-Gruppen litten an Stoffwechselerkrankungen wie DM und dessen Folgeerkrankungen. In Tab. 3.3 sind Anzahl der an DM erkrankten Patienten, Diabetesdauer und Folgeerkrankungen im Gruppenvergleich dargestellt.

**Tab. 3.3 Diabetes mit Erkrankungsdauer und Folgeerkrankungen**

	Gesunde Probanden n = 52	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50	Patienten mit MetS n = 50
DMT2	-	-	7 (14 %)	46 (92 %)
NODAT	-	4 (7 %)	10 (20 %)	-
Diabetesdauer (Jahre)	-	4 (1-6)	4 (2-16)	10 (2-15)
Mikroangiopathien	-	1 (2 %)	5 (10 %)	33 (66 %)
Makroangiopathien	-	4 (7 %)	10 (20 %)	13 (26 %)

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; DMT2, Diabetes mellitus Typ 2; NODAT, neu aufgetretener Diabetes mellitus nach Transplantation.

Angaben: Absolute und relative Häufigkeiten als n (%) oder Median und Interquartilbereich als Md (IQR).

Die MetS-Gruppe wies die höchste Anzahl an Diabetikern (DMT2) auf (92 %). Der Anteil der an Diabetes (DMT2 und NODAT) erkrankten Patienten in der NT-Gruppe mit MetS betrug lediglich 34 %. Die längste Diabetesdauer (Md = 10 Jahre) wurde ebenfalls bei der MetS-Gruppe festgestellt. In beiden NT-Gruppen lag die Erkrankungsdauer dagegen deutlich darunter (Md je = 4 Jahre), wobei 50 % der Patienten der NT-Gruppe mit MetS eine wesentlich längere Diabetesdauer aufwiesen (IQR = 2-16 Jahre) als die NT-Gruppe ohne MetS (IQR = 1-6 Jahre). Der Anteil der Patienten mit Mikro- und Makroangiopathien war bei der NT-Gruppe ohne MetS kleiner als bei der NT-Gruppe mit MetS. Den höchsten Anteil an Diabetes-Folgeerkrankungen wies die MetS-Gruppe auf. Bei letztgenannter Gruppe wurden bei 66 % der Patienten, bei der NT-Gruppe mit MetS nur bei 10 % Mikroangiopathien diagnostiziert. Wie viele Patienten je Gruppe an Mikroangiopathien erkrankt waren, zeigt Tab. 3.4.

## Ergebnisse

**Tab. 3.4 Mikroangiopathien**

				Gesunde	NT	NT	Pat.	
				n = 52	o. MetS n = 56	m. MetS n = 50	m. MetS n = 50	
<b>dNP</b>	nein	<b>dRP</b>	nein <b>dPNP</b>	nein	52	55	45	17
			ja	ja	-	-	-	10
	ja	<b>dRP</b>	nein <b>dPNP</b>	nein	-	-	-	-
				ja	-	-	-	-
			ja <b>dPNP</b>	nein	-	-	1	7
				ja	-	-	-	12
	ja	<b>dRP</b>	ja <b>dPNP</b>	nein	-	1	1	1
				ja	-	-	3	3

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; o., ohne; m., mit; MetS, Metabolisches Syndrom; dNP, diabetische Nephropathie; dRP, diabetische Retinopathie; dPNP, diabetische Polyneuropathie.

Von den im Einzelnen diagnostizierten Mikroangiopathien, nämlich dNP, dRP und dPNP, litten n = 12 Patienten der MetS-Gruppe an einer Kombination aus dNP und dPNP, n = 7 Patienten an einer dNP und n = 10 Patienten an einer dPNP. Sowohl in der NT-Gruppe mit MetS als auch in der MetS-Gruppe wiesen n = 3 Patienten eine Kombination aus dNP, dRP und dPNP auf. Darüber hinaus wurden, wie Tab. 3.5 zeigt, bei den Patienten auch verschiedene Makroangiopathien diagnostiziert.

**Tab. 3.5 Makroangiopathien**

				Ge- sunde	NT	NT	Pat.	
				n = 52	o. MetS n = 56	m. MetS n = 50	m. MetS n = 50	
<b>pAVK</b>	nein	<b>KHK</b>	nein <b>cAVK</b>	nein	52	52	40	37
				ja	-	3	-	5
			ja <b>cAVK</b>	nein	-	1	6	1
				ja	-	-	-	1
	ja	<b>KHK</b>	nein <b>cAVK</b>	nein	-	-	3	2
				ja	-	-	-	1
			ja <b>cAVK</b>	nein	-	-	1	2
				ja	-	-	-	1

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; o., ohne; m., mit; MetS, Metabolisches Syndrom; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; KHK, koronare Herzkrankheit; cAVK, cerebrale arterielle Verschlusskrankheit.

Bezogen auf die Anzahl der an Makroangiopathien erkrankten Patienten bestand, wie in Tab. 3.3. dargestellt, nur ein geringer Unterschied zwischen der NT-Gruppe mit MetS (20 %) und der MetS-Gruppe (26 %). Allerdings waren, wie Tab. 3.5 zeigt, in der MetS-Gruppe die meisten Kombinationen an Makroangiopathien vorhanden. Hier wurde bei n = 1 Patient eine Kombination aus pAVK, KHK und cAVK, bei n = 2 Patienten eine Kombination aus pAVK und KHK, bei n = 1 Patient eine pAVK und cAVK, bei n = 1 Patient eine KHK und cAVK, bei n = 2 Patienten eine pAVK, bei n = 1 Patient eine KHK und bei n = 5 Patienten eine cAVK diagnostiziert. Bei der NT-Gruppe mit MetS überwogen dagegen die Patienten mit KHK (n = 6), gefolgt von n = 3 Patienten mit pAVK. Lediglich n = 1 Patient wies eine Kombination aus KHK und pAVK auf. Bei der NT-Gruppe ohne MetS hatte nur n = 1 Patient eine KHK und n = 3 Patienten litten an einer cAVK. Sowohl Patienten der MetS-Gruppe als auch der NT-Gruppen wurden wegen AHT, Hypercholesterinämie und DM therapiert. Die Anzahl der Patienten mit kardiovaskulärer und antidiabetischer Medikation ist in Tab. 3.6 dargestellt.

**Tab. 3.6 Kardiovaskuläre und antidiabetische Medikation**

	Gesunde Probanden n = 52	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50	Patienten mit MetS n = 50
Statin	-	17 (30 %)	32 (64 %)	27 (54 %)
Fibrat	-	-	-	-
Antihypertonikum (≥ 1)	-	48 (86 %)	47 (94 %)	44 (88 %)
OAD (≥ 1), GLP-1-Analogen	-	3 (5 %)	6 (12 %)	38 (76 %)
Insulin (BOT, SIT, CT, ICT)	-	1 (2 %)	8 (16 %)	24 (48 %)

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; OAD, orales Antidiabetikum; GLP-1, Glucagon-like Peptide-1; BOT, basal unterstützte orale Therapie; SIT, supplementäre Insulintherapie; CT, konventionelle Insulintherapie; ICT, intensivierete konventionelle Insulintherapie.

Angaben: Absolute und relative Häufigkeiten als n (%).

Lipidsenkung erfolgte mittels Statintherapie am häufigsten (64 %) bei der NT-Gruppe mit MetS. In der MetS-Gruppe nahmen 54% aller Patienten ein Statin ein. Die NT-Gruppe mit MetS wurde am häufigsten (94 %) mit mindestens einem

## Ergebnisse

Antihypertonikum therapiert. Bei der NT-Gruppe ohne MetS (86 %) sowie der MetS-Gruppe (88 %) bestand kein wesentlicher Unterschied in der Häufigkeit der Verordnung der antihypertensiven Medikation. Bei den an DM erkrankten Patienten der MetS-Gruppe erfolgte am häufigsten eine Therapie mit mindestens einem oralen Antidiabetikum/Glucagon-like Peptide-1 (GLP-1)-Analogon (76 %) und Insulin (48 %).

Die Patienten der beiden NT-Gruppen unterschieden sich hinsichtlich der zur NTx führenden Primärerkrankung sowie in Bezug auf Art und Dauer der vorangegangenen Dialyse, worüber Tab. 3.7 einen Überblick gibt.

**Tab. 3.7 Primärerkrankungen sowie Dialyseart und -dauer**

	NT ohne MetS n = 56		NT mit MetS n = 50	
Glomerulonephritis	30	(53,6 %)	15	(30,0 %)
interstitielle Nephritis	1	(1,8 %)	6	(12,0 %)
Zystennieren (ADPKD)	10	(17,9 %)	3	(6,0 %)
diabetische Nephropathie	1	(1,8 %)	4	(8,0 %)
hypertensive Nephrosklerose	2	(3,6 %)	3	(6,0 %)
Vaskulitis	1	(1,8 %)	3	(6,0 %)
Kollagenose	3	(5,4 %)	-	-
sonstige	2	(3,6 %)	11	(22,0 %)
unklare Genese	6	(10,7 %)	5	(10,0 %)
präemptiv	6	(11,8 %)	3	(6,7 %)
Hämodialyse	36	(70,6 %)	33	(73,3 %)
Peritonealdialyse	9	(17,6 %)	9	(20,0 %)
Dialysedauer (Jahre)	9 ± 5		8 ± 4	

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; ADPKD, autosomal-dominante polyzystische Nierenerkrankung.

Anmerkungen: Bei den NT ohne MetS fehlten Angaben zur Dialyseart bei n = 5 Patienten und zur Dialysedauer bei n = 11 Patienten. Bei den NT mit MetS fehlten Angaben zur Dialyseart bei n = 5 Patienten und zur Dialysedauer bei n = 8 Patienten. Zu den sonstigen Primärerkrankungen wurden das hämolytisch-urämische Syndrom, das Alport-Syndrom, Schrumpfnieren und Urolithiasis gezählt. Präemptiv bedeutet vor Einleitung einer Dialysetherapie.

Angaben: Absolute und relative Häufigkeiten als n (%) oder Mittelwert und Standardabweichung als M ± SD.

Die Primärerkrankung, die bei beiden NT-Gruppen am häufigsten zur NTx führte, war die Glomerulonephritis. Sie kam bei der NT-Gruppe ohne MetS häufiger (54 %) vor als bei der NT-Gruppe mit MetS (30 %). Weitere häufige Primärerkrankungen waren bei der NT-Gruppe ohne MetS die ADPKD (18 %) sowie bei

der NT-Gruppe mit MetS sonstige Erkrankungen (22 %), wozu in dieser Arbeit das hämolytisch-urämische Syndrom, das Alport-Syndrom, Schrumpfnieren und Urolithiasis gehörten. Vor NTx waren 88 % der NT ohne MetS sowie 93 % der NT mit MetS dialysepflichtig. In beiden Gruppen stellte die Hämodialyse die häufigste Dialyseart dar. Die Dialysedauer (M = 9 bzw. 8 Jahre) war in beiden Gruppen nahezu identisch. Transplantationsart und -häufigkeit, Posttransplantationsdauer sowie Abstoßungen sind in Tab. 3.8 dargestellt.

**Tab. 3.8 Transplantationsart und -häufigkeit, Posttransplantationsdauer sowie Rejektionen**

	NT ohne MetS n = 56		NT mit MetS n = 50	
Lebendspende (verwandt)	14	(25 %)	7	(14 %)
Lebendspende (nicht verwandt)	6	(11 %)	7	(14 %)
postmortale Nierenspende	36	(64 %)	36	(72 %)
Ersttransplantation	53	(95 %)	42	(84 %)
Mehrfachtransplantation (≥ 2)	3	(5 %)	8	(16 %)
Posttransplantationsdauer (Jahre)	4	(2-7)	2	(1-5)
mindestens eine Rejektion	12	(21 %)	25	(50 %)

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom.

Angaben: Absolute und relative Häufigkeiten als n (%) oder Median und Interquartilbereich als Md (IQR).

Zum Zeitpunkt der Studienteilnahme lag die NTx bei den NT ohne MetS (Md = 4 Jahre) doppelt so lang zurück wie bei den NT mit MetS (Md = 2 Jahre). Die postmortale Nierenspende war in beiden Gruppen die häufigste Transplantationsart. 95% der NT ohne MetS und 84% der NT mit MetS waren ersttransplantierte Patienten. In der Gruppe mit MetS war die Anzahl der Mehrfachtransplantierten jedoch dreimal so hoch wie in der Gruppe ohne MetS (16 % vs. 5 %). Bei der NT-Gruppe mit MetS hatte die Hälfte der Patienten mindestens eine Rejektion, wohingegen bei der NT-Gruppe ohne MetS nur bei 21% der Patienten mindestens eine Abstoßung festgestellt wurde. Die zur Vermeidung von Rejektionen verordnete immunsuppressive Medikation zeigt Tab. 3.9 im Gruppenvergleich.

**Tab. 3.9 Immunsuppressive Medikation**

	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50
Anzahl Patienten mit Tac	45 (80 %)	41 (82 %)
Tagesdosis Tac (mg)	3 (2-4)	3 (2-4)
Tac-Talspiegel im Blut (µg/l)	4,5 (4,2-5,4)	5,0 (4,2-6,2)
Triple-Therapie mit Tac	36 (64 %)	33 (66 %)
Anzahl Patienten mit CsA	11 (20 %)	9 (18 %)
Tagesdosis CsA (mg)	140 (120-185)	175 (130-213)
CsA-Talspiegel im Blut (µg/l)	84 (64-95)	81 (68-85)
Triple-Therapie mit CsA	7 (13 %)	6 (12 %)
Anzahl Patienten mit MMF	17 (30 %)	8 (16 %)
Tagesdosis MMF (mg)	1000 (875-1000)	1000 (813-1375)
Anzahl Patienten mit MPS	32 (57 %)	32 (64 %)
Tagesdosis MPS (mg)	720 (720-720)	720 (720-990)
Anzahl Patienten mit Pred	49 (88 %)	49 (98 %)
Tagesdosis Pred (mg)	5 (5-5)	5 (5-5)

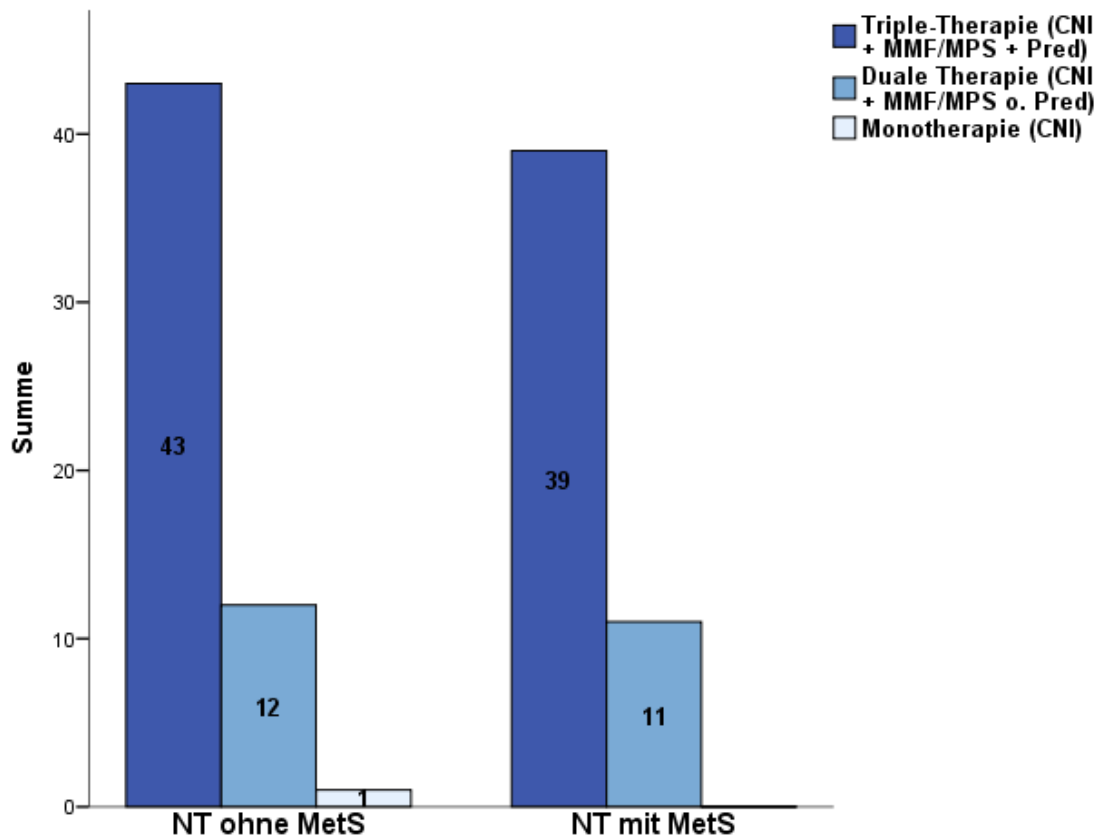
Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Tac, Tacrolimus; CsA, Ciclosporin; MMF, Mycophenolat-Mofetil; MPS, Mycophenolat-Natrium; Pred, Prednisolon. Angaben: Absolute und relative Häufigkeiten als n (%) oder Median und Interquartilbereich als Md (IQR).

Beide NT-Gruppen wurden vorwiegend mit dem CNI Tac therapiert (80 % ohne MetS vs. 82 % mit MetS). Auch hinsichtlich des Patientenanteils, der eine Therapie mit dem CNI CsA erhielt, bestand kein wesentlicher Unterschied zwischen beiden NT-Gruppen (20 % ohne MetS vs. 18 % mit MetS). Eine Triple-Therapie, also eine Kombination aus einem CNI (Tac oder CsA), einem Purinsynthese-Inhibitor (MMF oder MPS) und einem Glucocorticoid (Pred), stellte jeweils das häufigste Therapieregime dar. Daneben gab es Patienten, die eine duale Therapie, d.h. einen CNI kombiniert mit einem Purinsynthese-Inhibitor oder einem Glucocorticoid, erhielten. Bei n = 1 Patient wurde der CNI CsA als Monotherapie verabreicht. Bezogen auf die Tac-Tagesdosis, den Tac-Talspiegel im Blut, die Tagesdosis des MMF, des MPS sowie des Pred lagen keine wesentlichen Unterschiede zwischen beiden NT-Gruppen vor. Die CsA-Tagesdosis war bei der NT-Gruppe mit MetS (Md = 175 mg) um 35 mg höher als bei der NT-Gruppe ohne



## Ergebnisse

MetS. Dennoch wurde bei der NT-Gruppe mit MetS ein niedrigerer CsA-Talspiegel im Blut gemessen als bei der NT-Gruppe ohne MetS. Patienten der letztgenannten Gruppe wurden zu 88 % mit Pred therapiert. Bei der NT-Gruppe mit MetS waren es 98 %, die Pred (Md = 5 mg) erhielten. Die Therapieregime der nierentransplantierten Patienten zeigt Abb. 3.2.



**Abb. 3.2 Therapieregime der nierentransplantierten Patienten**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; CNI, Calcineurin-Inhibitor; MMF, Mycophenolat-Mofetil; MPS, Mycophenolat-Natrium; Pred, Prednisolon; o., oder. Angaben: Anzahl der nierentransplantierten Patienten je Therapieregime (Triple-Therapie, duale Therapie, Monotherapie).

### 3.1.3 Laborchemische Werte

Durch laborchemische Bestimmung im Blut ermittelte Fett- und Glukosestoffwechselfparameter sind im Gruppenvergleich in Tab. 3.10 dargestellt.

**Tab. 3.10 Fett- und Glukosestoffwechselfparameter**

	Gesunde Probanden n = 52	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50	Patienten mit MetS n = 50
CHOL (mg/dl)	185 (158-213)	196 (177-217)	189 (173-223)	192 (158-220)
HDL (mg/dl)	56 ± 11	58 ± 12	46 ± 13	44 ± 11
LDL (mg/dl)	114 (93-133)	117 (99-133)	117 (98-134)	119 (92-148)
LDL/HDL-Ratio	2,1 (1,6-2,4)	2,0 (1,5-2,6)	2,6 (2,2-3,3)	2,9 (2,1-3,7)
VLDL (mg/dl)	13 (9-17)	21 (15-27)	31 (24-40)	22 (14-38)
Lp(a) (mg/dl)	5,22 (2,34-10,55)	4,36 (< 2,33-13,50)	5,26 (< 2,33-14,88)	5,68 (2,71-27,65)
TG (mg/dl)	79 (62-112)	115 (90-137)	196 (158-269)	176 (110-249)
oxLDL (u/l)	53 (45-65)	54 (47-66)	60 (47-69)	61 (52-74)
oxLDL/LDL-Ratio (u/mg × 10 <sup>-1</sup> )	0,5 (0,4-0,5)	0,5 (0,4-0,5)	0,5 (0,5-0,6)	0,5 (0,5-0,6)
anti-oxLDL-IgG (mu/ml)	495 (217-1818)	295 (108-607)	214 (76-396)	190 (118-655)
HbA1c (%)	5,3 (5,2-5,5)	5,6 (5,3-6,0)	5,7 (5,4-6,1)	8,4 (7,2-10,3)
(mmol/mol)	34 (33-37)	38 (34-42)	39 (36-43)	68 (55-89)
C-Peptid (ng/ml)	1,1 (0,9-1,4)	1,7 (1,2-2,1)	2,6 (2,0-4,0)	2,0 (1,3-2,6)
Nüchtern glukose (mg/dl)	82 (76-87)	86 (78-90)	100 (89-110)	130 (103-199)

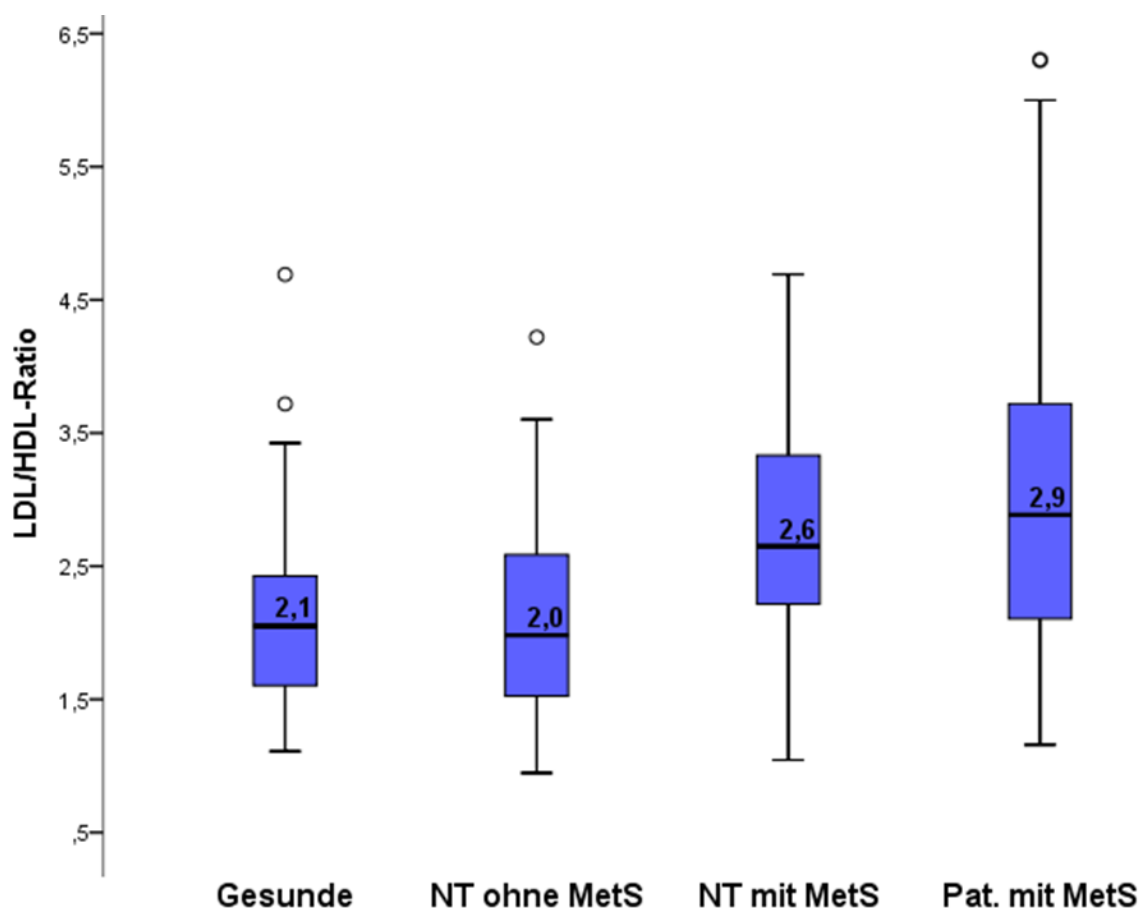
Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; CHOL, Gesamtcholesterin; HDL, Lipoprotein hoher Dichte ; LDL, Lipoprotein geringer Dichte; VLDL, Lipoprotein sehr geringer Dichte ; Lp(a), Lipoprotein(a); TG, Triglyceride; oxLDL, oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte; anti-oxLDL-IgG, Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte; HbA1c, glykiertes Hämoglobin A; C-Peptid, connecting peptide.

Anmerkungen: Die LDL/HDL-Ratio wird auch als Arteriosklerose-Risiko-Index bezeichnet. Das C-Peptid ist ein Abspaltprodukt aus Proinsulin. Die Nachweisgrenze von Lp(a) lag bei < 2,33 mg/dl und wurde bei der Auswertung mit 2,32 mg/dl angesetzt. Bei den NT sowohl ohne MetS als auch mit MetS fehlten bei n = 1 Patient Angaben zur Nüchtern glukose.

Angaben: Median und Interquartilbereich als Md (IQR) oder Mittelwert und Standardabweichung als M ± SD.

## Ergebnisse

Bei den Lipidwerten zeigte sich im Gruppenvergleich für LDL kein wesentlicher Unterschied (Md = 114 - 119 mg/dl). Der HDL-Wert lag bei der gesunden Kontrollgruppe (M = 56 mg/dl) und bei der NT-Gruppe ohne MetS (M = 58 mg/dl) im selben Bereich. Die NT-Gruppe mit MetS (M = 46 mg/dl) und die MetS-Gruppe (M = 44 mg/dl) wiesen einen niedrigeren, in etwa gleichgroßen HDL-Wert auf. Bei der MetS-Gruppe wurde für die auch als AS-Index bezeichnete LDL/HDL-Ratio der höchste Wert (Md = 2,9) berechnet, gefolgt von der NT-Gruppe mit MetS (Md = 2,6). Zwischen der gesunden Kontrollgruppe (Md = 2,1) und der NT-Gruppe ohne MetS (Md = 2,0) bestand kein wesentlicher Unterschied. Die LDL/HDL-Ratio ist im Gruppenvergleich in Abb. 3.3 dargestellt.



**Abb. 3.3 LDL/HDL-Ratio im Gruppenvergleich**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; LDL, Lipoprotein geringer Dichte; HDL, Lipoprotein hoher Dichte .

Angaben: Box-Whisker-Plot, bezifferter Median, moderate Ausreißer (dargestellt als zwischen dem anderthalbfachen und dem dreifachen Interquartilbereich von den Grenzen der Box liegender Kreis).

Die TG waren bei jeder Gruppe unterschiedlich groß. Der kleinste Wert wurde bei der gesunden Kontrollgruppe festgestellt (Md = 79 mg/dl). Bei der NT-Gruppe ohne MetS war der TG-Wert (Md = 115 mg/dl) niedriger als bei der MetS-Gruppe (Md = 176 mg/dl). Der höchste TG-Wert (Md = 196 mg/dl) wurde bei der NT-Gruppe mit MetS gemessen. Für Lp(a) zeigte sich zwischen den Gruppen kein wesentlicher Unterschied. Der oxLDL-Wert unterschied sich demgegenüber im Gruppenvergleich. Die gesunde Kontrollgruppe (Md = 53 u/l) und die NT-Gruppe ohne MetS (Md = 54 u/l) wiesen die niedrigsten Werte in derselben Größenordnung auf. Ein jeweils höherer, ebenfalls in derselben Größenordnung liegender oxLDL-Wert wurde bei der NT-Gruppe mit MetS (Md = 60 u/l) und der MetS-Gruppe (Md = 61 u/l) gemessen, wobei sich im Interquartilbereich der MetS-Gruppe etwas höhere Werte zeigten. Bei anti-oxLDL-IgG wies die MetS-Gruppe dagegen den niedrigsten Wert auf (Md = 190 mu/ml). Bei der NT-Gruppe mit MetS war der anti-oxLDL-IgG-Wert höher (Md = 214 mu/ml) und stieg bei der NT-Gruppe ohne MetS (Md = 295 mu/ml) weiter an. Der höchste anti-oxLDL-IgG-Wert wurde bei der gesunden Kontrollgruppe (Md = 495 mu/ml) gemessen.

Der zu den Parametern des Glukosestoffwechsels zählende HbA1c-Wert lag bei der NT-Gruppe ohne MetS (Md = 38 mmol/mol bzw. 5,6 %) und der NT-Gruppe mit MetS (Md = 39 mmol/mol bzw. 5,7 %) in derselben Größenordnung. Die MetS-Gruppe wies dagegen einen wesentlich höheren HbA1c-Wert auf (Md = 68 mmol/mol bzw. 8,4 %). Der Nüchternglukose-Wert war bei der NT-Gruppe mit MetS leicht erhöht (Md = 100 mg/dl). Bei der MetS-Gruppe wurde der höchste Nüchternglukose-Wert (Md = 130 mg/dl) gemessen.

Bei der Bestimmung der Entzündungsparameter zeigte sich, dass hsCRP im Gruppenvergleich von der gesunden Kontrollgruppe (Md = 0,08 mg/dl) und der NT-Gruppe ohne MetS (Md = 0,09 mg/dl) über die NT-Gruppe mit MetS (Md = 0,16 mg/dl) bis zur MetS-Gruppe hin (Md = 0,32 mg/dl) kontinuierlich zunahm. Für den IL-6-Wert galt derselbe Verlauf. Zwar war der IL-6-Median der gesunden Kontrollgruppe und der NT-Gruppe ohne MetS jeweils gleich groß (Md = < 2,0 pg/ml), das 75 %-Perzentil der NT-Gruppe mit MetS lag jedoch mit

einem IL-6-Wert von 3,4 pg/ml höher als bei den Gesunden mit einem IL-6-Wert von < 2 pg/ml. Die gemessenen Entzündungsparameter sind in Tab. 3.11 im Gruppenvergleich dargestellt.

**Tab. 3.11 Entzündungsparameter**

	Gesunde Probanden n = 52	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50	Patienten mit MetS n = 50
Leukozyten (Tsd./ $\mu$ l)	5,6 (4,9-6,3)	6,5 (5,1-8,2)	7,7 (6,0-9,0)	7,5 (6,6-8,5)
hsCRP (mg/dl)	0,08 (0,04-0,15)	0,09 (0,04-0,16)	0,16 (0,07-0,42)	0,32 (0,19-0,56)
IL-6 (pg/ml)	< 2,0 (< 2,0-< 2,0)	< 2,0 (< 2,0-3,4)	3,0 (< 2,0-5,2)	3,2 (< 2,0-5,0)

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Tsd., Tausend; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein; IL-6, Interleukin-6.

Anmerkungen: Die Nachweisgrenze von IL-6 lag bei < 2,0 pg/ml und wurde bei der Auswertung mit 1,99 pg/ml angesetzt. Die Nachweisgrenze von hsCRP lag bei < 0,02 mg/dl und wurde bei der Auswertung mit 0,019 mg/dl angesetzt.

Angaben: Median und Interquartilbereich als Md (IQR).

Die laborchemische Untersuchung der Nierenfunktion ergab, dass sowohl der Kreatinin-Wert im Blut als auch der Protein/Kreatinin-Quotient im Urin bei der NT-Gruppe mit MetS am höchsten war. Tab. 3.12 zeigt die Ergebnisse der laborchemischen Untersuchungen zur Nierenfunktion in Blut und Urin.

**Tab. 3.12 Nierenfunktionsparameter**

	Gesunde Probanden n = 52	NT ohne MetS n = 56	NT mit MetS n = 50	Patienten mit MetS n = 50
Kreatinin (mg/dl)	0,8 (0,7-0,8)	1,3 (1,1-1,7)	1,7 (1,2-2,2)	0,8 (0,6-0,9)
Protein/Kreatinin im Urin (mg/g Krea)	n. e.	200 (160-330)	250 (175-405)	160 (< 100-420)

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; n. e., nicht erhoben.

Anmerkungen: Die Nachweisgrenze von Protein/Kreatinin i.U. lag bei < 0,10 g/g Krea und wurde bei der Auswertung mit 0,09 g/g Krea angesetzt. Median und IQR wurden von g/g Krea in mg/g Krea umgerechnet. Bei den NT ohne MetS fehlten Angaben zu g Protein/g Kreatinin im Urin bei n = 3 Patienten. Bei den NT mit MetS fehlten Angaben zu g Protein/g Kreatinin im Urin bei n = 5 Patienten. Bei den MetS-Patienten fehlten Angaben zu g Protein/g Kreatinin im Urin bei n = 7 Patienten.

Angaben: Median und Interquartilbereich als Md (IQR).

## 3.2 Vergleich von ausgewählten Serumparametern der Lipoproteinoxidation und Inflammation

### 3.2.1 OxLDL

#### *Normalverteilung und Varianzhomogenität*

Durch Logtransformation zur Basis 10 konnte zunächst eine annähernde Normalverteilung der Variable pro Gruppe erreicht werden. In Tab. 3.13 sind ausgewählte statistische Kennzahlen vor und nach Datentransformation dargestellt:

**Tab. 3.13 Statistische Kennzahlen von oxLDL**

Gruppe	n	Vor Transformation				nach Transformation			
		Md	IQR	SK	EK	M	SD	SK	EK
Gesunde	52	53	45-65	0,78	1,49	1,74	0,11	-0,11	0,56
NT o. MetS	56	54	47-66	0,76	2,21	1,73	0,11	-0,34	1,11
NT m. MetS	50	60	47-69	0,21	-0,73	1,76	0,11	-0,23	-0,82
Pat. m. MetS	50	61	52-74	0,93	1,96	1,79	0,12	0,05	-0,01

Abkürzungen: oxLDL, oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte; NT, Nierentransplantierte; o., ohne; m., mit; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; Md, Median; IQR, Interquartilbereich; SK, Schiefe; EK, Exzess, Überkurtosis; M, Mittelwert; SD, Standardabweichung.

Angaben: Md, IQR, M und SD je in u/l.

Dass Varianzhomogenität bestand, wurde mit dem anschließenden Levene-Test festgestellt,  $F(3,204) = 0,14$ ,  $p = 0,94$ .

#### *Omnibus-Test*

Mit der einfaktoriellen ANOVA konnte auf dem gewählten Signifikanzniveau von  $p \leq 0,02$  für die Mittelwerte des logtransformierten oxLDL kein signifikanter Unterschied zwischen den vier Studiengruppen nachgewiesen werden,  $F(3,204) = 3,06$ ,  $p = 0,029$ .

*Post-hoc-Test und Effektstärkenberechnung*

Ein Post-hoc-Test mit Paarvergleichen zwischen den einzelnen Gruppen wurde nicht durchgeführt, weil der Omnibus-Test keine signifikanten Unterschiede aufwies. Die Effektstärke nach Cohen wurde trotz fehlender Signifikanz berechnet. Die Ergebnisse sind in Tab. 3.14 beschrieben.

**Tab. 3.14 Effektstärke von oxLDL**

Paarvergleich			d	Interpretation Effektstärke d
Pat. mit MetS	vs.	NT ohne MetS	0,51	mittelgroß
Pat. mit MetS	vs.	Gesunde	0,50	mittelgroß
NT mit MetS	vs.	NT ohne MetS	0,27	klein
NT mit MetS	vs.	Gesunde	0,25	klein
Pat. mit MetS	vs.	NT mit MetS	0,25	klein
Gesunde	vs.	NT ohne MetS	0,02	kein

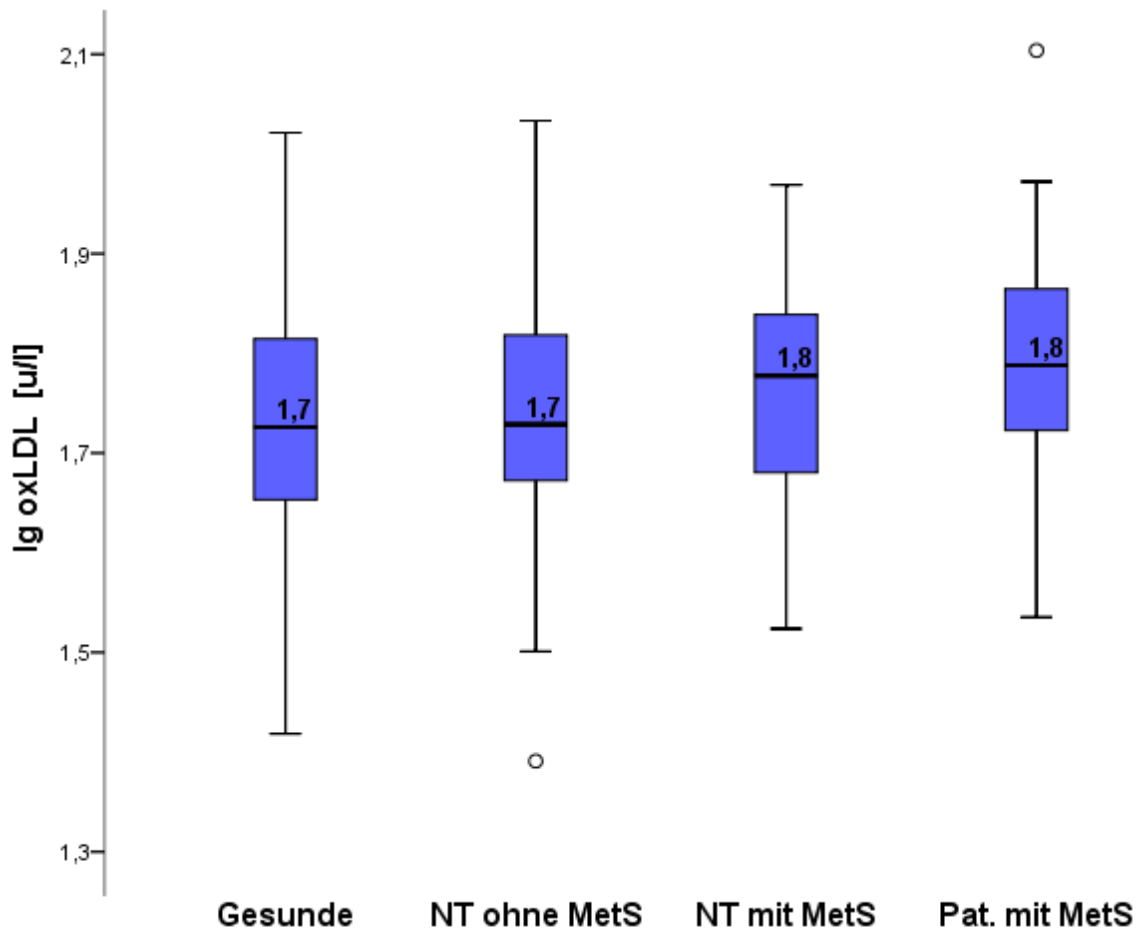
Abkürzungen: oxLDL, oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte; Pat., Patienten; MetS, Metabolisches Syndrom; vs., versus; NT, Nierentransplantierte.

Anmerkung: d = Effektstärke Cohen's d.

Bei der Effektstärkenberechnung zeigte sich zwischen der MetS-Gruppe und der NT-Gruppe ohne MetS beim oxLDL ein mittelgroßer Unterschied nach Cohen ( $d = 0,51$ ), wobei der Mittelwert der MetS-Gruppe höher war. Die Gruppe der Gesunden wies zur MetS-Gruppe einen mittelgroßen Unterschied ( $d = 0,50$ ) und zur NT-Gruppe mit MetS einen kleinen Unterschied ( $d = 0,25$ ) auf. Hierbei war der Mittelwert der Gruppe der Gesunden jeweils niedriger. Zwischen der NT-Gruppe mit MetS und der MetS-Gruppe bestand ein kleiner Unterschied ( $d = 0,25$ ), wobei die MetS-Gruppe den höheren Mittelwert aufwies. Auch zwischen der NT-Gruppe mit MetS und der NT-Gruppe ohne MetS bestand ein kleiner Unterschied ( $d = 0,27$ ). Hier war der Mittelwert der NT-Gruppe mit MetS höher als bei der NT-Gruppe ohne MetS. Zwischen der NT-Gruppe ohne MetS und der gesunden Kontrollgruppe bestand kein Unterschied ( $d = 0,02$ ).

## Grafische Darstellung

Die Verteilung des logtransformierten oxLDL ist in Abb. 3.4 im Gruppenvergleich dargestellt.



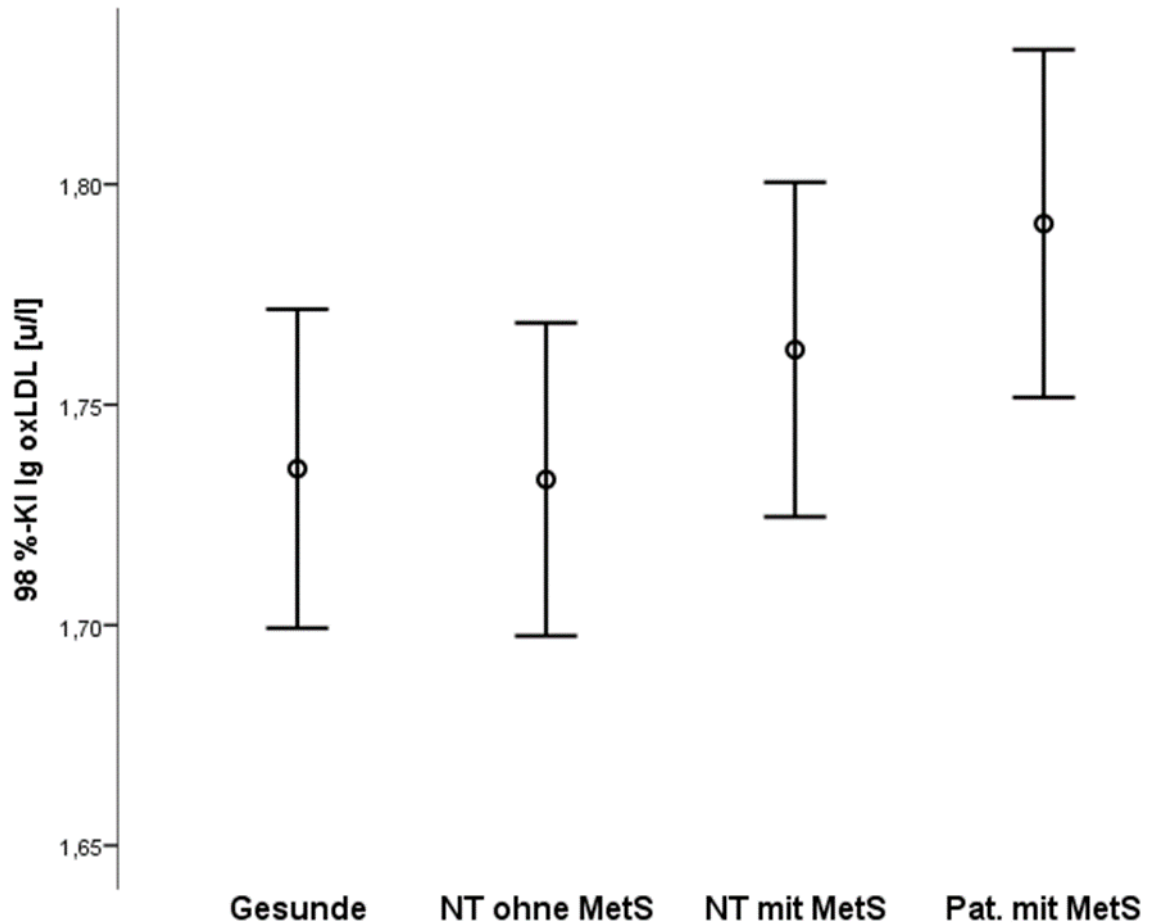
**Abb. 3.4** Verteilung des logtransformierten oxLDL

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; Ig, Logarithmus zur Basis 10; oxLDL, oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte.  
Angaben: Box-Whisker-Plot, bezifferter Median, moderate Ausreißer (dargestellt als zwischen dem anderthalbfachen und dem dreifachen Interquartilbereich von den Grenzen der Box liegender Kreis).



## Ergebnisse

Die mit der einfaktoriellen ANOVA verglichenen Gruppenmittelwerte von oxLDL zeigt Abb. 3.5 mit 98 %-Konfidenzintervall.



**Abb. 3.5 Mittelwerte mit Fehlerbalken von oxLDL**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; KI, Konfidenzintervall; lg, Logarithmus zur Basis 10; oxLDL, oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte.

Angaben: Mittelwert als Kreis dargestellt, 98 %-Konfidenzintervall als Fehlerbalken dargestellt.

### 3.2.2 Anti-oxLDL-IgG

#### *Normalverteilung und Varianzhomogenität*

Durch Logtransformation zur Basis 10 konnte zunächst jeweils eine annähernde Normalverteilung der Variable erreicht werden. In Tab. 3.15 sind ausgewählte statistische Kennzahlen vor und nach Datentransformation dargestellt:

**Tab. 3.15 Statistische Kennzahlen von anti-oxLDL-IgG**

Gruppe	n	Vor Transformation				nach Transformation			
		Md	IQR	SK	EK	M	SD	SK	EK
Gesunde	52	495	217-1818	2,31	5,00	2,78	0,56	0,41	-0,81
NT o. MetS	56	295	108-607	5,91	39,44	2,45	0,49	0,23	0,41
NT m. MetS	50	214	76-396	2,59	8,25	2,28	0,46	0,01	-0,72
Pat. m. MetS	50	190	118-655	3,52	13,74	2,47	0,59	0,91	0,07

Abkürzungen: anti-oxLDL-IgG, Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte; NT, Nierentransplantierte; o., ohne; m., mit; MetS, Metabolisches Syndrom; Md, Median; IQR, Interquartilbereich; SK, Schiefe; EK, Exzess, Überkurtosis; M, Mittelwert; SD, Standardabweichung.

Angaben: Md, IQR, M und SD je in  $\mu\text{g/ml}$ .

Anschließend wurde mit dem Levene-Test festgestellt, dass Varianzhomogenität bestand,  $F(3,204) = 1,48$ ,  $p = 0,22$ .

#### *Omnibus-Test*

Mit der einfaktoriellen ANOVA konnte für die Mittelwerte von anti-oxLDL-IgG ein signifikanter Unterschied zwischen den vier untersuchten Studiengruppen nachgewiesen werden,  $F(3,204) = 7,93$ ,  $p < 0,001$ .

#### *Post-hoc Test und Effektstärkenberechnung*

Die Ergebnisse des daraufhin durchgeführten Post-hoc-Tests nach Gabriel und die Effektstärkenberechnung nach Cohen sind in Tab. 3.16 beschrieben.

**Tab. 3.16 Post-hoc-Test und Effektstärke von anti-oxLDL-IgG**

Paarvergleich		p-Wert adjustiert	d	Interpretation Effektstärke d
NT mit MetS	vs. Gesunde	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,97</b>	groß
NT ohne MetS	vs. Gesunde	<b>0,009</b>	<b>0,62</b>	mittelgroß
Pat. mit MetS	vs. Gesunde	<b>0,018</b>	<b>0,55</b>	mittelgroß
NT mit MetS	vs. Pat. mit MetS	0,403	0,35	klein
NT mit MetS	vs. NT ohne MetS	0,450	0,36	klein
NT ohne MetS	vs. Pat. mit MetS	1,000	0,02	kein

Abkürzungen: anti-oxLDL-IgG, Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte; Pat., Patienten; MetS, Metabolisches Syndrom; NT, Nierentransplantierte; vs., versus.

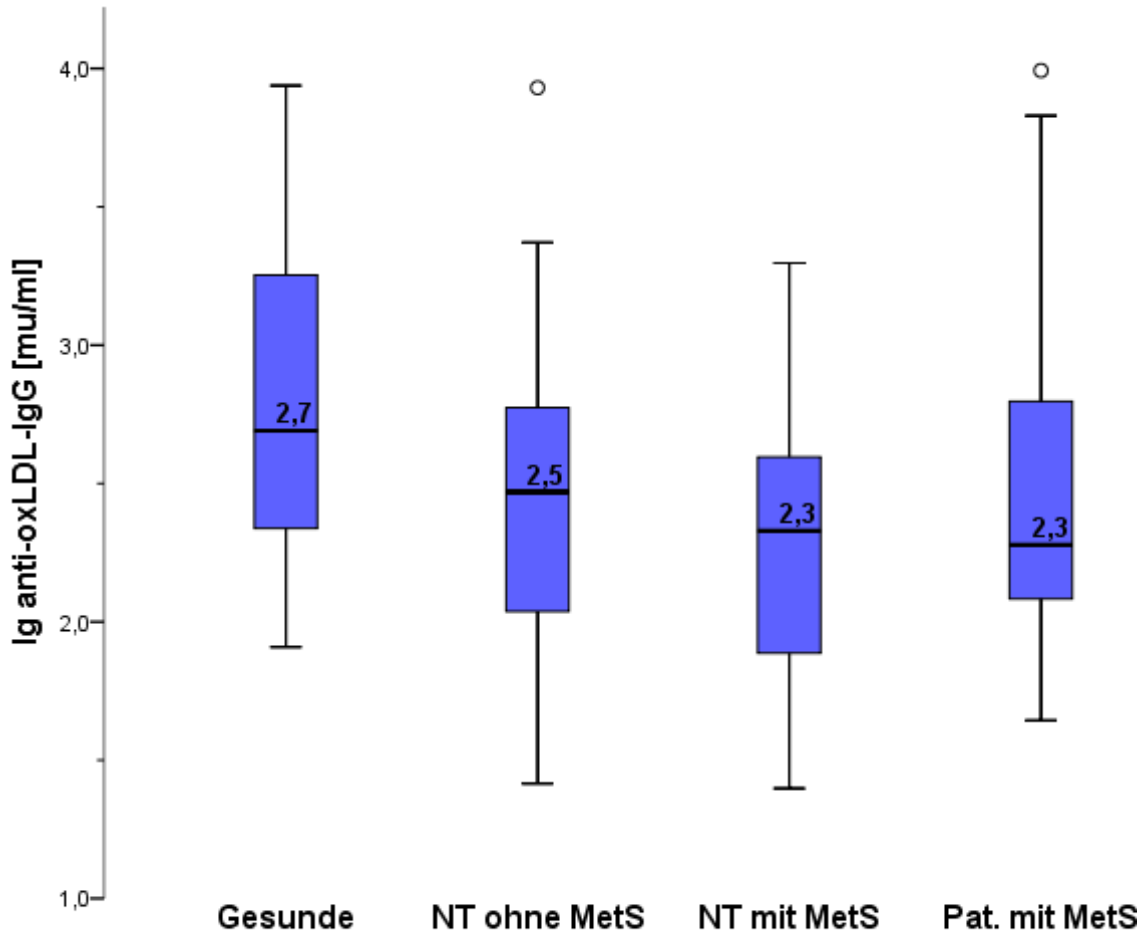
Anmerkung: d = Effektstärke Cohen's d.

Beim Post-hoc-Test nach Gabriel zeigte sich für anti-oxLDL-IgG zwischen der gesunden Kontrollgruppe und der NT-Gruppe mit MetS ein großer signifikanter Unterschied nach Cohen ( $p < 0,001$ ,  $d = 0,97$ ), wobei der Mittelwert der gesunden Kontrollgruppe höher war. Sowohl zwischen der NT-Gruppe ohne MetS und der gesunden Kontrollgruppe ( $p = 0,009$ ,  $d = 0,62$ ) als auch zwischen der MetS-Gruppe und der gesunden Kontrollgruppe ( $p = 0,018$ ,  $d = 0,55$ ) bestand ein mittelgroßer signifikanter Unterschied. Hierbei fiel der Mittelwert bei der gesunden Kontrollgruppe jeweils höher aus.

Zwischen der MetS-Gruppe und der NT-Gruppe mit MetS zeigte sich ein kleiner, nicht signifikanter Unterschied ( $d = 0,35$ ), wobei die MetS-Gruppe den höheren Mittelwert aufwies. Auch zwischen den NT-Gruppen mit und ohne MetS bestand ein kleiner, nicht signifikanter Unterschied ( $d = 0,36$ ), wobei der Mittelwert bei der NT-Gruppe ohne MetS höher ausfiel. Zwischen der NT-Gruppe ohne MetS und der MetS-Gruppe konnte kein Unterschied festgestellt werden ( $d = 0,02$ ).

## Grafische Darstellung

Die Verteilung des logtransformierten anti-oxLDL-IgG ist in Abb. 3.6 im Gruppenvergleich dargestellt.



**Abb. 3.6 Verteilung des logtransformierten anti-oxLDL-IgG**

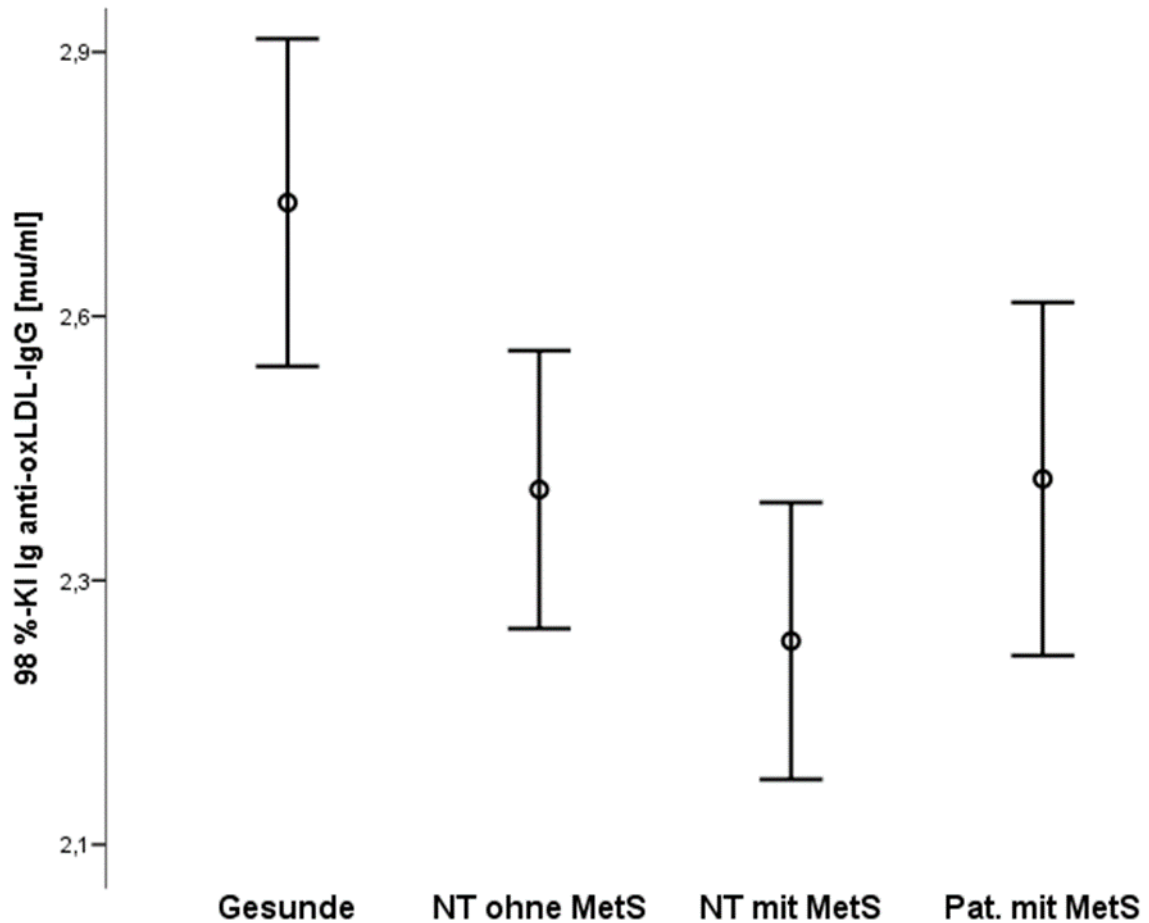
Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; lg, Logarithmus zur Basis 10; anti-oxLDL-IgG, Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte.

Angaben: Box-Whisker-Plot, bezifferter Median, moderate Ausreißer (dargestellt als zwischen dem anderthalbfachen und dem dreifachen Interquartilbereich von den Grenzen der Box liegender Kreis).

Anmerkung: Obwohl der Median von anti-oxLDL-IgG, insbesondere in der MetS-Gruppe, nach Logtransformation im Box-Whisker-Plot nicht mittig war, erfüllten die statistischen Kennzahlen Schiefe und Exzess die festgelegten Voraussetzungen für eine Normalverteilung.

## Ergebnisse

Die mit der einfaktoriellen ANOVA verglichenen Mittelwerte von anti-oxLDL-IgG zeigt Abb. 3.7 mit 98 %-Konfidenzintervall je Gruppe.



**Abb. 3.7 Mittelwerte mit Fehlerbalken von anti-oxLDL-IgG**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; KI, Konfidenzintervall; Ig, Logarithmus zur Basis 10; anti-oxLDL-IgG, Immunglobulin G-Autoantikörper gegen oxidiertes Lipoprotein geringer Dichte.

Angaben: Mittelwert als Kreis dargestellt, 98 %-Konfidenzintervall als Fehlerbalken dargestellt.

### 3.2.3 HsCRP

#### *Normalverteilung und Varianzhomogenität*

Die Variable konnte zunächst durch Logarithmieren zur Basis 10 in eine annähernde Normalverteilung je Gruppe transformiert werden. In Tab. 3.17 sind ausgewählte statistische Kennzahlen vor und nach Datentransformation dargestellt:

**Tab. 3.17 Statistische Kennzahlen von hsCRP**

Gruppe	n	Vor Transformation				nach Transformation			
		Md	IQR	SK	EK	M	SD	SK	EK
Gesunde	52	0,08	0,04-0,15	4,93	27,40	-1,11	0,43	0,85	1,02
NT o. MetS	56	0,09	0,04-0,16	3,47	13,36	-1,02	0,48	0,73	0,26
NT m. MetS	50	0,16	0,07-0,42	5,27	31,87	-0,73	0,51	0,62	0,14
Pat. m. MetS	50	0,32	0,19-0,56	2,25	5,35	-0,51	0,39	0,01	-0,02

Abkürzungen: hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein; NT, Nierentransplantierte; o., ohne; m., mit; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; Md, Median; IQR, Interquartilbereich; SK, Schiefe; EK, Exzess, Überkurtosis; M, Mittelwert; SD, Standardabweichung.  
Angaben: Md, IQR, M und SD je in mg/dl.

Mit dem Levene-Test wurde bestätigt, dass Varianzhomogenität bestand,  $F(3,204) = 1,56$ ,  $p = 0,20$ .

#### *Omnibus-Test*

Mit der einfaktoriellen ANOVA konnte für die Mittelwerte von hsCRP ein signifikanter Unterschied zwischen den vier untersuchten Studiengruppen nachgewiesen werden,  $F(3,204) = 18,93$ ,  $p < 0,001$ .

#### *Post-hoc Test und Effektstärkenberechnung*

Daraufhin wurden zum Paarvergleich der einzelnen Gruppen der Post-hoc-Test nach Gabriel sowie die Effektstärkenberechnung nach Cohen durchgeführt. Tab. 3.18 zeigt die Ergebnisse im Überblick.

**Tab. 3.18 Post-hoc-Test und Effektstärke von hsCRP**

Paarvergleich		p-Wert adjustiert	d	Interpretation Effektstärke d
Pat. mit MetS	vs. Gesunde	<b>&lt; 0,001</b>	<b>1,47</b>	groß
Pat. mit MetS	vs. NT ohne MetS	<b>&lt; 0,001</b>	<b>1,17</b>	groß
NT mit MetS	vs. Gesunde	<b>&lt; 0,001</b>	<b>0,81</b>	groß
NT mit MetS	vs. NT ohne MetS	<b>0,008</b>	<b>0,58</b>	mittelgroß
Pat. mit MetS	vs. NT mit MetS	0,082	0,50	mittelgroß
NT ohne MetS	vs. Gesunde	0,880	0,12	kein

Abkürzungen: hsCRP, hochsensitives CRP; Pat., Patienten; MetS, Metabolisches Syndrom; NT, Nierentransplantierte; vs., versus.

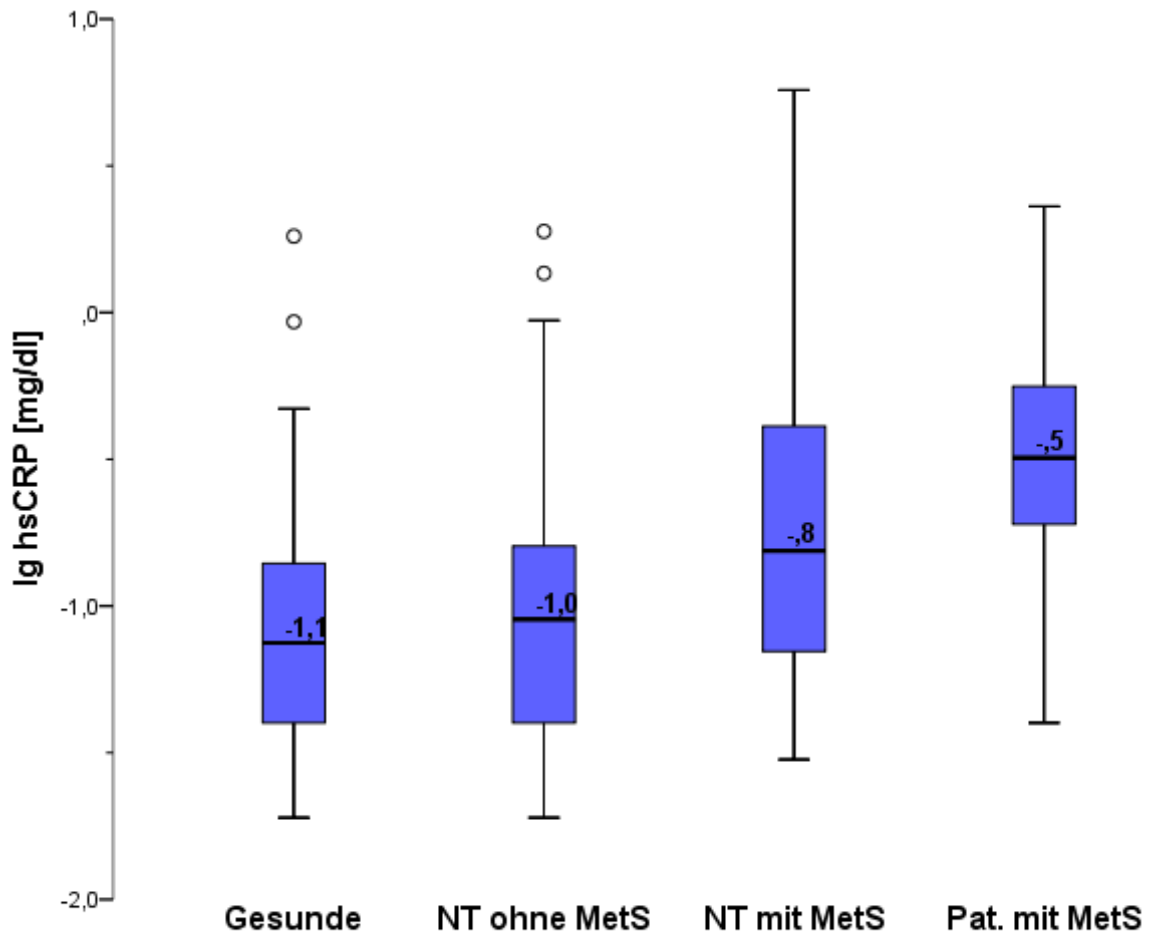
Anmerkung: d = Effektstärke Cohen's d.

Beim Post-hoc-Test nach Gabriel zeigte sich für hsCRP ein großer signifikanter Unterschied nach Cohen sowohl zwischen der MetS-Gruppe und der gesunden Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ,  $d = 1,47$ ) als auch zwischen der NT-Gruppe mit MetS und der gesunden Kontrollgruppe ( $p < 0,001$ ,  $d = 0,81$ ), wobei der Mittelwert der MetS-Gruppe bzw. der NT-Gruppe mit MetS höher war. Auch zwischen der MetS-Gruppe und der NT-Gruppe ohne MetS bestand ein großer signifikanter Unterschied ( $p < 0,001$ ,  $d = 1,17$ ). Hier war ebenfalls der Mittelwert der MetS-Gruppe höher. Zwischen den NT-Gruppen mit und ohne MetS konnte ein mittelgroßer signifikanter Unterschied nachgewiesen werden ( $p = 0,008$ ,  $d = 0,58$ ), wobei wiederum die NT-Gruppe mit MetS den höheren Mittelwert aufwies.

Zwischen der NT-Gruppe mit MetS und der MetS-Gruppe bestand zwar ebenfalls ein mittelgroßer Unterschied ( $d = 0,50$ ). Dieser war jedoch nicht signifikant ( $p = 0,082$ ). Zwischen der NT-Gruppe ohne MetS und der gesunden Kontrollgruppe bestand kein Unterschied ( $d = 0,12$ ).

*Grafische Darstellung*

Die Verteilung des logtransformierten hsCRP ist in Abb. 3.8 im Gruppenvergleich dargestellt.



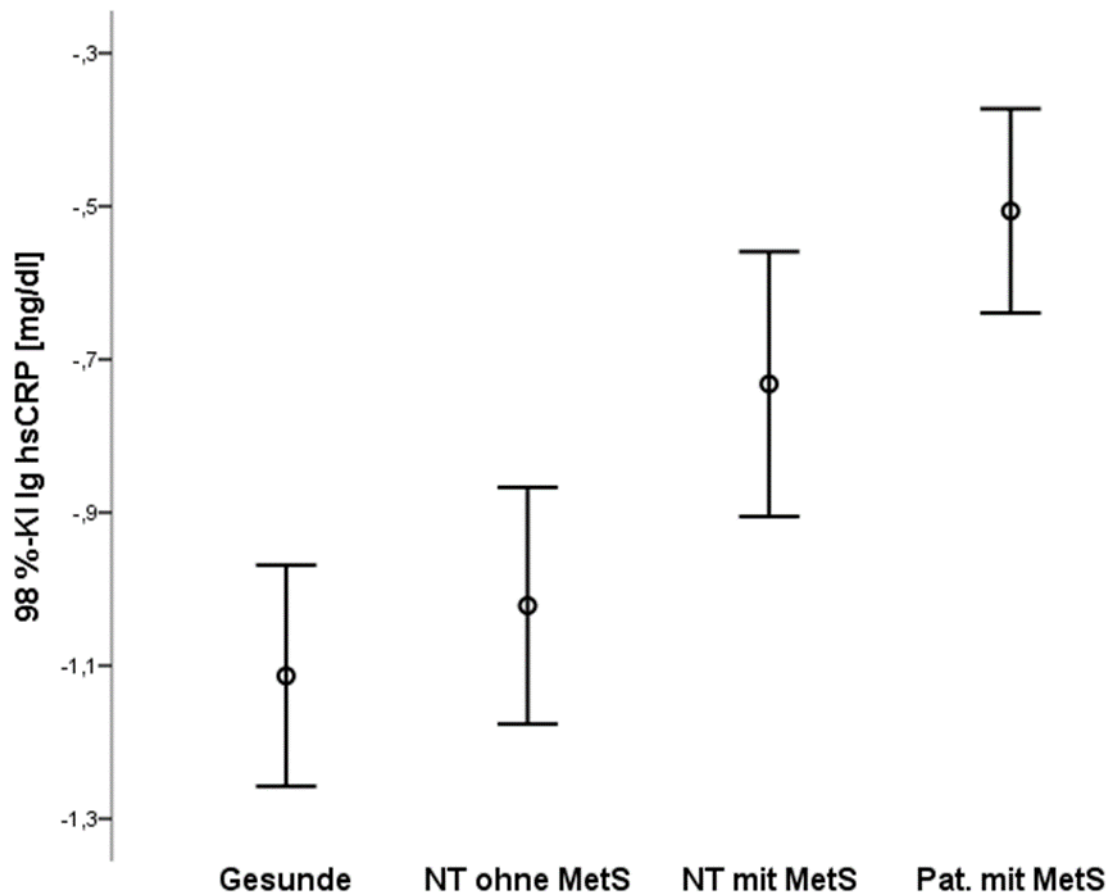
**Abb. 3.8 Verteilung des logtransformierten hsCRP**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; lg, Logarithmus zur Basis 10; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein.  
Angaben: Box-Whisker-Plot, bezifferter Median, moderate Ausreißer (dargestellt als zwischen dem anderthalbfachen und dem dreifachen Interquartilbereich von den Grenzen der Box liegender Kreis).



## Ergebnisse

Die mit der einfaktoriellen ANOVA verglichenen Mittelwerte von hsCRP zeigt Abb. 3.9 mit 98 %-Konfidenzintervall je Gruppe.



**Abb. 3.9 Mittelwerte mit Fehlerbalken von hsCRP**

Abkürzungen: NT, Nierentransplantierte; MetS, Metabolisches Syndrom; Pat., Patienten; KI, Konfidenzintervall; Ig, Logarithmus zur Basis 10; hsCRP, hochsensitives C-reaktives Protein. Angaben: Mittelwert als Kreis dargestellt, 98 %-Konfidenzintervall als Fehlerbalken dargestellt.

## 4 Diskussion

Sofern nicht anderweitig angegeben, wurde das MetS in den folgenden zitierten Studien nach den NCEP-ATP III-Kriterien definiert, wobei je nach Arbeitsgruppe die Blutzuckerkriterien von  $\geq 110$  mg/dl auf  $\geq 100$  mg/dl angepasst wurden. Berechnete Effektstärken wurden ab einem mittelgroßen Unterschied als klinisch relevant gewertet.

### 4.1 Patientencharakteristika

#### *MetS-Gruppen*

Die MetS-Gruppe und die NT-Gruppe mit MetS unterschieden sich sowohl hinsichtlich der Anzahl einzelner MetS-Kriterien als auch hinsichtlich der Kriterien-Kombination. Darüber hinaus betrug der Anteil an Diabetikern bei der MetS-Gruppe 92 % und lag damit fast dreimal so hoch wie bei der NT-Gruppe mit MetS (34 %). Die Diabetiker der MetS-Gruppe wiesen eine doppelt so lange Diabetesdauer und eine wesentlich schlechtere Stoffwechseleinstellung als diejenigen der NT mit MetS auf. Dies erklärt auch, warum Patienten der MetS-Gruppe sechsmal so häufig eine Therapie mit oralen Antidiabetika oder GLP-1-Analoga und dreimal so häufig eine Insulintherapie wie die NT-Gruppe mit MetS erhielten. Außerdem war bei der MetS-Gruppe der Anteil an Adipösen wesentlich höher (57 %) als bei den NT mit MetS (30 %). Darüber hinaus gab es nur in der MetS-Gruppe Patienten mit präorbider Adipositas (17 %). Gemäß einer WHO-Stellungnahme zur Adipositas steigt die Wahrscheinlichkeit, Folgeerkrankungen zu erleiden, mit zunehmendem BMI an und ist bei der präorbiden Adipositas am höchsten [94]. Somit bestand bei der MetS-Gruppe ein höheres CVR-Profil. Dies zeigte sich auch an der hohen Anzahl von Mikro- und Makroangiopathien in der MetS-Gruppe im Vergleich mit der NT-Gruppe mit MetS. Bei der letztgenannten Patientengruppe wurde als Makroangiopathie am häufigsten eine KHK festgestellt, wohingegen bei der MetS-Gruppe zahlreiche, individuelle Kombinationen aus verschiedenen Makroangiopathien (KHK, pAVK und cAVK) vorlagen. Dass die cAVK bei der MetS-Gruppe gehäuft vorkam, könnte dadurch begründet sein,

dass bei den Typ-2-Diabetikern während ihres teilstationären Aufenthalts routinemäßig eine Duplex-Sonographie der Carotiden durchgeführt wurde, wohingegen dies bei der ambulanten Verlaufskontrolle der NT nicht der Fall war.

### *NT-Gruppen*

Beide NT-Gruppen, d.h. diejenige mit und diejenige ohne MetS, waren hinsichtlich Dialyseart und -dauer vergleichbar. Was die zur NTx führende Primärerkrankung betraf, so fiel auf, dass bei der NT-Gruppe mit MetS häufiger eine diabetische Nephropathie oder eine hypertensive Nephrosklerose (14 %) vorlag als bei der NT-Gruppe ohne MetS (5,4 %). Dies könnte dadurch begründet sein, dass Patienten der NT-Gruppe mit MetS bereits vor der NTx mangelnde Compliance hinsichtlich Medikamenteneinnahme in Kombination mit Bewegungsmangel und hochkalorischer, salzhaltiger Ernährung zeigten und nach NTx beibehielten. Der hohe Anteil an akuten und chronischen Abstoßungen bei der NT-Gruppe mit MetS (50 % vs. 21 % NT ohne MetS) führte dreimal so häufig zu Mehrfachtransplantationen wie bei der NT-Gruppe ohne MetS. Hierzu passte der Befund, dass die Posttransplantationsdauer bei der NT-Gruppe mit MetS um die Hälfte geringer war als bei der NT-Gruppe ohne MetS. Was den jeweiligen prozentualen Anteil der Patienten mit Tac oder CsA, den jeweiligen Blut-Talspiegel und die Durchführung der Triple-Therapie mit Tac oder CsA betraf, bestand zwischen den beiden Gruppen der NT annähernd Strukturgleichheit.

### *LDL/HDL-Ratio*

Gemäß der HELSINKI HEART STUDIE stellt der Quotient aus LDL/HDL einen besseren prädiktiven Wert für eine KHK dar, als der LDL- bzw. HDL-Wert allein [95] und wird daher auch als AS-Index bezeichnet. In dieser Arbeit wurden die von MILLÁN ET AL. erarbeiteten Cut-off-Werte des AS-Index zugrunde gelegt [96], wobei der Mittelwert aus den geschlechtsspezifischen Werten gebildet wurde. Damit ergab sich für die LDL/HDL-Ratio ein Wert in Höhe von  $> 3,25$ , bezogen auf die Primärprävention, und von  $> 2,75$ , bezogen auf die Sekundärprävention. Demzufolge wies nur die MetS-Gruppe mit einer LDL/HDL-Ratio in Höhe von  $Md = 2,9$  bei der Sekundärprävention ein erhöhtes CVR auf. Aufgrund der

Einschlusskriterien lagen bei beiden MetS-Gruppen niedrigere HDL- und höhere TG-Werte vor als bei den Gesunden und der NT-Gruppe ohne MetS. Der gemessene Durchschnitts-LDL-Wert war in der vorliegenden Arbeit bei allen Gruppen nahezu gleich groß (Md = 114-119 mg/dl). Dies könnte dadurch erklärt werden, dass alle drei Patientengruppen Statine erhielten, die über eine Hemmung der HMG-CoA-Reduktase eine Hochregulation von LDL-Rezeptoren auf der Oberfläche der Leber hervorrufen, sodass im Blut zirkulierende LDL verstärkt von der Leber aufgenommen werden, was zu einer konsekutiven Senkung der LDL-Plasma-Konzentration führt [8]. Der jeweilige LDL-Wert könnte hierdurch demjenigen der gesunden Kontrollgruppe angeglichen worden sein.

### *OxLDL/LDL-Ratio*

Die Mediane des oxLDL/LDL-Quotienten waren bei allen Studiengruppen mit je  $0,5 \text{ u/mg} \times 10^{-1}$  gleich groß. Dies deutet darauf hin, dass natives LDL zu gleichen Anteilen oxidiert wurde. Da das Substrat für die Oxidationsvorgänge natives LDL ist, korreliert die oxLDL-Konzentration im Blut mit der zirkulierenden LDL-Menge. Allerdings ist nicht allein die Menge des LDL, sondern auch dessen Empfindlichkeit gegenüber dem Oxidationsvorgang dafür entscheidend, wieviel oxLDL entsteht. So ist z. B. small, dense LDL (sdLDL), also kleines, dichtes LDL leichter oxidierbar als natives LDL, weil es unter anderem weniger Antioxidantien enthält [97].

## **4.2 OxLDL**

### **4.2.1 Analysenmethoden zur Bestimmung von oxLDL**

Da unterschiedliche Analysenmethoden zur Bestimmung von oxLDL bestehen, von denen bisher keine für die klinische Routinediagnostik validiert wurde, können die Messwerte von oxLDL aus Studien nur dann verglichen werden, wenn identische Analysenmethoden angewandt wurden. Denn die gemessene oxLDL-Menge ist davon abhängig, ob oxLDL im Blut in an AK gebundener (IK) oder in ungebundener Form bestimmt wird, welcher AK verwendet wird und in welcher Messeinheit die Quantifizierung erfolgt [26,27]. Zum besseren Verständnis sollen

im Folgenden die wesentlichen Aspekte der verschiedenen Analysemethoden erläutert werden:

Zur Messung von ungebundenem oxLDL im Blut gibt es drei ELISAs mit unterschiedlichen monoklonalen Maus-AK (4E6, DLH3 und E06) [26]. Am häufigsten wird der Fänger-AK 4E6 eingesetzt, der auch zum oxLDL-Nachweis bei der vorliegenden Arbeit verwendet wurde. Dessen Herstellung erfolgt durch Injektion von humanem, in vitro mit Kupfer oxidiertem LDL, in Mäuse. Mittels Verschmelzung einer AK-produzierenden Plasmazelle mit einem Myelom bildet sich eine Hybridzelle, aus welcher der AK dauerhaft gewonnen werden kann. Das OSE besteht aus Aldehyden, die an den ApoB-100-Anteil kovalent gebundenen sind und vor allem bei der Lipidperoxidation entstehen. Dabei müssen mindestens 60 kovalent an Lysinreste des ApoB-100 gebundene Aldehyde vorliegen, damit oxLDL vom SR erkannt wird [98]. Da bei 4E6 diese Mindestanzahl erfüllt ist, erkennt dieser AK ungebundenes hochgradig oxidiertes LDL. Allerdings gibt es Hinweise auf eine Kreuzreaktivität mit nativem LDL, wobei 4E6 mit einer tausendfach höheren Affinität an oxLDL binden soll [26].

Die beiden anderen möglichen AK DLH3 und E06 sind gegen oxidierte Phospholipide gerichtet. DLH3 ist, wie 4E6, ein Fänger-AK in einem Sandwich-ELISA, der verhältnismäßig wenig eingesetzt wird [26]. E06 ist ebenfalls Teil eines Sandwich-ELISAs und reagiert als Detektions-AK mit oxidiertem Phosphatidylcholin. Der Fänger-AK MB47 ist gegen intaktes ApoB-100 gerichtet. Weil oxidierte Phospholipide (oxPL) auf allen ApoB-100 haltigen Lipoproteinen wie LDL, Lp(a), IDL und VLDL vorkommen, wird dieser ELISA auch als oxPL/ApoB-Assay bezeichnet [26,97]. Hierdurch kann allerdings nur der oxPL/ApoB-Quotient, nicht jedoch die Gesamtmenge von oxPL im Blut bestimmt werden. Da Lp(a) den Hauptanteil an oxPL trägt, wird mit dem E06-ELISA vor allem oxidiertes Lp(a) nachgewiesen, wohingegen oxLDL nur in geringen Mengen erfasst wird [99]. E06 existiert auch in vivo als opsonierender natürlicher AK vom IgM-Typ (T15). T15 erkennt spezielle Phosphocholin-Bestandteile, die - außer in der Zellwand von körperfremden Erregern wie *Streptococcus pneumoniae* und von körpereigenen, nekrotischen und apoptotischen Zellen - auch auf der oxLDL-Hülle vorkommen [48].

Eine weitere Methode ist die Bestimmung von oxLDL, das in oxLDL-IK gebunden ist. Hierbei werden die oxLDL-IK zunächst aus Plasma oder Serum ausgefällt, oxLDL dann affinitätschromatographisch vom anti-oxLDL-AK getrennt und schließlich mittels ELISA durch einen spezifischen AK nachgewiesen [28]. LOPES-VIRELLA ET AL. postulieren, dass es pathophysiologisch bedeutsamer sei, aus IK isolierte oxLDL zu bestimmen. Denn oxLDL-IK sollen wesentlich stärker proinflammatorisch und proatherogen wirken als ungebundene oxLDL, die nur in sehr geringen Mengen im Blut vorkommen [28].

### *Analysenmethode bei den zitierten Studien*

Wenn nicht anderweitig angegeben, wurden in allen Studien, die im Folgenden diskutiert werden sollen, zirkulierende, ungebundene oxLDL mittels 4E6-ELISA im Blut bestimmt.

### **4.2.2 OxLDL bei der gesunden Kontrollgruppe**

Der bei der gesunden Kontrollgruppe gemessene oxLDL-Wert entsprach mit  $Md = 53 \text{ u/l}$  ungefähr dem Referenzwert von  $Md = 59 \text{ u/l}^{13}$ , der bei zufällig ausgewählten Personen aus der Umgebung Stockholms ( $n = 147$ ) ermittelt wurde.

### **4.2.3 OxLDL bei der MetS-Gruppe<sup>14</sup>**

Als Ergebnis der vorliegenden Arbeit wurde, bezogen auf den höheren oxLDL-Wert der MetS-Gruppe zum niedrigeren oxLDL-Wert der gesunden Kontrollgruppe, zwar ein klinisch relevanter Unterschied festgestellt, dieser war jedoch nicht signifikant. Eine mögliche Erklärung ist die bei den MetS-Patienten durchgeführte Statintherapie. Dass zirkulierendes oxLDL durch eine Statintherapie gesenkt wird [26,100,101], haben z. B. NDREPEPA ET AL. bei KHK-Patienten ( $n = 687$ ) festgestellt [101]. Auch TAVRIDOU ET AL. berichteten, dass bei hypercholesterinämischen Patienten, mit und ohne KHK, zirkulierendes oxLDL durch Simvastatin (40 mg/die für 3 Monate) sowohl in der Primär- als auch in der Sekundärprävention signifikant gesenkt wurde [100].

---

<sup>13</sup> Gemäß Herstellerangaben des in dieser Arbeit verwendeten ELISA Kits.

<sup>14</sup> MetS-Definition der zitierten Studien siehe Seite 70.

Im Gegensatz zu dem hier vorliegenden Ergebnis wurde bei verschiedenen US-amerikanischen Kohortenstudien mit Teilnehmern aller Altersklassen und Rassen für oxLDL ein signifikanter Unterschied zwischen Personen mit und ohne MetS festgestellt. In der CORONARY ARTERY RISK DEVELOPMENT IN YOUNG ADULTS STUDY (CARDIA-STUDIE) an jungen, gesunden Erwachsenen im Alter von 18 bis 30 Jahren ( $n = 1889$ ) wurden bei Teilnehmern, die in einem Nachbeobachtungszeitraum von 5 Jahren ein MetS entwickelten, schon zu Studienbeginn signifikant erhöhte oxLDL-Werte gemessen. Statine wurden so gut wie keine ( $n = 13, < 1\%$ ) verabreicht [102]. Doch nicht nur hinsichtlich der Inzidenz des MetS waren erhöhte oxLDL-Werte festzustellen, sondern auch in Bezug auf die Prävalenz des MetS. In einer Teilgruppe der allgemeinbevölkerungsbasierten MULTI-ETHNIC STUDY OF ATHEROSCLEROSIS (MESA) ( $n = 997$ ) mit vier verschiedenen Ethnien im Alter von 45 bis 84 Jahren ohne CVD war bei denjenigen, die ein MetS (definiert nach AHA/NHLBI) aufwiesen, der oxLDL-Wert signifikant erhöht. Die Prävalenz des MetS betrug 33 %. Die Studie enthielt Angaben zu antihypertensiver und antidiabetischer Therapie, eine Statintherapie wurde nicht erwähnt [35]. In der großen HEALTH, AGING AND BODY COMPOSITION KOHORTE (HEALTH ABC-STUDIE) an älteren ( $M = 74$  Jahre), gesunden Amerikanern ( $n = 3033$ ) waren die im Blut bestimmten oxLDL-Werte bei Personen mit MetS, unabhängig von Geschlecht, Alter, Rasse, Raucherstatus und LDL, signifikant höher als bei Teilnehmern ohne MetS. Die MetS-Prävalenz betrug 38 % (19 % erhielten Statine). Patienten mit MetS wiesen ein erhöhtes Risiko auf, an einer KHK zu erkranken. Der oxLDL-Wert stellte hier einen prädiktiven Marker dafür dar, einen Myokardinfarkt zu erleiden [37]. Auch in Studien, an denen wesentlich weniger Personen mit MetS ( $n = 20$  bis 74) teilnahmen, die weder eine Statintherapie erhielten noch rauchten, waren bei der MetS-Gruppe im Vergleich zu nichtrauchenden Gesunden ( $n = 32$  bis 48) oxLDL signifikant erhöht [36,103]. GIRONA ET AL. berichteten demgegenüber, dass bei nicht rauchenden Typ-2-Diabetikern ( $n = 166$ ), weder beim Vergleich der Gruppen mit und ohne MetS (modifizierte NCEP-ATP III-Definition, BU durch BMI ersetzt), noch beim Vergleich der Gruppen mit und ohne CVD, unterschiedliche oxLDL-Konzentrationen im Blut gefunden wurden. Lediglich

beim oxLDL/LDL- und beim oxLDL/HDL-Quotient wurden signifikante Unterschiede festgestellt. Der oxLDL-Wert korrelierte bei Typ-2-Diabetikern positiv mit der Anzahl der Komponenten des MetS [104]. In allen Studien, in denen Gesunde mit MetS-Patienten verglichen wurden, wobei entweder kein oder nur wenige Teilnehmer Statine erhielten, war oxLDL bei Personen mit MetS signifikant erhöht. Dies wurde von HOLVOET ET AL. mit dem gehäuften Vorkommen von leicht oxidierbarem sdLDL bei Personen mit MetS erklärt [37]. So war in der HEALTH ABC-STUDIE sdLDL, festgelegt als TG/HDL-Quotient  $> 1,33$ , signifikant erhöht bei Teilnehmern mit MetS im Vergleich zu Teilnehmern ohne MetS [37].

Auch bei Patienten mit KHK, cAVK oder pAVK wurden verschiedene Studien mit dem Ziel durchgeführt, herauszufinden, ob oxLDL einen prädiktiven Wert für CVD und CVE hat. Die Studienlage ist jedoch nicht einheitlich. FERREIRA ET AL. zeigten in einer Querschnittstudie an Gesunden ohne CVD ( $n = 107$ ), dass die Intima-Media-Dicke der Arteria carotis communis im höchsten Tertil von oxLDL signifikant größer war als im niedrigsten Tertil und dass oxLDL mit ihr signifikant (linear, gleichsinnig, mittelstark) korrelierte. Ältere, adipöse Frauen mit hohen Blutdruckwerten und hohem LDL- und ApoB-100-Spiegel wiesen hierbei die höchsten oxLDL-Konzentrationen ( $\geq 70,1$  u/l) auf [47]. BRAUN ET AL. konnten bei oxLDL keine Prädiktion für CVE erkennen, nachdem sie Patienten mit koronarangiographisch gesicherter KHK unter lipidsenkender (Statine) und antihypertensiver Therapie ( $n = 687$ ) in einem Nachbeobachtungszeitraum von einem Jahr untersucht hatten [105]. Auch in einer Teilstudie der VADT-STUDIE an Patienten mit langjährigem DMT2 ( $n = 907$ ), von denen bereits 38,3 % mindestens einmal ein CVE erlitten hatten, konnte in einem Nachbeobachtungszeitraum von 3,7 Jahren nicht nachgewiesen werden, dass oxLDL (hier gemessen im Blut aus IK) einen prädiktiven Wert für CVE hat. Es wurde lediglich eine signifikante Korrelation für MDA-LDL und dem Auftreten von Herzinfarkten gefunden [28]. Bei einer Teilgruppe der DCCT/EDIC-KOHORTE, die aus Typ-1-Diabetikern ohne CVD bestand, wurde demgegenüber eine positive Korrelation zwischen der koronaren Verkalkung als KHK-Äquivalent und oxLDL-IK festgestellt [106]. Die unterschiedlichen Ergebnisse erklärte die Arbeitsgruppe damit, dass nur die Patienten mit DMT2



CVD aufwiesen. Nach Ansicht der Autoren spiegeln die Ergebnisse unterschiedliche pathophysiologische Zustände wider, wonach erhöhte oxLDL-IK auf eine Plaque-Progression, erhöhte MDA-LDL-IK dagegen auf eine Plaque-Destabilisierung hindeuten sollen [28].

### **4.2.4 OxLDL bei den NT-Gruppen**

#### *LDL und oxLDL bei NT unter Statintherapie*

Die ALERT-STUDIE an NT (n = 2102) zeigte, dass durch Therapie mit Fluvastatin (40-80 mg/die versus Placebo) LDL nach durchschnittlich 5,1 Jahren signifikant um 32 % reduziert wurde [107]. Ebenso wird auch oxLDL bei NT durch Statintherapie gesenkt [108].

#### *OxLDL bei NT unter CNI-Therapie*

Die oxLDL-Werte der NT ohne MetS und der Gesunden unterschieden sich nicht. Dieses Ergebnis wird von COFAN ET AL. bestätigt, die ebenfalls keinen Unterschied in der Oxidierbarkeit von LDL bei NT unter Tacrolimusbehandlung ohne Statintherapie (n = 18), im Vergleich mit Gesunden (n = 15), fanden. Die Tests zur Oxidierbarkeit von LDL wurden in vitro durchgeführt [109]. Da auch beim Vergleich der MetS-Gruppen mit und ohne NTx kein klinisch relevanter Unterschied der oxLDL-Werte gefunden wurde, spricht dies ebenfalls dafür, dass der im Blut gemessene oxLDL-Wert durch die NTx bzw. die immunsuppressive Dauertherapie nicht wesentlich beeinflusst wurde.

Demgegenüber stellten BOSMANS ET AL. bei NT (n = 36) im Vergleich mit Gesunden (n = 30) bei einem Nachbeobachtungszeitraum von 18 Monaten unter einer Triple-Therapie mit CsA, MMF oder Azathioprin (Aza) und Pred eine signifikante oxLDL-Erhöhung fest. Der Mittelwert von oxLDL war bei den NT im Vergleich zu den Gesunden fünffach erhöht. Die Arbeitsgruppe erklärte ihr Ergebnis damit, dass bei NT eine hohe Anzahl von leichter oxidierbarem sdLDL vorlag. Allerdings wurden keine Angaben dazu gemacht, ob und wie viele NT-Patienten eine Statintherapie erhielten [110]. Die Hypothese, dass hochatherogenes sdLDL bei NT, die mit CNI behandelt werden, gehäuft vorkommt, wurde von BADIOU ET AL.

bestätigt. Sie zeigten bei NT (n = 62) in der stabilen Posttransplantationsphase (M = 2 Jahre), dass sdLDL bei ca. 30 % der NT vorhanden war (26 % bei CsA bzw. 33 % bei Tac, jeweils in Triple-Therapie mit Aza und Pred, jeweils ohne Lipidsenker). Hierbei war sdLDL als kleiner 25,5 nm definiert. Zur Prävention von CVD bei NT wurde von dieser Arbeitsgruppe vorgeschlagen, dass nicht nur LDL, sondern auch sdLDL gesenkt werden sollen. Der Anteil von sdLDL müsse nicht aufwendig gemessen werden, sondern könne indirekt über den TG/HDL-Quotienten geschätzt werden [111].

### *OxLDL bei NT unter Tacrolimus- versus Ciclosporintherapie*

Bei den vorgenannten Arbeitsgruppen COFAN ET AL. und BOSMANS ET AL. erhielten die untersuchten Patienten unterschiedliche immunsuppressive Therapieregime, sodass sich die Frage stellt, ob dies einen Einfluss auf den oxLDL-Wert im Blut hatte. Bei NT mit einer Triple-Therapie, die entweder Tac oder CsA, sowie MMF und Pred enthielt, wurde in einem Nachbeobachtungszeitraum von 12 Monaten beim oxLDL-Wert kein signifikanter Unterschied zwischen der Tac- und CsA-Gruppe festgestellt [112,113]. Die Studienteilnehmer erhielten ebenso wie in der hier vorliegenden Arbeit sowohl eine lipidsenkende (Statine) als auch eine anti-hypertensive Therapie [112]. Auch MORENA ET AL. berichteten, dass bei NT-Patienten, die entweder mit Tac (n = 18 NT) oder mit CsA (n = 16 NT) behandelt wurden, kein Unterschied in der Oxidierbarkeit von LDL bestand. Die Tests wurden in vitro mittels Kupferoxidation von LDL durchgeführt [114]. Lediglich in einer kleinen Studie, in der NT (n = 12) von CsA wegen Gingivahyperplasie auf Tac umgestellt wurden, war oxLDL unter Tac signifikant niedriger [115]. Da jedoch die Patientenzahl niedrig, der Nachbeobachtungszeitraum mit 3 Monaten sehr kurz war und das Ergebnis bisher nicht reproduziert wurde, erscheint die Hypothese wahrscheinlicher, dass bezüglich der prooxidativen Eigenschaften kein Unterschied zwischen den beiden therapeutisch eingesetzten CNI besteht. Demzufolge scheinen die verschiedenen Therapieregime mit Tac und CsA keinen Einfluss auf die Höhe des gemessenen oxLDL-Werts der beiden NT-Gruppen in der vorliegenden Arbeit zu haben.

Dass für die gemessenen durchschnittlichen oxLDL-Werte kein signifikanter Unterschied zwischen den NT-Gruppen, der MetS-Gruppe und der gesunden Kontrollgruppe gefunden wurde, lässt sich zusammenfassend damit erklären, dass alle Patientengruppen (MetS-Gruppe 54 %, NT-Gruppe mit MetS 64 % und NT-Gruppe ohne MetS 30 %) Statine erhielten und dadurch deren oxLDL-Wert an denjenigen Wert der gesunden Kontrollgruppe angeglichen wurde.

### *OxLDL als kardiovaskulärer Biomarker bei NT*

Bezüglich der Eignung von oxLDL als prädiktiver diagnostischer Marker für das Vorliegen von AS bei Transplantierten, zeigten HOLVOET ET AL. an n = 99 Herztransplantierten in der stabilen Posttransplantationsphase (Md = 3 Jahre), die initial koronarangiographisch keine KHK aufwiesen, dass der oxLDL-Wert als prädiktiver diagnostischer Marker für eine transplantatassoziierte KHK herangezogen werden kann. Denn in einem Nachbeobachtungszeitraum von 2 Jahren wurde bei den n = 21 Herztransplantierten, die sowohl zu Studienbeginn als auch nach 2 Jahren signifikant erhöhte oxLDL-Werte aufwiesen, koronarangiographisch eine KHK diagnostiziert. Zusätzlich stieg bei der Gruppe mit KHK der oxLDL-Wert innerhalb der 2 Jahre signifikant an, im Vergleich zu der Gruppe, die weiterhin keine KHK entwickelte. Beide Gruppen erhielten eine lipidsenkende (Statine, Fibrate) und eine antihypertensive Therapie [116]. Allerdings wurde der prädiktive Wert von oxLDL bei Herztransplantierten für eine transplantatassoziierte KHK weder von anderen Arbeitsgruppen bestätigt, noch wurde bisher gezeigt, dass sich diese Ergebnisse auf NT übertragen lassen. Bei NT wurde jedoch durch den histopathologischen Nachweis von oxLDL (AK DLH3) in Schaumzellen der renalen Transplantatarterien eine transplantatassoziierte AS festgestellt, die über eine chronische Transplantatdysfunktion bis zum Transplantatversagen führen kann [117].

## **4.3 Anti-oxLDL-IgG**

### **4.3.1 Analysenmethoden zur Bestimmung von anti-oxLDL-IgG**

Eine einheitliche standardisierte Analysenmethode zur Bestimmung von anti-oxLDL-AK im Blut gibt es nicht. Beim Vergleich verschiedener Studienergebnisse

muß daher berücksichtigt werden, ob anti-oxLDL-AK ungebunden oder in IK gebunden bestimmt wurden und welches Antigen beim Nachweis mittels ELISA verwendet wurde. Im Folgenden sollen wesentliche Aspekte der verschiedenen Analysenmethoden erläutert werden:

Obwohl die Mehrzahl der anti-oxLDL-AK gebunden in IK vorliegt [118], werden sie in dieser Form aufgrund des zur Bestimmung erforderlichen Zeit- und Kostenaufwands selten nachgewiesen. Anti-oxLDL-AK werden am häufigsten in ungebundener Form im Blut mittels ELISA quantifiziert. Hierfür wird humanes Cu-oxLDL oder MDA-LDL an die Festphase der ELISA-Platte gebunden [41]. Zum Prinzip eines indirekten ELISA für den anti-oxLDL-IgG Nachweis siehe Kapitel 2.3.3. Der Vorteil der Bestimmung mittels MDA-LDL-Antigen besteht darin, dass es ein einheitliches Epitop besitzt, das leichter standardisiert werden kann. Als Nachteil wird gesehen, dass es sich um ein artifizielles, nicht oxidiertes Epitop handelt, das die in vivo-Bedingungen nicht wiedergibt [41]. Im Gegensatz hierzu haben die bei der Oxidation von nativen LDL mit Kupfer entstehenden Epitope, die sich je nach Expositionszeit des Kupfers, Oxidationsphase und Anzahl der in LDL vorhandenen Antioxidantien voneinander unterscheiden, den Vorteil, dass sie den in vivo vorhandenen Bedingungen besser entsprechen. Allerdings sind die in vitro entstandenen Cu-oxLDL meist wesentlich stärker oxidiert als die in vivo vorhandenen oxLDL. Eine hierauf basierende Nachweismethode kann wegen der Vielfalt der entstandenen OSE nicht standardisiert werden [41].

Angaben zu Einheiten, in denen die Werte gemessen werden, sind je nach Analysenmethode unterschiedlich. Sie reichen von Lumineszenz-Einheiten über internationale Einheiten pro Milliliter bis zur Einheit der optischen Dichte [41].

Unterschiedliche Ansichten bestehen außerdem bei der Messung von anti-MDA-LDL-AK darüber, ob die Messergebnisse durch Verringerung um die Anzahl der unspezifisch an native LDL gebundenen AK mittels Subtraktion oder durch Quotientenbildung korrigiert werden sollen [41,119] oder ob aufgrund der hohen Oxidationsanfälligkeit von aus Blut isolierten nativen LDL eine solche Korrektur die Ergebnisse verfälscht [120].

#### *Analysenmethode bei den zitierten Studien*

In den im Folgenden zitierten Studien wurde ungebundenes anti-Cu-oxLDL-IgG im Blut bestimmt, ohne dass die Messergebnisse korrigiert wurden. Sofern es sich abweichend davon um anti-MDA-LDL-IgG oder um aus IK gewonnene AK handelte, wurde dies jeweils nachstehend im Text angegeben.

#### **4.3.2 Anti-oxLDL-IgG bei der gesunden Kontrollgruppe**

Beim Vergleich aller drei Patientengruppen mit den Probanden waren die Mittelwerte der gesunden Kontrollgruppe klinisch relevant und signifikant erhöht, wobei zur NT-Gruppe mit MetS ein großer, ansonsten ein mittelgroßer Unterschied gefunden wurde. Dies steht im Einklang mit anderen Studienergebnissen, bei denen bei Gesunden im Vergleich zu Typ-2-Diabetikern [121], zu Patienten mit stabiler KHK [44,122] und zu Patienten mit cAVK [123] erhöhte anti-Cu-oxLDL-IgG-Titer nachgewiesen wurden. Eine Erklärungsmöglichkeit für den Befund niedriger anti-oxLDL-IgG-Werte bei den Patientengruppen gegenüber der gesunden Kontrollgruppe besteht darin, dass bei Patienten mit subklinischer oder bereits manifester AS die AAK nicht frei, sondern vor allem in an oxLDL gebundenen IK vorliegen [51] und somit von der verwendeten Analysenmethode nicht erfasst werden. Darüber hinaus könnten die Ergebnisse auch durch einen unterschiedlich großen, genetisch bedingten Anteil an atheroprotektiv wirkenden natürlichen AK vom IgM-Typ im Blut beeinflusst worden sein. Hierbei sind bei Personen, die einen höheren Titer an natürlichen AK vom IgM-Typ aufweisen, im Blut weniger ungebundene oxLDL vorhanden, was zu einem geringeren Stimulus für die Bildung von anti-oxLDL-AK durch das erworbene Immunsystem führt [51]. Bei solchen Studien, bei denen sich für anti-oxLDL-IgG-Werte von Gesunden kein signifikanter Unterschied im Vergleich zu Patienten mit KHK ergab, wurden anti-MDA-LDL-IgG-Titer bestimmt [124,125].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit stimmen mit der Hypothese überein, dass anti-Cu-oxLDL-IgG mit der Prävalenz der AS invers assoziiert ist [126]. In diesem Zusammenhang ist eine Studie von SHOJ ET AL. erwähnenswert, die zeigte, dass bei Gesunden eine inverse Korrelation zwischen oxLDL und anti-Cu-oxLDL-IgG vorliegt [127].

### *Einfluss von Alter und Geschlecht auf anti-oxLDL-AK bei Gesunden*

Hinsichtlich des anti-Cu-oxLDL-IgG-Titers stellten KARABINOS ET AL. fest, dass dieser bei gesunden, jungen Erwachsenen im Alter von 17 bis 25 Jahren höher ausfiel als bei gesunden Personen im mittleren Alter von 45 bis 65 Jahren [128]. Die Autoren postulierten, dass die Immunantwort auf ein stimulierendes Antigen mit zunehmendem Alter abnimmt [128]. Dies könnte die Beobachtung erklären, dass das Risiko, an einer AS zu erkranken, mit dem Alter zunimmt. Die FRAMINGHAM OFFSPRING Studie an gesunden US-Amerikanern (n = 2619, 20-79 Jahre) zeigte demgegenüber mit zunehmendem Alter höhere anti-MDA-LDL-IgG-Titer [129]. Dieser Befund ist allerdings mit Vorsicht zu bewerten, denn die einzelnen Mittelwerte differierten bei den in 10-Jahres-Kategorien als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung angegebenen Ergebnissen kaum und die jeweilige Standardabweichung war häufig so groß wie der Mittelwert selbst [119,129]. Schließlich stellten TINAHONES ET AL. in einer Querschnittstudie an gesunden Personen aus der spanischen Allgemeinbevölkerung im Alter von 5 bis 65 Jahren (n = 1354) fest, dass der anti-MDA-LDL-IgG-Titer bei Frauen und jungen Erwachsenen im Alter von 16 bis 35 Jahren signifikant höher war als derjenige bei Männern und bei über 36-jährigen Erwachsenen [126]. Der angeführte anti-MDA-LDL-IgG-Titer wurde dabei als Differenz aus dem ursprünglichen anti-MDA-LDL-IgG-Wert und dem anti-LDL-IgG-Wert berechnet [126]. Bei Gesunden zwischen 36 und 65 Jahren fanden TINAHONES ET AL. keinen signifikanten altersabhängigen Unterschied der AAK [126]. Da sämtliche Teilnehmer der vorliegenden Arbeit im Mittel zwischen 37 und 59 Jahre alt waren, ist davon auszugehen, dass der Altersunterschied zwischen den Gesunden (M = 37 Jahre) und den drei untersuchten Patientengruppen (M = 52-59 Jahre) keinen Einfluss auf die Ergebnisse der anti-oxLDL-IgG-Werte hatte.

### **4.3.3 Anti-oxLDL-IgG bei der MetS-Gruppe<sup>15</sup>**

Im Vergleich zu den Gesunden wies die MetS-Gruppe einen klinisch relevanten, signifikant erniedrigten anti-Cu-oxLDL-IgG-Wert auf. Dies steht im Einklang mit den Ergebnissen einer großen epidemiologischen Studie von SÄMPI ET AL. an der

---

<sup>15</sup> MetS-Definition der zitierten Studien siehe Seite 70.

finnischen Allgemeinbevölkerung (n = 1039, M = 51 Jahre), bei der Typ-2-Diabetiker im Vergleich zu Gesunden ebenfalls signifikant niedrigere anti-Cu-oxLDL-IgG-Werte aufwiesen [121]. Demgegenüber berichteten VALLE ET AL., dass anti-oxLDL-AK-Titer im Vergleich zu Gesunden bei Patienten mit MetS (n = 76, M = 58 Jahre) signifikant erhöht waren [36]. Allerdings war die Kontrollgruppe (n = 32, M = 55 Jahre) klein und Angaben, ob anti-Cu-oxLDL-IgG oder anti-Cu-oxLDL-IgM bestimmt wurde, fehlten. Auch erhielten die teilnehmenden Diabetespatienten, im Gegensatz zu den Studienteilnehmern in der vorliegenden Arbeit, keinerlei Dauermedikation, also auch keine Statine [36].

RESCH ET AL. fanden heraus, dass anti-Cu-oxLDL-IgG in einem Zeitraum von 6 Monaten durch eine Statintherapie bei Patienten mit Dyslipidämie (n = 109, M = 58 Jahre), davon 30 % mit klinisch manifester AS und 10 % mit KHK, signifikant gesenkt wurde [130]. Darüber hinaus konnten ÖREM ET AL. bei Patienten mit Dyslipidämie (n = 44, M = 54 Jahre) nachweisen, dass anti-Cu-oxLDL-IgG durch eine De-novo-Therapie mit einem Statin nach 3 Monaten signifikant um ca. 20 % gesenkt wurde [131]. Der analytische AK-Nachweis wurde in beiden vorgenannten Studien über dasselbe ELISA Kit wie in der vorliegenden Arbeit geführt [130,131]. Die im Vergleich mit der Studie von VALLE ET AL. unterschiedlichen Ergebnisse können somit - außer durch Bestimmung eines anderen AK - dadurch erklärt werden, dass mehr als die Hälfte (54 %) der Patienten aus der MetS-Gruppe eine Statintherapie erhielt.

#### **4.3.4 Anti-oxLDL-IgG bei den NT-Gruppen**

Die anti-Cu-oxLDL-IgG-Titer der NT-Gruppen mit und ohne MetS wiesen weder untereinander noch zur MetS-Gruppe einen signifikanten Unterschied auf. Ein signifikanter, klinisch relevanter Unterschied bestand jedoch zwischen den niedrigeren anti-Cu-oxLDL-Titern der NT-Gruppen und dem höheren anti-Cu-oxLDL-Titer der gesunden Kontrollgruppe. Dieser Befund wird durch ZEZINA ET AL. bestätigt, die berichteten, dass der anti-Cu-oxLDL-IgG-Titer, gemessen mit demselben Kit wie in der vorliegenden Arbeit, bei NT (n = 92, M = 45 Jahre) 6 Monate nach NTx unter einer Triple-Therapie mit CsA, Aza und Pred signifikant abnahm [132]. Sie stellten außerdem fest, dass niedrigere Titer von anti-Cu-oxLDL-IgG

innerhalb der ersten 3 Monate nach NTx signifikant mit einem höheren Risiko sowohl für eine KHK als auch für eine akute Rejektion assoziiert waren. Obwohl ein Teil der Patienten eine CVD, insbesondere eine KHK, aufwies, gab es keine Angabe dazu, ob die NT eine Statintherapie erhielten. Bei einem Nachbeobachtungszeitraum von 2 Jahren waren die anti-Cu-oxLDL-IgG-Titer der Kontrollgruppe (n = 90) deutlich höher als diejenigen der NT. Bei einzelnen Altersgruppen wurde in dieser Studie ein signifikanter Unterschied nachgewiesen [132].

Zur Frage, ob beide NT-Gruppen aufgrund ihrer unterschiedlichen CNI-Therapieregime (Tac oder CsA) hinsichtlich der anti-oxLDL-AK-Bildung differierten, berichteten MORENO ET AL., dass bei den anti-Cu-oxLDL-IgG-Titern von NT (n = 67) mit einer Mindestposttransplantationsdauer von einem Jahr kein signifikanter Unterschied zwischen den entweder mit Tac oder mit CsA therapierten Patienten festgestellt werden konnte [133].

Alle in der vorliegenden Arbeit untersuchten Patienten der NT-Gruppen erhielten eine CNI-Therapie: 78 % der NT mit MetS und 77 % der NT ohne MetS hatten eine Triple-Therapie mit Tac/CsA, MMF/MPS und Pred. Wie in Kapitel 1.5.2 ausgeführt, inhibieren sowohl CNI als auch MPA B- und T-Lymphozyten. Der indirekte Effekt der CNI auf B-Zellen durch T-Zell-Hemmung ist so stark, dass er ausreicht, um die AK-Bildung durch B-Zellen zu unterbinden [134].

Die Ergebnisse dieser Arbeit werden durch weitere Studien bestätigt, in denen bei Patienten mit DMT2, mit KHK, mit Hypercholesterinämie, mit Zustand nach akutem Koronarsyndrom und mit NTx in der stabilen Posttransplantationsphase ( $\geq 6$  Monaten) ebenfalls ein niedrigerer anti-oxLDL-IgG-Titer als bei der gesunden Kontrollgruppe festgestellt wurde [44,121–123,132]. Eine mögliche Erklärung für den erniedrigten anti-oxLDL-IgG-Titer der NT-Gruppen gegenüber der gesunden Kontrollgruppe ist außerdem im medikamentösen Einfluss sowohl von Statinen [130,131] als auch von Immunsuppressiva, wie CNI und MPA [134], auf die anti-oxLDL-IgG-Titer zu sehen. So wies hier die NT-Gruppe mit MetS, bei der die Teilnehmer zum einen eine immunsuppressive Therapie erhielten, zum



anderen am häufigsten (64 %) mit Statinen behandelt wurden, den niedrigsten anti-oxLDL-IgG-Titer auf.

#### **4.4 HsCRP**

Während in den deutschen Leitlinien zur Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen eine Routinemessung von hsCRP zur CV-Risikostratifizierung nicht empfohlen wird [135], ist in den US-amerikanischen Leitlinien zur Primärprävention die zusätzliche hsCRP-Bestimmung eine Klasse IIb-Empfehlung mit Evidenzgrad C bei Personen mit einem LDL < 190 mg/dl und einem Gesamtrisiko < 5 % als Entscheidungshilfe dahingehend, ob eine Statintherapie eingeleitet werden soll oder nicht [57,136].

##### **4.4.1 Analysenmethode zur Bestimmung von hsCRP**

Die Bestimmung von hsCRP ist standardisiert und erfolgt als hochsensitiver Assay mittels (Laser-)Nephelometrie, vgl. Tab. 2.4.

##### **4.4.2 HsCRP bei der gesunden Kontrollgruppe**

Da sich die hsCRP-Werte der Gesunden in der vorliegenden Arbeit signifikant von denjenigen der beiden MetS-Gruppen unterschieden, jedoch zwischen dem hsCRP-Wert der gesunden Kontrollgruppe und demjenigen der NT-Gruppe ohne MetS kein Unterschied bestand, ist die Annahme gerechtfertigt, dass die subklinische Inflammation und das damit einhergehende CVR nicht durch die NTx bedingt ist. Vielmehr scheint sie durch das MetS hervorgerufen zu werden, welches, wie in Kapitel 1.5.1 beschrieben, verschiedene CVRF umfasst.

##### **4.4.3 HsCRP bei der MetS-Gruppe<sup>16</sup>**

Bei der Interpretation der Ergebnisse der vorliegenden Arbeit ist zu berücksichtigen, dass 54 % der Patienten der MetS-Gruppe mit Statinen therapiert wurden. Zum Einfluss von Statinen auf hsCRP zeigte die CHOLESTEROL AND RECURRENT EVENTS (CARE)-STUDIE erstmals 1998, dass Statine hsCRP, unabhängig von LDL, senken [57]. In weiteren Studien wurde festgestellt, dass unter einer Therapie mit

---

<sup>16</sup> MetS-Definition der zitierten Studien siehe Seite 70.

Statinen das beste CV-Ergebnis dann erzielt werden konnte, wenn LDL auf  $< 70$  mg/dl und hsCRP auf  $< 2$  mg/l gesenkt wurde. Man spricht daher auch von den „doppelten Therapiezielen der Statintherapie“ [57].

Bei der randomisierten, doppelblinden, placebokontrollierten Präventionsstudie JUSTIFICATION FOR THE USE OF STATINS IN PREVENTION: AN INTERVENTION TRIAL EVALUATING ROSUVASTATIN (JUPITER-STUDIE), nahmen ältere Probanden ohne CVD ( $n = 17802$ ) mit einem LDL-Wert  $< 130$  mg/dl (Md = 108 mg/dl), einem TG-Wert  $< 500$  mg/dl (Md = 118 mg/dl) und einem hsCRP-Wert von  $> 2$  mg/l aus 26 Ländern teil [137]. Eine Gruppe erhielt Rosuvastatin 20 mg/die, die andere Gruppe erhielt ein Placebo. 41 % der Teilnehmer der Rosuvastatin-Gruppe und 42 % der Teilnehmer der Placebo-Gruppe hatten ein MetS (definiert nach AHA/NHLBI). In einem Nachbeobachtungszeitraum von Md = 1,9 Jahren wies die Rosuvastatin-Gruppe eine signifikante Reduktion von CVE (Myokardinfarkt um 54 %, Schlaganfall um 48 %), Bypass-OPs (um 47 %), des kombinierten Endpunkts Myokardinfarkt, Schlaganfall oder CV-Mortalität (um 47 %) sowie der Gesamt-Mortalität (um 20%) auf. Je höher der hsCRP-Ausgangswert war, desto größer war die Rosuvastatin-bedingte Reduktion des CVR. Die *number needed to treat*, also die Anzahl der notwendigen Statinbehandlungen, um den primären Endpunkt der Studie durch hsCRP-Senkung zu erreichen, betrug 25 und war damit derjenigen für die Primärprävention der Hyperlipidämie durch Statine vergleichbar. Rosuvastatin senkte LDL (Md = 108 mg/dl) um 50 % und hsCRP (Md = 4,2 mg/l) um 37 % [137].

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, wonach der größte, signifikante und klinisch relevante Unterschied beim Vergleich zwischen der MetS-Gruppe und den Gesunden ( $d=1,47$ ) festgestellt wurde, stimmen mit Studienergebnissen von VALLE ET AL. und VAN GUILDER ET AL. überein, die ebenfalls über höhere hsCRP-Spiegel bei Patienten mit MetS im Vergleich zu Gesunden berichteten, wobei diese Studienteilnehmer keine Statine erhielten [36,103]. Bei der Bewertung der hier gefundenen Messergebnisse ist außerdem zu berücksichtigen, dass der hsCRP-Wert beim Vorliegen eines MetS mit Anzahl und Ausprägung der einzelnen Komponenten zunimmt [57]. Vermutlich wären die hsCRP-Werte der

MetS-Gruppe in dieser Arbeit ohne Gabe von antiinflammatorisch wirkenden Statinen noch höher ausgefallen [57].

#### **4.4.4 HsCRP bei den NT-Gruppen**

Beim Vergleich der NT-Gruppe mit MetS und der gesunden Kontrollgruppe zeigte sich ein signifikanter, klinisch relevanter Unterschied des hsCRP-Werts, wobei der Mittelwert der gesunden Kontrollgruppe niedriger war. Damit hatte die NT-Gruppe mit MetS, ähnlich wie die MetS-Gruppe, ein gegenüber der Allgemeinbevölkerung erhöhtes CVR.

Beim Vergleich des hsCRP-Werts der NT-Gruppe mit MetS mit demjenigen der NT-Gruppe ohne MetS konnte ebenfalls ein signifikanter, klinisch relevanter Unterschied nachgewiesen werden, wobei die NT-Gruppe mit MetS ebenfalls den höheren Mittelwert aufwies. Dies stimmt mit Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen überein: SIPAHIOGLU ET AL. berichteten von signifikant erhöhten hsCRP-Werten bei NT mit MetS (n = 78) im Vergleich zu NT ohne MetS (n = 92), wobei die Autoren darauf hinwiesen, dass das Vorliegen eines MetS zur Abnahme der Transplantatfunktion und auch damit zu einer Verschlechterung der CV-Situation führt [84]. Auch LEE ET AL. fanden bei NT mit MetS (n = 13) signifikant höhere hsCRP-Werte als bei NT ohne MetS (n = 24). Die immunsuppressive Therapie der NT (insgesamt n = 55) bestand aus 66 % Tac und 24 % CsA, 35 % MMF und 38 % MPS sowie 69 % Pred. Zusätzlich nahmen 31 % der Patienten Statine ein [138].

Hinsichtlich des hsCRP-Werts wurde beim Vergleich der NT-Gruppe ohne MetS mit der MetS-Gruppe ein signifikanter, klinisch relevanter Unterschied gefunden, wobei die MetS-Gruppe gegenüber der NT-Gruppe ohne MetS den höheren Wert aufwies. Zwischen der NT-Gruppe mit MetS und der MetS-Gruppe bestand kein signifikanter Unterschied. Dieses Ergebnis legt nahe, dass weder die immunsuppressive noch die lipidsenkende Therapie bei den untersuchten Patientengruppen einen Einfluss auf die Höhe des hsCRP-Werts hatte. So konnte in zwei großen Studien bei NT, im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung oder zu Patienten mit AS, keine signifikante Korrelation zwischen der Gabe von Statinen und dem hsCRP-Wert festgestellt werden [139,140]. Auch bei einem

kleinen NT-Patientenkollektiv (n = 68, M = 52 Jahre, Md = 6 Jahre Posttransplantationsdauer) war die Senkung von hsCRP nach Gabe von niedrigdosierten Statinen (3 Monate 10 mg Atorvastatin/die) nicht signifikant [141]. Eine Statintherapie hat demzufolge bei NT, anders als bei nicht transplantierten Patienten, keinen Einfluss auf die Größe des hsCRP-Wertes.

Weiterhin zeigten HOUSSEN ET AL. bei Kaninchen mit AS (n = 12 je Gruppe), dass auch eine immunsuppressive Therapie mit Tac und CsA keinen Effekt auf hsCRP hat [142]. VAN REE ET AL. berichteten, dass bei NT (n = 606, M = 51 Jahre, Md = 6 Jahre Posttransplantationsdauer) in Bezug auf hsCRP (Md = 2 mg/l) keine signifikante Korrelation mit einer Immunsuppression bestand, weder bei der Gabe von Tac und CsA, noch von MMF, noch von Pred [140]. WONG ET AL. bestätigten diese Ergebnisse bei NT (n = 298, M = 55 Jahre, Md = 6 Jahre Posttransplantationsdauer). Bei der Gabe von MMF in der Höchstdosierung von 2 g/die konnte diese Arbeitsgruppe jedoch eine signifikante inverse Korrelation mit hsCRP nachweisen. Als mögliche Begründung nannten die Autoren, dass, im Unterschied zur Studie von VAN REE ET AL., bei über 40 % der teilnehmenden NT keine kaukasische Herkunft bestand und die Wirksamkeit einer MMF-Therapie von der ethnischen Zugehörigkeit abhängig sei. Darüber hinaus wurden fast 50 % der NT mit Tac therapiert (versus nur ca. 14 % bei VAN REE ET AL. [140]), das zu Wechselwirkungen mit MMF führen kann [139]. In der vorliegenden Arbeit waren die Teilnehmer beider NT-Gruppen fast ausschließlich Kaukasier, die anteilig zu je ca. 80 % Tac und zu je ca. 20 % CsA erhielten, so dass die Ergebnisse der Studie von VAN REE ET AL. mit den hier gefundenen Resultaten vergleichbar sind. Dies lässt den Schluss zu, dass die Größe des hsCRP-Werts bei den NT-Gruppen durch die immunsuppressive Medikation nicht beeinflusst wurde.

Erhöhte hsCRP-Werte ( $\geq 5$  mg/l) vor der NTx sind nicht nur mit dem Auftreten von CVE, sondern auch mit akuten Rejektionen assoziiert [143]. Ähnlich wie bei der Allgemeinbevölkerung und wie bei nichttransplantierten Patienten hat der hsCRP-Wert bei NT eine prädiktive Aussagekraft für die Inzidenz einer KHK sowie für die CV- und die Gesamt-Mortalität [86,140]. CAÑAS ET AL. berichteten,

dass bei  $n = 196$  Patienten die hsCRP-Werte nach NTx im Vergleich zu denjenigen vor NTx signifikant abfielen und sich der Entzündungsprozess nach NTx verbesserte [144]. Dieses Ergebnis wurde auch von anderen Arbeitsgruppen bestätigt [145,146].

Zusammenfassend sind zur Beurteilung des CVR anhand des hsCRP-Wertes jeweils zwei Gruppenpaare, nämlich die beiden MetS-Patientengruppen mit und ohne NTx, bei denen ein erhöhtes CVR bestand, sowie die NT ohne MetS und die gesunden Probanden, bei denen kein erhöhtes CVR festzustellen war, vergleichend heranzuziehen. Hierbei konnte gezeigt werden, dass hinsichtlich des Risikos einer als proatherogen geltenden latenten Inflammation sich die NT ohne MetS nicht von den gesunden Probanden unterscheiden. Der chronische subklinische Entzündungszustand ist mit dem MetS assoziiert und wird durch Immunsuppressiva nicht signifikant reduziert. Da das MetS durch Immunsuppressiva hervorgerufen oder verstärkt werden kann, kann eine individualisierte Optimierung der immunsuppressiven Therapie, die neben Erhalt der Transplantatfunktion auch CV-Vorerkrankungen und CVRF berücksichtigt, zur Reduktion des CVR bei NT beitragen.

### **4.5 Limitationen der Arbeit**

Die Einschlusskriterien für das MetS nach der AHA/NHLBI-Definition wurden in der vorliegenden Arbeit um ein zusätzliches Kriterium, nämlich um den HbA1c-Wert, ergänzt und damit modifiziert. Allerdings werden auch in anderen Studien leicht veränderte MetS-Definitionen angewandt. Da Alter und Geschlecht, Anzahl und Schweregrad der einzelnen MetS-Komponenten, Anzahl an Diabetikern in den MetS-Gruppen, Dauer der Diabeteserkrankung sowie Anzahl an Folgeerkrankungen bei den Studiengruppen unterschiedlich waren, kann nur von einer annähernden Strukturgleichheit der Studienteilnehmer ausgegangen werden. Definitionsgemäß handelt es sich bei Patienten mit MetS um eine heterogene Patientengruppe, weil die MetS-Kriterien variabel kombiniert und unterschiedlich stark ausgeprägt sein können. Aufgrund ihres hohen Anteils an langjährigen,

schlecht eingestellten Typ-2-Diabetikern war die MetS-Gruppe für die Grundgesamtheit nicht repräsentativ.

Bei den NT-Gruppen kann trotz annähernder Strukturgleichheit, bezogen auf die CNI-Therapie (je ca. 80 % Tac und je ca. 20 % CsA), nicht ausgeschlossen werden, dass die Ergebnisse hinsichtlich der untersuchten Serumparameter der Lipoproteinoxidation und Inflammation durch unterschiedliche Therapieregime, nämlich Mono-, duale und Triple-Therapie, sowie durch deren unterschiedliche Zusammensetzung und deren unterschiedliche Dosierungen beeinflusst wurden. Da mehr als die Hälfte der Patienten der beiden MetS-Gruppen Statine erhielt, die nicht nur lipidsenkend, sondern auch antioxidativ und antiinflammatorisch wirken, ist bei der Bewertung der Ergebnisse mit zu berücksichtigen, dass die untersuchten oxLDL-, anti-oxLDL-IgG- und hsCRP-Werte durch Statintherapie gesenkt wurden und dieser Effekt nicht quantifizierbar war.

## 5 Zusammenfassung

Atherosklerose (AS) ist eine chronische Gefäßerkrankung. Sie entsteht über einen Zeitraum von mehreren Jahrzehnten in der Gefäßwand von Arterien im Rahmen eines aktiven Prozesses, bei dem oxidierte Lipoproteine, insbesondere hochgradig oxidierte Lipoproteine geringer Dichte (oxLDL), eine entscheidende Rolle spielen. Hierbei führen oxLDL nicht nur zur Entwicklung der für die AS pathognomonischen Schaumzellen, sondern induzieren auch die Bildung von Autoantikörpern wie anti-oxLDL-Immunglobulin G (anti-oxLDL-IgG), die modulierend auf das Krankheitsgeschehen einwirken. Außerdem ist mit der AS eine chronische, subklinische Inflammation assoziiert, die mittels Bestimmung von hochsensitivem C-reaktivem Protein (hsCRP), einem anerkannten kardiovaskulären Biomarker, nachgewiesen werden kann.

In der vorliegenden Arbeit wurden bei drei Patientengruppen mit erhöhtem kardiovaskulärem Risiko und bei einer gesunden Kontrollgruppe medizinische Daten erhoben sowie die Serumparameter oxLDL, anti-oxLDL-IgG und hsCRP bestimmt und miteinander verglichen. Die einzelnen Studiengruppen bestanden aus n = 50 Patienten mit Metabolischem Syndrom (MetS), davon 92 % mit Diabetes mellitus (DM), aus n = 50 Nierentransplantierten (NT) mit MetS, davon 34 % mit DM und aus n = 56 NT ohne MetS, davon 7 % mit DM sowie aus n = 52 gesunden Probanden. Einschlusskriterien waren erstens für die MetS-Gruppen eine modifizierte MetS-Definition gemäß der AMERICAN HEART ASSOCIATION und des NATIONAL HEART, LUNG AND BLOOD INSTITUTE und zweitens für die NT-Gruppen eine Posttransplantationsdauer von mindestens 6 Monaten unter Calcineurin-Inhibitor-Therapie. Eine Statintherapie erhielten 30 % der Patienten der NT-Gruppe ohne MetS, 64 % der Patienten der NT-Gruppe mit MetS und 54 % der Patienten der MetS-Gruppe. Mindestens eine Makroangiopathie bestand bei 7 % der Patienten der NT-Gruppe ohne MetS, bei 20 % der Patienten der NT-Gruppe mit MetS und bei 26 % der Patienten der MetS-Gruppe. Signifikante Unterschiede bei den untersuchten Serumparametern im Gruppenvergleich wurden nur dann als klinisch relevant gewertet, wenn mindestens ein mittelgroßer Unterschied bestand. Weder beim Vergleich des oxLDL-Werts der Patientengruppen mit der gesunden Kontrollgruppe noch beim

Vergleich des oxLDL-Werts der drei Patientengruppen untereinander konnte ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Eine mögliche Erklärung hierfür ist, dass ein Teil der Patienten aus allen drei Gruppen eine Statintherapie erhielt, die sowohl über eine Senkung des Substrats Lipoprotein geringer Dichte (LDL) als auch über eine Reduktion von reaktiven Sauerstoffspezies zu einer Angleichung der oxLDL-Werte der Patienten an die gesunde Kontrollgruppe führte. Bei anti-oxLDL-IgG, das in ungebundener Form bestimmt wurde, zeigte sich demgegenüber jeweils ein signifikanter, klinisch relevanter Unterschied zwischen den drei Patientengruppen und der gesunden Kontrollgruppe. Der anti-oxLDL-IgG-Wert der gesunden Kontrollgruppe war höher als derjenige sämtlicher Patientengruppen. Dies ist möglicherweise dadurch bedingt, dass anti-oxLDL-IgG bei Patienten mit AS nicht frei zirkulierend, sondern vor allem in Immunkomplexen gebunden vorliegt, die mit der verwendeten Analyse­methode nicht erfasst werden. Darüber hinaus wird eine Antikörperbildung auch durch die Therapie mit Statinen oder Immunsuppressiva verringert. Beim Vergleich des hsCRP-Werts ergab sich ein signifikanter, klinisch relevanter Unterschied zum einen zwischen der MetS-Gruppe und den beiden Gruppen der NT ohne MetS und der gesunden Probanden, zum anderen zwischen der NT-Gruppe mit MetS und den beiden Gruppen der NT ohne MetS und der gesunden Probanden. Bei der MetS-Gruppe und der NT-Gruppe mit MetS war der hsCRP-Wert höher als bei der NT-Gruppe ohne MetS und den gesunden Probanden. Die Höhe des hsCRP-Werts der beiden letztgenannten Gruppen stimmte nahezu überein. Dies spricht dafür, dass erstens bei NT in der stabilen Posttransplantationsphase wie bei der gesunden Kontrollgruppe kein latenter Entzündungszustand vorliegt und dass zweitens die als proatherogen geltende subklinische Inflammation durch das MetS bedingt ist und durch Immunsuppressiva nicht signifikant verringert wird.

Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit unterstreichen damit bei NT in der stabilen Posttransplantationsphase neben Relevanz von Diagnostik und Therapie des MetS, das durch immunsuppressive Behandlung hervorgerufen oder verstärkt werden kann, die Bedeutung einer individualisierten Optimierung der immunsuppressiven Medikation auch unter kardiovaskulären Gesichtspunkten.



## VI Literaturverzeichnis

1. Sidney S, Quesenberry CP Jr., Jaffe MG, Sorel M, Nguyen-Huynh MN, Kushi LH, Go AS, Rana JS (2016): Recent trends in cardiovascular mortality in the United States and public health goals. *JAMA Cardiol* 1: 594–599.
2. Weltgesundheitsorganisation (2013): Der gegenwärtige Stand. Todesursachen. *Der Europäische Gesundheitsbericht 2012*: 5–6.
3. Pschyrembel Online: Atherosklerose; Makro- und Mikroangiopathie; arterielle Verschlusskrankheiten; Lipoproteine. <https://www.pschyrembel.de> [eingesehen am 07.03.2017].
4. World Health Organization (1958): Classification of atherosclerotic lesions. Report of a study group. *World Health Organ Tech Rep Ser* 143: 1–20.
5. Libby P (2002): Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 420: 868–874.
6. Lusis AJ (2000): Atherosclerosis. *Nature* 407: 233–241.
7. Libby P, Ridker PM (2006): Inflammation and atherothrombosis. From population biology and bench research to clinical practice. *J Am Coll Cardiol* 48: A33-A46.
8. Mathes P, Thiery J (2005): The role of lipid metabolism in the prevention of coronary heart disease. *Z Kardiol* 94 Suppl 3: III/43-55.
9. Libby P, Ridker PM, Hansson GK (2011): Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 473: 317–325.
10. Hartvigsen K, Chou MY, Hansen LF, Shaw PX, Tsimikas S, Binder CJ, Witztum JL (2009): The role of innate immunity in atherogenesis. *J Lipid Res* 50 Suppl: S388-S393.
11. Lichtman AH, Binder CJ, Tsimikas S, Witztum JL (2013): Adaptive immunity in atherogenesis: new insights and therapeutic approaches. *J Clin Invest* 123: 27–36.
12. Ross R (1999): Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N Engl J Med* 340: 115–126.
13. Brown MS, Basu SK, Falck JR, Ho YK, Goldstein JL (1980): The scavenger cell pathway for lipoprotein degradation: specificity of the binding site that mediates the uptake of negatively-charged LDL by macrophages. *J Supramol Struct* 13: 67–81.
14. Steinberg D (2009): The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *J Lipid Res* 50: S376-S381.
15. Levitan I, Volkov S, Subbaiah PV (2010): Oxidized LDL: diversity, patterns of recognition, and pathophysiology. *Antioxid Redox Signal* 13: 39–75.
16. Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL (1989): Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med* 320: 915–924.
17. Chisolm GM, Steinberg D (2000): The oxidative modification hypothesis of atherogenesis: an overview. *Free Radic Biol Med* 28: 1815–1826.
18. Maiolino G, Rossitto G, Caielli P, Bisogni V, Rossi GP, Calò LA (2013): The role of oxidized low-density lipoproteins in atherosclerosis: the myths and the facts. *Mediators Inflamm* 2013: 714653.
19. Mahmood SS, Levy D, Vasan RS, Wang TJ (2014): The Framingham Heart Study and the epidemiology of cardiovascular disease: a historical perspective. *Lancet* 383: 999–1008.

20. Wieland E (2006): Arteriosklerose - Hyperlipoproteinämie. In: Schauder P, Ollenschläger G (Hrsg.). Ernährungsmethodik. Prävention und Therapie. Elsevier, München: 968–991.
21. Assmann G, Cullen P, Schulte H (1998): The Münster Heart Study (PROCAM). Results of follow-up at 8 years. *Eur Heart J* 19 (Suppl A): A2-A11.
22. Wieland E, Schettler V, Creutzfeldt C, Kickbusch H, Schuff-Werner P (1995): Lack of plasma lipid peroxidation during LDL-apheresis by heparin-induced extracorporeal LDL-precipitation. *Eur J Clin Invest* 25: 838–842.
23. Linton MF, Yancey PG, Davies SS, Jerome WG, Linton EF, Vickers KC (2015): The role of lipids and lipoproteins in atherosclerosis. In: De Groot LJ, Chrousos G, Dungan K, Feingold KR, Grossman A, Hershman JM, Koch C, Korbonits M, McLachlan R, New M, Purnell J, Rebar R, Singer F, Vinik A (Hrsg.). *Endotext*. MDTText.com, Inc, South Dartmouth (MA). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK343489> [eingesehen am 27.03.2017].
24. Alique M, Luna C, Carracedo J, Ramírez R (2015): LDL biochemical modifications: a link between atherosclerosis and aging. *Food Nutr Res* 59: 29240.
25. Parthasarathy S, Raghavamenon A, Garelnabi MO, Santanam N (2010): Oxidized Low-Density Lipoprotein. *Methods Mol Biol* 610: 403–417.
26. Trpkovic A, Resanovic I, Stanimirovic J, Radak D, Mousa SA, Cenic-Milosevic D, Jevremovic D, Isenovic ER (2015): Oxidized low-density lipoprotein as a biomarker of cardiovascular diseases. *Crit Rev Clin Lab Sci* 52: 70–85.
27. Lopes-Virella MF, Virella G (2010): Clinical significance of the humoral immune response to modified LDL. *Clin Immunol* 134: 55–65.
28. Lopes-Virella MF, Hunt KJ, Baker NL, Virella G, Moritz T, VADT investigators (2012): The levels of MDA-LDL in circulating immune complexes predict myocardial infarction in the VADT study. *Atherosclerosis* 224: 526–531.
29. Ylä-Herttuala S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, Witztum JL, Steinberg D (1989): Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest* 84: 1086–1095.
30. Ylä-Herttuala S, Palinski W, Butler SW, Picard S, Steinberg D, Witztum JL (1994): Rabbit and human atherosclerotic lesions contain IgG that recognizes epitopes of oxidized LDL. *Arterioscler Thromb* 14: 32–40.
31. Wieland E, Parthasarathy S, Steinberg D (1993): Peroxidase-dependent metal-independent oxidation of low density lipoprotein in vitro: a model for in vivo oxidation? *Proc Natl Acad Sci U S A* 90: 5929–5933.
32. Libby P (2006): Inflammation and cardiovascular disease mechanisms. *Am J Clin Nutr* 83: 456S-460S.
33. Ketelhuth DF, Hansson GK (2011): Cellular immunity, low-density lipoprotein and atherosclerosis: break of tolerance in the artery wall. *Thromb Haemost* 106: 779–786.
34. Schwartz CJ, Valente AJ, Sprague EA, Kelley JL, Nerem RM (1991): The pathogenesis of atherosclerosis: an overview. *Clin Cardiol* 14: 11-116.

35. Vaidya D, Szklo M, Cushman M, Holvoet P, Polak J, Bahrami H, Jenny NS, Ouyang P (2011): Association of endothelial and oxidative stress with metabolic syndrome and subclinical atherosclerosis: multi-ethnic study of atherosclerosis. *Eur J Clin Nutr* 65: 818–825.
36. Valle Gottlieb MG, da Cruz IB, Duarte MM, Moresco RN, Wiehe M, Schwanke CH, Bodanese LC (2010): Associations among metabolic syndrome, ischemia, inflammatory, oxidatives, and lipids biomarkers. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 586–591.
37. Holvoet P, Kritchevsky SB, Tracy RP, Mertens A, Rubin SM, Butler J, Goodpaster B, Harris TB (2004): The metabolic syndrome, circulating oxidized LDL, and risk of myocardial infarction in well-functioning elderly people in the health, aging, and body composition cohort. *Diabetes* 53: 1068–1073.
38. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D (1998): Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation* 98: 1487–1494.
39. Hulthe J, Fagerberg B (2002): Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR Study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 22: 1162–1167.
40. Oesterle A, Laufs U, Liao JK (2017): Pleiotropic effects of statins on the cardiovascular system. *Circ Res* 120: 229–243.
41. Gounopoulos P, Merki E, Hansen LF, Choi SH, Tsimikas S (2007): Antibodies to oxidized low density lipoprotein: epidemiological studies and potential clinical applications in cardiovascular disease. *Minerva Cardioangiol* 55: 821–837.
42. Lopes-Virella MF, Virella G (2013): Pathogenic role of modified LDL antibodies and immune complexes in atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 20: 743–754.
43. Gonçalves I, Nitulescu M, Ares MP, Fredrikson GN, Jansson B, Li ZC, Nilsson J (2009): Identification of the target for therapeutic recombinant anti-apoB-100 peptide antibodies in human atherosclerotic lesions. *Atherosclerosis* 205: 96–100.
44. Gómez M, Molina L, Bruguera J, Sala J, Masià R, Muñoz-Aguayo D, Tomás M, Heredia S, Blanchart G, Gaixas S, Vila J, Fitó M (2014): Oxidized low-density lipoprotein antibodies in myocardial infarction patients without classical risk factors. *J Cardiovasc Med (Hagerstown)* 15: 417–422.
45. Shoenfeld Y, Wu R, Dearing LD, Matsuura E (2004): Are anti-oxidized low-density lipoprotein antibodies pathogenic or protective? *Circulation* 110: 2552–2558.
46. Virella G, Lopes-Virella MF (2008): Atherogenesis and the humoral immune response to modified lipoproteins. *Atherosclerosis* 200: 239–246.
47. Ferreira PF, Zago VH, D'Alexandri FL, Panzoldo NB, Gidlund MA, Nakamura RT, Schreiber R, Parra ES, Santiago FD, Nakandakare ER, Quintão EC, de Faria EC (2012): Oxidized low-density lipoproteins and their antibodies: relationships with the reverse cholesterol transport and carotid atherosclerosis in adults without cardiovascular diseases. *Clin Chim Acta* 413: 1472–1478.

48. Binder CJ (2010): Natural IgM antibodies against oxidation-specific epitopes. *J Clin Immunol* 30 Suppl 1: S56-S60.
49. Ravandi A, Boekholdt SM, Mallat Z, Talmud PJ, Kastelein JJ, Wareham NJ, Miller ER, Benessiano J, Tedgui A, Witztum JL, Khaw KT, Tsimikas S (2011): Relationship of IgG and IgM autoantibodies and immune complexes to oxidized LDL with markers of oxidation and inflammation and cardiovascular events: results from the EPIC-Norfolk Study. *J Lipid Res* 52: 1829–1836.
50. Tsimikas S, Willeit P, Willeit J, Santer P, Mayr M, Xu Q, Mayr A, Witztum JL, Kiechl S (2012): Oxidation-specific biomarkers, prospective 15-year cardiovascular and stroke outcomes, and net reclassification of cardiovascular events. *J Am Coll Cardiol* 60: 2218–2229.
51. Tsimikas S, Brilakis ES, Lennon RJ, Miller ER, Witztum JL, McConnell JP, Kornman KS, Berger PB (2007): Relationship of IgG and IgM autoantibodies to oxidized low density lipoprotein with coronary artery disease and cardiovascular events. *J Lipid Res* 48: 425–433.
52. Erkkilä AT, Närvänen O, Lehto S, Uusitupa MI, Ylä-Herttua S (2005): Antibodies against oxidized LDL and cardiolipin and mortality in patients with coronary heart disease. *Atherosclerosis* 183: 157–162.
53. Pepys MB, Hirschfield GM (2003): C-reactive protein: a critical update. *J Clin Invest* 111: 1805–1812.
54. Volanakis JE (2001): Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* 38: 189–197.
55. Stancel N, Chen CC, Ke LY, Chu CS, Lu J, Sawamura T, Chen CH (2016): Interplay between CRP, atherogenic LDL, and LOX-1 and its potential role in the pathogenesis of atherosclerosis. *Clin Chem* 62: 320–327.
56. Pearson TA, Mensah GA, Alexander RW, Anderson JL, Cannon RO 3rd, Criqui M, Fadl YY, Fortmann SP, Hong Y, Myers GL, Rifai N, Smith SC Jr., Taubert K, Tracy RP, Vinicor F (2003): Markers of inflammation and cardiovascular disease. Application to clinical and public health practice: a statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* 107: 499–511.
57. Ridker PM (2016): A test in context. High-sensitivity C-reactive protein. *J Am Coll Cardiol* 67: 712–723.
58. Sun H, Koike T, Ichikawa T, Hatakeyama K, Shiomi M, Zhang B, Kitajima S, Morimoto M, Watanabe T, Asada Y, Chen YE, Fan J (2005): C-reactive protein in atherosclerotic lesions. Its origin and pathophysiological significance. *Am J Pathol* 167: 1139–1148.
59. Ridker PM (2016): From C-reactive protein to interleukin-6 to interleukin-1. Moving upstream to identify novel targets for atheroprotection. *Circ Res* 118: 145–156.
60. Obradovic MM, Trpkovic A, Bajic V, Soskic S, Jovanovic A, Stanimirovic J, Panic M, Isenovic ER (2015): Interrelatedness between C-reactive protein and oxidized low-density lipoprotein. *Clin Chem Lab Med* 53: 29–34.
61. Libby P (2012): Inflammation in atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 32: 2045–2051.

62. Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH (1997): Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* 336: 973–979.
63. Kaptoge S, Di Angelantonio E, Lowe G, Pepys MB, Thompson SG, Collins R, Danesh J (2010): C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 375: 132–140.
64. Ridker PM (2017): How common is residual inflammatory risk? *Circ Res* 120: 617–619.
65. Ruparelia N, Chai JT, Fisher EA, Choudhury RP (2017): Inflammatory processes in cardiovascular disease: a route to targeted therapies. *Nat Rev Cardiol* 14: 133–144.
66. National Cholesterol Education Program NCEP (2002): Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III) final Report. *Circulation* 106: 3143–3421.
67. Grundy SM, Brewer HB Jr., Cleeman JI, Smith SC Jr., Lenfant C (2004): Definition of metabolic syndrome. Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute/American Heart Association conference on scientific issues related to definition. *Circulation* 109: 433–438.
68. Reaven GM (1988): Banting lecture 1988. Role of insulin resistance in human disease. *Diabetes* 37: 1595–1607.
69. Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (2001): Executive summary of the Third Report of the National Cholesterol Education Program (NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 285: 2486–2497.
70. Grundy SM, Cleeman JI, Daniels SR, Donato KA, Eckel RH, Franklin BA, Gordon DJ, Krauss RM, Savage PJ, Smith SC Jr, Spertus JA, Costa F (2005): Diagnosis and management of the metabolic syndrome: an American Heart Association/National Heart, Lung, and Blood Institute scientific statement. *Circulation* 112: 2735–2752.
71. Alberti KG, Zimmet P, Shaw J (2005): The metabolic syndrome - a new worldwide definition. *Lancet* 366: 1059–1062.
72. Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, Zimmet PZ, Cleeman JI, Donato KA, Fruchart JC, James WP, Loria CM, Smith SC Jr. (2009): Harmonizing the metabolic syndrome. A joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 120: 1640–1645.
73. Ford ES (2004): The metabolic syndrome and mortality from cardiovascular disease and all-causes: findings from the National Health and Nutrition Examination Survey II Mortality Study. *Atherosclerosis* 173: 309–314.
74. Ford ES, Giles WH, Dietz WH (2002): Prevalence of the metabolic syndrome among US adults. Findings from the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *JAMA* 287: 356–359.

75. Ninomiya JK, L'Italien G, Criqui MH, Whyte JL, Gamst A, Chen RS (2004): Association of the metabolic syndrome with history of myocardial infarction and stroke in the Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Circulation* 109: 42–46.
76. Moebus S, Hanisch J, Bramlage P, Lösch C, Hauner H, Wasem J, Jöckel KH (2008): Regional differences in the prevalence of the metabolic syndrome in primary care practices in Germany. *Dtsch Arztebl Int* 105: 207–213.
77. Gustafson B (2010): Adipose tissue, inflammation and atherosclerosis. *J Atheroscler Thromb* 17: 332–341.
78. Ott U, Steiner T, Schubert J, Wolf G (2007): Nephrology: renal transplantation. *Med Klin (Munich)* 102: 219–229.
79. Jardine AG, Gaston RS, Fellström BC, Holdaas H (2011): Prevention of cardiovascular disease in adult recipients of kidney transplants. *Lancet* 378: 1419–1427.
80. Kunzendorf U (2015): Nierentransplantation. In: Kuhlmann U, Böhrer J, Luft FC, Alschner MD, Kunzendorf U (Hrsg.). *Nephrologie: Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren*. Thieme, Stuttgart: 781–786.
81. Ojo AO (2006): Cardiovascular complications after renal transplantation and their prevention. *Transplantation* 82: 603–611.
82. Svensson M, Jardine A, Fellström B, Holdaas H (2012): Prevention of cardiovascular disease after renal transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 17: 393–400.
83. Courivaud C, Kazory A, Simula-Faivre D, Chalopin JM, Ducloux D (2007): Metabolic syndrome and atherosclerotic events in renal transplant recipients. *Transplantation* 83: 1577–1581.
84. Sipahioglu MH, Unal A, Yazgac H, Tunca O, Arıkan T, Kocyigit I, Tokgoz B, Oymak O (2015): Relationships between metabolic syndrome, microalbuminuria, and C-reactive protein in Turkish kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 47: 1408–1412.
85. de Vries AP, Bakker SJ, van Son WJ, van der Heide JJ, Ploeg RJ, The HT, de Jong PE, Gans RO (2004): Metabolic syndrome is associated with impaired long-term renal allograft function; not all component criteria contribute equally. *Am J Transplant* 4: 1675–1683.
86. Abedini S, Holme I, März W, Weihrauch G, Fellström B, Jardine A, Cole E, Maes B, Neumayer HH, Grönhagen-Riska C, Ambühl P, Holdaas H, ALERT study group (2009): Inflammation in renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 4: 1246–1254.
87. Munagala MR, Phancao A (2016): Managing cardiovascular risk in the post solid organ transplant recipient. *Med Clin North Am* 100: 519–533.
88. World Health Organization (2011): Use of glycated haemoglobin (HbA1c) in the diagnosis of diabetes mellitus. Abbreviated report of a WHO consultation. WHO/NMH/CHP/CPM/11.1. World Health Organization, Geneva: 6–9.
89. Weidemann A, Büttner M, Amann K, Wiesener M (2015): BANFF-Klassifikation der Histologie von Nierentransplantaten und therapeutische Konsequenzen. *Der Nephrologe* 10: 113–123.

90. Leinweber C (2012): Chemotaxis von hämatopoietischen Stammzellen und Leukozyten in Mikrostrukturen. Dissertationsschrift. Mathematisch Naturwissenschaftliche Gesamtfakultät. Universität Heidelberg: 46.
91. Field A (2013): *Discovering statistics using IBM SPSS statistics*. SAGE Publications, Los Angeles, CA: 68 (Alpha-Fehler-Kumulierung, familywise error rate), 134 (Boxplot), 458-460 (Post-hoc-Test Gabriel).
92. Lakens D (2013): Calculating and reporting effect sizes to facilitate cumulative science: a practical primer for t-tests and ANOVAs. *Front Psychol* 4: 863.
93. Cohen J (1988): *Statistical power analysis for the behavioral sciences*. Lawrence Erlbaum Associates, Hillsdale, NJ: 25–27.
94. World Health Organization (2000): Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Health Organ Tech Rep Ser* 894: 8-9.
95. Manninen V, Tenkanen L, Koskinen P, Huttunen JK, Mänttari M, Heinonen OP, Frick MH (1992): Joint effects of serum triglyceride and LDL cholesterol and HDL cholesterol concentrations on coronary heart disease risk in the Helsinki Heart Study. Implications for treatment. *Circulation* 85: 37–45.
96. Millán J, Pintó X, Muñoz A, Zúñiga M, Rubiés-Prat J, Pallardo LF, Masana L, Mangas A, Hernández-Mijares A, González-Santos P, Ascaso JF, Pedro-Botet J (2009): Lipoprotein ratios: physiological significance and clinical usefulness in cardiovascular prevention. *Vasc Health Risk Manag* 5: 757–765.
97. Holvoet P, De Keyzer D, Jacobs DR Jr. (2008): Oxidized LDL and the metabolic syndrome. *Future Lipidol* 3: 637–649.
98. Holvoet P, Macy E, Landeloos M, Jones D, Jenny NS, Van de Werf F, Tracy RP (2006): Analytical performance and diagnostic accuracy of immunometric assays for the measurement of circulating oxidized LDL. *Clin Chem* 52: 760–764.
99. Bergmark C, Dewan A, Orsoni A, Merki E, Miller ER, Shin MJ, Binder CJ, Hörkkö S, Krauss RM, Chapman MJ, Witztum JL, Tsimikas S (2008): A novel function of lipoprotein [a] as a preferential carrier of oxidized phospholipids in human plasma. *J Lipid Res* 49: 2230–2239.
100. Tavridou A, Efthimiadis A, Efthimiadis I, Paschalidou H (2006): Antioxidant effects of simvastatin in primary and secondary prevention of coronary heart disease. *Eur J Clin Pharmacol* 62: 485–489.
101. Ndrepepa G, Braun S, von Beckerath N, Mehilli J, Gorchakova O, Vogt W, Schömig A, Kastrati A (2005): Oxidized low density lipoproteins, statin therapy and severity of coronary artery disease. *Clin Chim Acta* 360: 178–186.
102. Holvoet P, Lee DH, Steffes M, Gross M, Jacobs DR Jr. (2008): Association between circulating oxidized low-density lipoprotein and incidence of the metabolic syndrome. *JAMA* 299: 2287–2293.
103. Van Guilder GP, Hoetzer GL, Greiner JJ, Stauffer BL, DeSouza CA (2006): Influence of metabolic syndrome on biomarkers of oxidative stress and inflammation in obese adults. *Obesity (Silver Spring)* 14: 2127–2131.
104. Girona J, Manzanares JM, Marimón F, Cabré A, Heras M, Guardiola M, Ribalta J, Masana L (2008): Oxidized to non-oxidized lipoprotein ratios are

- associated with arteriosclerosis and the metabolic syndrome in diabetic patients. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* 18: 380–387.
105. Braun S, Ndrepepa G, von Beckerath N, Mehilli J, Gorchakova O, Vogt W, Schömig A, Kastrati A (2005): Lack of association between circulating levels of plasma oxidized low-density lipoproteins and clinical outcome after coronary stenting. *Am Heart J* 150: 550–556.
  106. Lopes-Virella MF, Baker NL, Hunt KJ, Lachin J, Nathan D, Virella G, DCCT/EDIC Research Group (2011): Oxidized LDL immune complexes and coronary artery calcification in type 1 diabetes. *Atherosclerosis* 214: 462–467.
  107. Holdaas H, Fellström B, Jardine AG, Holme I, Nyberg G, Fauchald P, Grönhagen-Riska C, Madsen S, Neumayer HH, Cole E, Maes B, Ambühl P, Olsson AG, Hartmann A, Solbu DO, Pedersen TR, Assessment of LEscol in Renal Transplantation (ALERT) Study Investigators (2003): Effect of fluvastatin on cardiac outcomes in renal transplant recipients: a multicentre, randomised, placebo-controlled trial. *Lancet* 361: 2024–2031.
  108. Cofan F, Zambon D, Laguna JC, Casals E, Ros E, Cofan M, Campistol JM, Oppenheimer F (2002): Pravastatin improves low-density lipoprotein oxidation in renal transplantation. *Transplant Proc* 34: 389–391.
  109. Cofan F, Zambon D, Laguna J, Ros E, Casals E, Cofan M, Campistol JM, Oppenheimer F (2002): Oxidation of low-density lipoproteins in renal transplant recipients treated with tacrolimus. *Transplant Proc* 34: 377–378.
  110. Bosmans JL, Holvoet P, Dauwe SE, Ysebaert DK, Chapelle T, Jürgens A, Kovacic V, Van Marck EA, De Broe ME, Verpooten GA (2001): Oxidative modification of low-density lipoproteins and the outcome of renal allografts at 1 ½ years. *Kidney Int* 59: 2346–2356.
  111. Badiou S, Garrigue V, Dupuy AM, Chong G, Cristol JP, Mourad G (2006): Small dense low-density lipoprotein in renal transplant recipients: a potential target for prevention of cardiovascular complications? *Transplant Proc* 38: 2314–2316.
  112. Vostálová J, Galandáková A, Svobodová AR, Kajabová M, Schneiderka P, Zapletalová J, Strelb P, Zadražil J (2012): Stabilization of oxidative stress 1 year after kidney transplantation: effect of calcineurin immunosuppressives. *Ren Fail* 34: 952–959.
  113. Zadražil J, Horak P, Strelb P, Krejci K, Kajabová M, Schneiderka P, Zapletalová J, Galandáková A, Vostálová J, Vaverková H (2012): In vivo oxidized low-density lipoprotein (ox-LDL) aopp and tas after kidney transplantation: a prospective, randomized one year study comparing cyclosporine A and tacrolimus based regiments. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 156: 14–20.
  114. Morena M, Vela C, Garrigue V, Catanzano J, Descomps B, Cristol JP, Mourad G (2000): Low-density lipoprotein composition and oxidation are not influenced by calcineurin inhibitors in renal transplant patients. *Transplant Proc* 32: 2785–2786.
  115. Cofan F, Cofan M, Campos B, Guerra R, Campistol JM, Oppenheimer F (2005): Effect of calcineurin inhibitors on low-density lipoprotein oxidation. *Transplant Proc* 37: 3791–3793.



116. Holvoet P, Van Cleemput J, Collen D, Vanhaecke J (2000): Oxidized low density lipoprotein is a prognostic marker of transplant-associated coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 20: 698–702.
117. Tanabe S, Ueda M, Han YS, Nakatani T, Kishimoto T, Itabe H, Takano T (1998): Presence of oxidized LDL in transplant arteriosclerotic lesions obtained from renal transplant recipients with hypercholesterolemia. *Transplant Proc* 30: 116–118.
118. Virella G, Derrick MB, Pate V, Chassereau C, Thorpe SR, Lopes-Virella MF (2005): Development of capture assays for different modifications of human low-density lipoprotein. *Clin Diagn Lab Immunol* 12: 68–75.
119. Tinahones FJ, Garrido-Sánchez L, Cardona F (2007): Autoantibodies to oxidized LDL and age. *Atherosclerosis* 190: 24–25.
120. Parthasarathy S, Santanam N, Ramachandran S, Meilhac O (1999): Oxidants and antioxidants in atherogenesis: an appraisal. *J Lipid Res* 40: 2143–2157.
121. Sämpi M, Veneskoski M, Ukkola O, Kesäniemi YA, Hörkkö S (2010): High plasma immunoglobulin (Ig) A and low IgG antibody titers to oxidized low-density lipoprotein are associated with markers of glucose metabolism. *J Clin Endocrinol Metab* 95: 2467–2475.
122. Che J, Li G, Wang W, Li Q, Liu H, Chen K, Liu T (2011): Serum autoantibodies against human oxidized low-density lipoproteins are inversely associated with severity of coronary stenotic lesions calculated by Gensini score. *Cardiol J* 18: 364–370.
123. Hulthe J, Wiklund O, Hurt-Camejo E, Bondjers G (2001): Antibodies to oxidized LDL in relation to carotid atherosclerosis, cell adhesion molecules, and phospholipase A<sub>2</sub>. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 21: 269–274.
124. Rossi GP, Cesari M, De Toni R, Zanchetta M, Maiolino G, Pedon L, Ganzaroli C, Maiolino P, Pessina AC (2003): Antibodies to oxidized low-density lipoproteins and angiographically assessed coronary artery disease in white patients. *Circulation* 108: 2467–2472.
125. McDowell A, Young IS, Wisdom GB (2002): Autoantibodies to malondialdehyde-modified low-density lipoprotein in patients with angiographically confirmed coronary artery disease. *J Pharm Pharmacol* 54: 1651–1657.
126. Tinahones FJ, Gómez-Zumaquero JM, Garrido-Sánchez L, García-Fuentes E, Rojo-Martínez G, Esteva I, Ruiz de Adana MS, Cardona F, Soriguer F (2005): Influence of age and sex on levels of anti-oxidized LDL antibodies and anti-LDL immune complexes in the general population. *J Lipid Res* 46: 452–457.
127. Shoji T, Nishizawa Y, Fukumoto M, Shimamura K, Kimura J, Kanda H, Emoto M, Kawagishi T, Morii H (2000): Inverse relationship between circulating oxidized low density lipoprotein (oxLDL) and anti-oxLDL antibody levels in healthy subjects. *Atherosclerosis* 148: 171–177.
128. Karabinos I, Koulouris S (2007): Increased serum titers of autoantibodies against oxidized LDL cholesterol in young healthy adults. *Atherosclerosis* 192: 448–450.

129. Wilson PW, Ben-Yehuda O, McNamara J, Massaro J, Witztum J, Reaven PD (2006): Autoantibodies to oxidized LDL and cardiovascular risk: the Framingham Offspring Study. *Atherosclerosis* 189: 364–368.
130. Resch U, Tatzber F, Budinsky A, Sinzinger H (2006): Reduction of oxidative stress and modulation of autoantibodies against modified low-density lipoprotein after rosuvastatin therapy. *Br J Clin Pharmacol* 61: 262–274.
131. Örem C, Örem A, Uydu HA, Celik S, Erdöl C, Kural BV (2002): The effects of lipid-lowering therapy on low-density lipoprotein auto-antibodies: relationship with low-density lipoprotein oxidation and plasma total antioxidant status. *Coron Artery Dis* 13: 65–71.
132. Zezina L, Dimény E, Vessby B, Fellström B (2002): Serum levels of antibodies against oxidised LDL in kidney graft recipients. *Am J Nephrol* 22: 539–547.
133. Moreno JM, Ruiz MC, Ruiz N, Gomez I, Vargas F, Asensio C, Osuna A (2005): Modulation factors of oxidative status in stable renal transplantation. *Transplant Proc* 37: 1428–1430.
134. Heidt S, Roelen DL, Eijsink C, Eikmans M, van Kooten C, Claas FH, Mulder A (2010): Calcineurin inhibitors affect B cell antibody responses indirectly by interfering with T cell help. *Clin Exp Immunol* 159: 199–207.
135. Deutsche Gesellschaft für Kardiologie (2017): ESC Pocket Guidelines. Prävention von Herz-Kreislauf-Erkrankungen, Version 2016. Börm Bruckmeier Verlag, Grünwald.
136. Der Arzneimittelbrief: Neue US-amerikanische Leitlinien zur Prävention kardiovaskulärer Krankheiten: Indikation für Statine stark ausgeweitet. <http://www.der-arzneimittelbrief.de/de/Artikel.aspx?J=2014&S=01> [eingesehen am 25.04.2017].
137. Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr., Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ, JUPITER Study Group (2008): Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* 359: 2195–2207.
138. Lee MC, Ho GJ, Chen JL, Hsu BG (2010): C-reactive protein positively correlates with metabolic syndrome in kidney transplantation patients. *Tzu Chi Med J* 22: 131–136.
139. Wong BM, Huang M, Zaltzman JS, Prasad GV (2007): Mycophenolate mofetil and C-reactive protein in renal transplant recipients. *Transplantation* 83: 48–53.
140. van Ree RM, de Vries AP, Oterdoom LH, The TH, Gansevoort RT, Homan van der Heide JJ, van Son WJ, Ploeg RJ, de Jong PE, Gans RO, Bakker SJ (2005): Abdominal obesity and smoking are important determinants of C-reactive protein in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 20: 2524–2531.
141. Bayés B, Granada ML, Lauzurica R, Pastor MC, Navarro M, Bonet J, Llopis MA, Romero R (2005): Effect of low doses of atorvastatin on adiponectin, glucose homeostasis, and clinical inflammatory markers in kidney transplant recipients. *Transplant Proc* 37: 3808–3812.

142. Houssen ME, Haron MM, Metwally SS, Ibrahim TM (2011): Effects of immunomodulatory drugs on plasma inflammatory markers in a rabbit model of atherosclerosis. *J Physiol Biochem* 67: 115–120.
143. Krüger B, Walberer A, Debler J, Böger CA, Farkas S, Reinhold SW, Obed A, Schlitt HJ, Fischereeder M, Banas B, Krämer BK (2010): Is inflammation prior to renal transplantation predictive for cardiovascular and renal outcomes? *Atherosclerosis* 210: 637–642.
144. Cañas L, Iglesias E, Pastor MC, Barallat J, Juega J, Bancu I, Lauzurica R (2017): Inflammation and oxidation: do they improve after kidney transplantation? Relationship with mortality after transplantation. *Int Urol Nephrol* 49: 533–540.
145. Gursu M, Celik K, Ozturk S, Turkmen A, Gorcin S, Kocak B, Sari S, Koldas M, Feyizoglu H, Kazancioglu R (2014): Pentraxin 3 and C-reactive protein as inflammatory markers after a kidney transplant. *Exp Clin Transplant* 12: 295–299.
146. Cueto-Manzano AM, Morales-Buenrostro LE, González-Espinoza L, González-Tableros N, Martín-del-Campo F, Correa-Rotter R, Valera I, Alberú J (2005): Markers of inflammation before and after renal transplantation. *Transplantation* 80: 47–51.

## **VII Posterpräsentationen**

Effect of immunosuppression with tacrolimus (Tac), mycophenolate sodium (MPS), and steroids on inflammation and oxidative stress in kidney transplant recipients (KTR) with metabolic syndrome (MS). Wieland E, Häfner S, Kabakchiev M, Shipkova M, Effenberger-Klein A, Olbricht CJ, Lobmann R. 13<sup>th</sup> International Congress of Therapeutic Drug Monitoring & Clinical Toxicology, 22.- 26. September 2013, Salt Lake City, Utah, USA.

Indicators of inflammation and oxidized low density lipoproteins in kidney transplant recipients with and without metabolic syndrome. Kabakchiev M, Häfner S, Olbricht CJ, Lobmann R, Wieland E. 24<sup>th</sup> International Congress of The Transplantation Society, 15.-20. Juli 2012, Berlin.

## VIII Anhang

<b>ANHANG A</b>	<b>PATIENTENINFORMATION .....</b>	<b>CVI</b>
<b>ANHANG B</b>	<b>EINWILLIGUNGSERKLÄRUNG .....</b>	<b>CVIII</b>
<b>ANHANG C</b>	<b>CASE REPORT FORM.....</b>	<b>CIX</b>

## Anhang A Patienteninformation

Gruppenspezifischer individueller Nummerncode des Teilnehmers



### Patienteninformation zur Studie

#### **„Indikatoren der Inflammation und des oxidativen Stress bei nierentransplantierten Patienten unter immunsuppressiver Therapie und bei Patienten mit Metabolischem Syndrom“**

Wissenschaftlicher Studienleiter: Prof. Dr. med. Eberhard Wieland  
Klinikum Stuttgart – Katharinenhospital, Zentralinstitut  
für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin  
Kriegsbergstraße 60, 70174 Stuttgart  
Tel.: 0711 / 278-34801, Fax: 0711 / 278-34809  
E-Mail: e.wieland@klinikum-stuttgart.de

Stuttgart, den

Sehr geehrte Patientin,  
Sehr geehrter Patient,

hiermit möchten wir Sie fragen, ob Sie an o.g. Studie teilnehmen wollen. Bevor Sie darüber entscheiden, ist es wichtig, dass Sie verstehen, wie die Studie abläuft und wozu sie durchgeführt wird. Bitte nehmen Sie sich die Zeit, die folgenden Informationen aufmerksam zu lesen.

#### **I. Allgemeine Studieninformationen**

Das Zentralinstitut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, die Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten sowie die Klinik für Endokrinologie, Diabetologie und Geriatrie am Klinikum Stuttgart führen diese Studie durch. Ziel der Studie ist es, das Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen von nierentransplantierten Patienten und Patienten mit Metabolischem Syndrom besser einschätzen zu können. Hierfür sollen spezielle Blutwerte, die im Zusammenhang mit der Atherosklerose („Arterienverkalkung“) stehen, bei nierentransplantierten Patienten unter Tacrolimus- oder Ciclosporintherapie mit und ohne Metabolischem Syndrom, bei Patienten mit Metabolischem Syndrom ohne Nierentransplantation und bei gesunden Studienteilnehmern bestimmt und verglichen werden. Insgesamt sollen ca. 200 Teilnehmer in die Studie eingeschlossen werden.

#### **II. Studienablauf**

Gemessen werden Blutdruck, Körpergewicht, Körpergröße und Bauchumfang. Darüber hinaus werden im Rahmen einer Routineblutuntersuchung zusätzlich einmalig 40 ml Blut entnommen. Ein erneuter Einstich mit der Kanüle („Nadel“) ist nicht erforderlich. Durch die zusätzlich entnommene Blutmenge entstehen keine gesundheitlichen Risiken.

STUTTGART

Katharinenhospital  
KH

Olgahospital

Bürgerhospital

Krankenhaus Bad Cannstatt



Deutsches Netz  
Gesundheitsfördernder  
Krankenhäuser gem. e. V.  
Ein Netz der WHO

30/001/40

Gruppenspezifischer individueller Nummerncode des Teilnehmers



Sie müssen nüchtern sein, d. h. 12 Stunden vorher nicht mehr essen und trinken (außer Wasser) und nicht rauchen. Die studienbedingten Untersuchungen dauern insgesamt maximal 20 Minuten.

Ergebnisse von Blutanalysen können häufig nur dann richtig gedeutet werden, wenn sie mit anderen medizinischen Daten in Verbindung gebracht werden. Deshalb werden zusätzlich bestimmte medizinische Informationen (z. B. zu verabreichten Medikamenten, Diagnosen und Behandlungen) aus Ihrer Krankenakte entnommen.

### III. Datenschutzrechtliche Informationen

Die im Rahmen der Studie erfassten personenbezogenen Daten werden in pseudonymisierter Form elektronisch erfasst, ausgewertet und gespeichert. Pseudonymisierung bedeutet Verschlüsselung von Daten mit Nummerncodes ohne Namensnennung. Die Zuordnung der Daten oder Proben zu einer Person ist nur anhand der Teilnehmerliste möglich, die unter Verschluss gehalten und getrennt von den Studienunterlagen aufbewahrt wird. Nur Mitarbeiter der Studie, die zur Verschwiegenheit verpflichtet sind, haben Zugriff auf die Daten. Aus den Studienergebnissen kann bei einer eventuellen Veröffentlichung kein Bezug zu Ihrer Person hergestellt werden. Sie können jederzeit Auskunft über Ihre gespeicherten Daten verlangen, die 10 Jahre aufbewahrt werden.

### IV. Freiwilligkeit der Teilnahme

Sie sind nicht verpflichtet, an der Studie teilzunehmen. Ihre Zustimmung oder Ablehnung hat **keine** Auswirkungen auf die weitere Behandlung und Betreuung in unserer Klinik. Sie können jederzeit (auch nach Abschluss der Studie) und ohne Angabe von Gründen die Teilnahme an dieser Studie widerrufen, ohne dass Ihnen dadurch Nachteile entstehen. Beim Widerruf können Sie entscheiden, ob Sie die Verarbeitung Ihrer Studiendaten bzw. die Weiterverwendung Ihrer Blutproben gestatten wollen oder ob die Daten gelöscht bzw. die Proben vernichtet werden sollen.

STÜTTGART

Katharinenhospital  
KH

Olgahospital

Bürgerhospital

Krankenhaus Bad Cannstatt



Deutsches Netz  
Gesundheitsfördernder  
Krankenhäuser gem. e. V.  
Ein Netz der WHO

30007140





**Anhang C Case Report Form**

Seite 1 von 8

Gruppenspezifischer individueller Nummerncode des Teilnehmers



**Case Report Form der Studie „Indikatoren der Inflammation und des oxidativen Stress bei nierentransplantierten Patienten unter immunsuppressiver Therapie und bei Patienten mit Metabolischem Syndrom“**

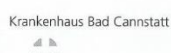
Einschlusskriterien		Ja	Nein
1.	Frauen und Männer zwischen 18 und 90 Jahre	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.	Schriftliches Einverständnis	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.	Metabolisches Syndrom gemäß den nachfolgend genannten Kriterien <sup>1</sup>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4.	≥ 6 Monate nach Nierentransplantation mit Calcineurin-Inhibitor-Therapie (Tacrolimus oder Ciclosporin) <sup>2</sup>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Für das Vorliegen des Metabolischen Syndroms müssen mind. drei der folgenden Kriterien erfüllt sein		Ja	Nein
1.	Viszerale Adipositas (Bauchumfang ≥ 88 cm bei Frauen und ≥ 102 cm bei Männern)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.	Nüchtern glukose im Plasma ≥ 100 mg/dl oder HbA1c ≥ 6,5% oder bereits eingeleitete antidiabetische Therapie	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.	Arterielle Hypertonie (RR <sub>sys</sub> ≥ 130 mmHg oder RR <sub>dias</sub> ≥ 85 mmHg oder bereits eingeleitete antihypertensive Therapie)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4.	Hypertriglyceridämie (Triglyceride ≥ 150 mg/dl oder bereits eingeleitete Therapie zur Senkung der Triglyceride)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.	Erniedrigtes HDL-Cholesterin (HDL < 50 mg/dl bei Frauen oder < 40 mg/dl bei Männern oder bereits eingeleitete Therapie zur Erhöhung des HDL)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Können nicht alle Einschlusskriterien mit „ja“ beantwortet werden, kann kein Einschluss in die Studie erfolgen.

<sup>1</sup> Gilt nur für die Patientengruppe mit MetS und die Transplantatgruppe mit MetS.

<sup>2</sup> Gilt nur für die beiden Gruppen der Nierentransplantierten.



Deutsches Netz Gesundheitsfördernder Krankenhäuser gem. e. V.  
Ein Netz der WHO

30001740

Gruppenspezifischer individueller Nummerncode des Teilnehmers

Ausschlusskriterien		Ja	Nein
1.	Schwangerschaft	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
2.	Onkologische Erkrankungen, sofern keine operative Sanierung stattgefunden hat, aktuell ein Rezidiv vorhanden ist oder zum Zeitpunkt der Untersuchung eine Strahlen- oder Chemotherapie besteht	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
3.	Entzündliche Erkrankungen, wie diabetisches Fußsyndrom, Pneumonie oder symptomatischer Harnwegsinfekt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
4.	Schlaganfall < 1 Monat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
5.	Operation in Vollnarkose < 1 Monat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
6.	Klinisch manifeste Depression mit Einnahme von Antidepressiva	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
7.	Anämie (Hb < 8 g/dl)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
8.	Autoimmunerkrankungen mit Dauermedikation oder akutem Schub (wie Hashimoto-Thyreoiditis, Morbus Basedow, rheumatoide Arthritis, Multiple Sklerose, Autoimmunhepatitis, Myasthenia gravis, Sarkoidose, Lupus erythematodes, Sklerodermie)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
9.	Neurodegenerative Erkrankungen (wie Morbus Alzheimer, Morbus Parkinson, Amyotrophe Lateralsklerose, Chorea Huntington, Frontotemporale Demenz, Lewy-Körperchen-Demenz)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
10.	Erkrankungen der Atemwege (wie Asthma oder COPD), sofern eine Dauertherapie mit mehr als einem inhalativen Bronchodilatator/Tag besteht	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
11.	Entzündungen des Gastrointestinaltraktes (wie Colitis ulcerosa oder Morbus Crohn) mit Dauermedikation oder akutem Schub	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
12.	Schilddrüsenerkrankungen mit akuter Stoffwechsellentgleisung (manifeste Hyper- oder Hypothyreose)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
13.	Diabetes mellitus Typ 1	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
14.	Neuropathie nicht-diabetischer Genese (wie alkoholische oder urämische Neuropathie, Vitamin-B12-Mangel)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
15.	Blutzucker > 400 mg/dl	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
16.	Transaminasen-Anstieg > 5-fach des oberen Normwertes	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
17.	Immunsuppressive Therapie (z. B. Cortison, Interferon, Methotrexat) <sup>3</sup>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
18.	Metabolisches Syndrom gemäß den vorne genannten Kriterien <sup>4</sup>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
19.	Diabetes mellitus Typ 2 <sup>4</sup>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
20.	Makroangiopathien (KHK, pAVK, cAVK) <sup>4</sup>	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

<sup>3</sup> Gilt nur für die gesunde Kontrollgruppe und die Patientengruppe mit MetS.

<sup>4</sup> Gilt nur für die Probanden.

Diagnosen				
Organsysteme	Nein	Ja	Erkrankungen/OPs	ED (MM/JJ)
Augen	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Herz-Kreislauf-System	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Niere	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Gastrointestinaltrakt	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Bewegungsapparat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Nervensystem/ Psyche	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Stoffwechsel	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Haut	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Unverträglichkeiten/ Allergien	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		
Sonstiges	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>		



Seite 5 von 8

Gruppenspezifischer individueller Nummerncode des Teilnehmers



**Geburtsdatum:**    /        
 Tag Monat Jahr

**Geschlecht:**   **Größe:**    cm **Gewicht:**    kg  
 w m

**BMI:**    kg/m<sup>2</sup> **Bauchumfang:**     cm

**Ethnische Zugehörigkeit:** weiß/kaukasisch  schwarz   
 asiatisch  andere

**Blutdruck:**    /    mmHg  
**antihypertensive Therapie** ja  nein

**Triglyceride:**    mg/dl vom   /   /    (TT/MM/JJJJ)  
**Therapie zur Senkung der Triglyceride** ja  nein

**HDL-Chol.**    mg/dl vom   /   /    (TT/MM/JJJJ)  
**Therapie zur Erhöhung des HDL** ja  nein

**Nüchtern-BZ**    mg/dl vom   /   /    (TT/MM/JJJJ)  
**HbA1c**    % vom   /   /    (TT/MM/JJJJ)  
**antidiabetische Therapie** ja  nein

Wenn ein Diabetes mellitus vorliegt:

**ED:** Monat \_\_\_\_\_ (MM) Jahr \_\_\_\_\_ (JJJJ)

STUÏGART

Katharinenhospital

Olgahospital

Bürgerhospital

Krankenhaus Bad Cannstatt



Deutsches Netz  
 Gesundheitsfördernder  
 Krankenhäuser gem. e. V.  
 Ein Netz der WHO

30001740



Aktuelle kardiovaskuläre und antidiabetische Medikation	Ja	Nein
Statin	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Fibrat	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Orales Antidiabetikum (Mono- oder Kombinationstherapie), GLP-1-Analogum	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Insulin (BOT, SIT, CT, ICT)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
Antihypertensivum (Mono- oder Kombinationstherapie)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Folgeerkrankungen	Ja	Nein
diabetische Nephropathie (dNP)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
diabetische Retinopathie (dRP)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
diabetische Polyneuropathie (dPNP)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
koronare Herzkrankheit (KHK) mit und ohne Z. n. ACS	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>
cerebrale arterielle Verschlusskrankheit (cAVK) oder stattgehabter Apoplex (inklusive TIA/ PRIND)	<input type="checkbox"/>	<input type="checkbox"/>

Die folgende Seite gilt nur für die beiden Transplantatgruppen

Nierentransplantation	
Art der Nierenspende	Lebendspende (verwandt) <input type="checkbox"/> Lebendspende (nicht verwandt) <input type="checkbox"/> postmortale Nierenspende <input type="checkbox"/>
Nierentransplantation (Jahr)	
Nierentransplantation (Monat)	
Transplantationshäufigkeit	Ersttransplantation <input type="checkbox"/> Mehrfachtransplantation ( $\geq 2$ ) <input type="checkbox"/>
Primärerkrankung	1. Glomerulonephritis (IgA-GN, FSGS, MGN, MPGN, MCGN, MESGN, RPGN, PSGN, allg. chron. GN ohne weitere Differenzierung) <input type="checkbox"/> 2. interstitielle Nephritis (Reflux-NP, Analgetika-NP) <input type="checkbox"/> 3. Zystennieren (ADPKD) <input type="checkbox"/> 4. diabetische Nephropathie (DMT2) <input type="checkbox"/> 5. hypertensive Nephrosklerose <input type="checkbox"/> 6. Vaskulitiden (M. Wegener, Purpura Schoenlein-Henoch) <input type="checkbox"/> 7. Kollagenosen (SLE) <input type="checkbox"/> 8. Sonstige (HUS, Alport-Syndrom, Schrumpfnieren, Urolithiasis) <input type="checkbox"/> 9. unklare Genese <input type="checkbox"/>
Dialyse vor Nierentransplantation	präemptiv <input type="checkbox"/> Hämodialyse <input type="checkbox"/> Peritonealdialyse <input type="checkbox"/>
Dialysebeginn (Jahr)	
Dialysebeginn (Monat)	
Abstoßung(en) in der Vorgeschichte (akut und chronisch)	keine <input type="checkbox"/> mind. eine <input type="checkbox"/>
New-onset diabetes after transplantation (NODAT)	nein <input type="checkbox"/> ja <input type="checkbox"/> wenn ja, ED: (MM/JJ)
Tacrolimus, z.B. Prograf® (mg/die)	
Ciclosporin, z.B. Sandimmun Optoral® (mg/die)	
Talspiegel im Blut ( $\mu\text{g/l}$ )	
Mycophenolat-Mofetil, MMF, z.B. CellCept® (mg/die)	
Mycophenolat-Natrium, MPS, z.B. Myfortic® (mg/die)	
Prednisolon, z.B. Decortin® H (mg/die)	

Studienlabor		
Parameter	Material	Methode
Gesamtcholesterin	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
HDL-Cholesterin	Heparin-Plasma	Fotometrie, direkt enzymatisch
LDL-Cholesterin	Heparin-Plasma	Fotometrie, direkt enzymatisch
VLDL	Heparin-Plasma	berechnet
Triglyceride	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
Lp(a)	Serum	Nephelometrie
oxLDL	Serum	ELISA
anti-oxLDL-IgG	Serum	ELISA
HbA1c	EDTA-Vollblut	Turbidimetrie
Glukose	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
C-Peptid	Heparin-Plasma	Chemilumineszenz-Immunoassay
kleines Blutbild	EDTA-Vollblut	Durchflusszytometrie
hsCRP	Serum	Nephelometrie
IL-6	Serum	Chemilumineszenz-Immunoassay
Kreatinin	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
AST (GOT)	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
ALT (GPT)	Heparin-Plasma	Fotometrie, enzymatisch
TSH	Heparin-Plasma	Chemilumineszenz-Immunoassay
gProtein/gKreatinin <sup>5</sup>	Urin	berechnet
Tacrolimus <sup>6</sup>	EDTA-Vollblut	LC-MS/MS (Talspiegel)
Ciclosporin <sup>6</sup>	EDTA-Vollblut	LC-MS/MS (Talspiegel)

Eingefroren werden nach Zentrifugation:

**Serum-Aliquots für:** IL-6, oxLDL, anti-oxLDL-IgG, Lp(a).

<sup>5</sup> Nur Patienten, nicht Gesunde.

<sup>6</sup> Nur bei den Transplantatgruppen.



## **IX Erklärung zum Eigenanteil**

Diese Arbeit wurde im Klinikum Stuttgart unter Betreuung von Herrn Prof. Dr. Eberhard Wieland, Leiter des Zentralinstituts für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, durchgeführt.

Die Konzeption der Studie erfolgte durch Herrn Prof. Dr. Eberhard Wieland.

Die Rekrutierung von 60 Patienten mit Metabolischem Syndrom habe ich selbst vorgenommen. Von den nierentransplantierten Patienten wurden 92 von Ärzten der Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten und 22 von mir rekrutiert. Von den gesunden Probanden wurden 35 von Mariana Kabakchiev, zum damaligen Zeitpunkt Diplomandin am Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, und 24 von mir rekrutiert. Aufklärung und Blutentnahme erfolgten bei 92 nierentransplantierten Patienten durch Ärzte der nephrologischen Ambulanz. 141 Patienten und gesunde Probanden habe ich selbst aufgeklärt und bei ihnen selbst Blut abgenommen. Den Einschluss von 208 Studienteilnehmern habe ich selbstständig auf Grundlage der Patientenakte und des aktuellen Labors vorgenommen. Sämtliche klinische Daten zur kardiovaskulären (156 Patienten) und zur transplantationsspezifischen (106 Patienten) Vorgeschichte habe ich eigenständig aus den Krankenakten erfasst. Die Bestimmung von oxLDL erfolgte mittels ELISA durch Mariana Kabakchiev in Blutproben von 87 Nierentransplantierten und von 52 gesunden Probanden im Rahmen einer Diplomarbeit sowie durch mich in Blutproben von 50 Patienten mit Metabolischem Syndrom und von 19 Nierentransplantierten. Anti-oxLDL-IgG wurde mit einem ELISA-Vollautomat von Frau Iris Gradauer, MTA im Zentralinstitut für Klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin, bestimmt.

Die statistische Auswertung erfolgte nach Beratung durch Frau Aline Naumann, Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen, und nach Rücksprache mit Herrn Prof. Dr. Eberhard Wieland, eigenständig durch mich.

Ich versichere, dass ich das vorliegende Manuskript selbstständig verfasst habe und keine weiteren als die von mir angegebenen Quellen verwendet habe.

Stuttgart, den 06.07.2017

## **X Danksagung**

Mein Dank gilt allen Personen, die mir die Anfertigung dieser Doktorarbeit ermöglicht und mich dabei unterstützt haben:

Herrn Prof. Dr. Eberhard Wieland für die Überlassung des Themas und die fachliche Betreuung.

Allen Patienten und Probanden, die sich bereit erklärt haben, an dieser Studie teilzunehmen.

Frau Anja Effenberger-Klein, Frau Mariana Kabakchiev, Frau Iris Gradauer und Frau Kersten Müller vom Zentralinstitut für klinische Chemie und Laboratoriumsmedizin am Klinikum Stuttgart für die Hilfe bei der Durchführung der laborchemischen Analysen.

Dem gesamten Team der ehemaligen diabetologischen Tagesklinik am Klinikum Stuttgart, insbesondere Frau Erna Seiler und Frau Stefanie Giere, für die Unterstützung bei der Patientenrekrutierung.

Dem gesamten Team der nephrologischen Ambulanz am Klinikum Stuttgart für die Mitwirkung bei der Patientenrekrutierung und den Blutabnahmen.

Frau Aline Naumann vom Institut für Klinische Epidemiologie und angewandte Biometrie der Universität Tübingen für die statistische Beratung.

Herrn Daniel Leyhr vom Zentrum für Datenverarbeitung der Universität Tübingen für die Einführung in die Statistiksoftware.

Meiner Mutter, Frau Dr. Margot Häfner, für die Durchsicht des Manuskripts.