

**Prädiktive Wertigkeit von Homocystein für die Mortalität von
Dialysepatienten in einem unselektionierten Kollektiv eines tertiären
Behandlungszentrums**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Hohen Medizinischen Fakultät
der Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität
Bonn

Eva Teresa Reuter geb. Baumann
aus Essen
2010

Angefertigt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Universität Bonn

1. Gutachter: Prof. Dr. med. R. Woitas
2. Gutachter: Prof. Dr. med. B. Stoffel-Wagner

Tag der Mündlichen Prüfung: 28.10.2010

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn
Direktor Prof. Dr. med. T. Sauerbruch

Meinen Eltern
und Stefan

Inhaltsverzeichnis

	Abkürzungsverzeichnis	8
1.	Einleitung	10
	1.1 Allgemeiner Teil	10
	1.2 Mortalität von Dialysepatienten	11
2.	Ziel der Arbeit	13
3.	Literaturübersicht	13
	3.1 Homocystein	13
	3.1.1 Historie	13
	3.1.2 Chemie	14
	3.1.3 Homocysteinmessung	16
	3.1.4 Referenzbereich und Risikostratifizierung	17
	3.1.4.1 Hyperhomocysteinämie	18
4.	Patienten und Methoden	19
	4.1 Patientencharakteristika; Ein- und Ausschlusskriterien für die retrospektive Analyse	19
	4.2 Datenerhebung bei Diagnosestellung und im Verlauf: erhobene Parameter, Untersuchungen	20
	4.2.1 Datenerhebung und -verarbeitung	22
	4.3 Statistische Auswertungen	23
5.	Ergebnisse	23
	5.1 Einleitung	23
	5.1.1 Studienpopulation/Demographie	23
	5.1.2 „renale“ Grunderkrankungen	24
	5.1.3 Laborchemische Charakteristika	28
	5.2 Korrelationsanalysen	31
	5.2.1 Korrelationsanalysen der Gruppe 1	32
	5.2.2 Korrelationsanalysen der Subgruppe 1	33
	5.3 ROC (Receiver Operating Characteristic)-Analysen	34
	5.3.1 ROC-Analyse des laborchemischen Parameters Homocystein .	35
	5.3.2 ROC-Analyse des Parameters Alter	36

5.3.3	ROC-Analyse der laborchemischen Parameter CRP, PTH, Hb, Phosphat und Cholesterin.....	37
5.4	Univarianzanalyse	40
5.5	Multivarianzanalyse.....	43
5.5.1	Cox-Regressionsanalyse für die Gesamtpopulation.....	43
5.5.2	Cox-Regressionsanalyse für die Subgruppe 1	43
6.	Diskussion	44
6.1	Studiendesign	44
6.2	Epidemiologische Faktoren	46
6.3	Diagnostik.....	47
6.3.1	Diagnostik der „renalen“ Grunderkrankungen.....	47
6.3.2	Laborchemische Charakteristika.....	48
6.3.2.1	Harnpflichtige Substanzen	49
6.3.2.2	C-reaktives Protein.....	50
6.3.2.3	Hämoglobin.....	51
6.3.2.4	Knochenstoffwechsel	52
6.3.2.5	Lipidstoffwechsel.....	54
6.3.2.6	Homocystein.....	54
6.4	Überlebenszeit – Risikofaktoren (Univariate Analyse).....	58
6.5	Multivariate Analyse	60
7.	Zusammenfassung	64
8.	Anhang	66
8.1	Hämodialyse	66
8.1.1	Historie.....	66
8.1.2	Dialyseverfahren	67
8.1.2.1	Hämodialyse	68
8.1.2.2	Ultrafiltration.....	69
8.1.2.3	Hämo(dia)filtration.....	69
8.2	Homocystein und Folsäure	70
8.2.1	Folsäure, Historie	71
8.2.2	Folsäure, Biochemie	71
8.2.3	Folsäureüberdosierung	74

8.2.4 Folsäuremangel.....	75
8.3 Homocystein und Vitamin B ₁₂ , B ₆	76
8.3.1 Allgemeines	77
8.3.2 Historie	78
8.3.3 Biochemie	78
8.3.4 Vitamin B ₆ /Vitamin B ₁₂ - empfohlene Dosen	79
8.3.5 Mangel/Überdosierung.....	80
9. Literaturverzeichnis	82
10. Danksagung	103
11. Lebenslauf	104

Abkürzungsverzeichnis

Ø:	Durchschnitt
Abb:	Abbildung
ANV:	Akutes Nierenversagen
APD:	Automatisierte/apparative Peritoneal Dialyse
AS:	Aminosäure
BMI:	body-mass-index
Ca:	Calcium
CAPD:	continous ambulatory peritoneal dialysis, (kontinuierliche ambulante Peritonealdialyse)
CAVH:	kontinuierliche arterio-venöse Hämofiltration
CBS:	Cystathionin-β-Synthetase
CRP:	C-reaktives Protein
CVD:	kardiovaskuläre Erkrankung
CVVH:	köntinuierliche veno-venöse Hämofiltration
DTT:	Dithiothreitol
ESRD:	End-stage renal disease, terminale Niereninsuffizienz
FPIA:	Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay,
IPD:	intermittent peritoneal dialysis (intermittierende Peritonealdialyse)
GFR:	Glomeruläre Filtrationsrate
Hb:	Hämoglobin
HDL:	high density Lipoprotein
Hcy:	Homocystein
HD:	Hämodialyse
HDF:	Hämodiafiltration
HF:	Hämofiltration
Kap:	Kapitel
Krea:	Kreatinin
LDL:	low density Lipoprotein
MG:	Molekulargewicht
MS:	Methioninsynthase

MTHFR:	Methylentetrahydrofolat-Reduktase
m:	männlich
o.n.A	ohne nähere Angaben
P:	Phosphat
pAVK:	periphere arterielle Verschußkrankheit
PLP/PALP:	Pyridoxal-5-Phosphat
PMP:	Pyridoxaminphosphat
PTH:	Parathormon
SAC:	Konjugiertes S-Adenosylcystein
SAH:	S-Adenosylhomocystein
SAM:	S-Adenosyl-L-Methionin
Tab:	Tabelle
tHcy:	totales Homocystein
THF:	Tetrahydrofolsäure
Vit B ₆ :	Vitamin B ₆
w:	weiblich

1. Einleitung

1.1 allgemeiner Teil

In Deutschland gibt es zurzeit ca. 82.000 Männer und Frauen (Jahresbericht Quasi Niere 2004/2005;), die sich aufgrund eines Nierenversagens mittels eines Nierenersatzverfahrens (HD, PD, NTP u.a.) behandeln lassen müssen. 2004 wurden 16.000 Patienten mit der Diagnose *Terminale Niereninsuffizienz* konfrontiert und einer geeigneten Nierenersatztherapie zugeführt (Inzidenz: 194/1 Mio.) (➔ **Abb. 1**).

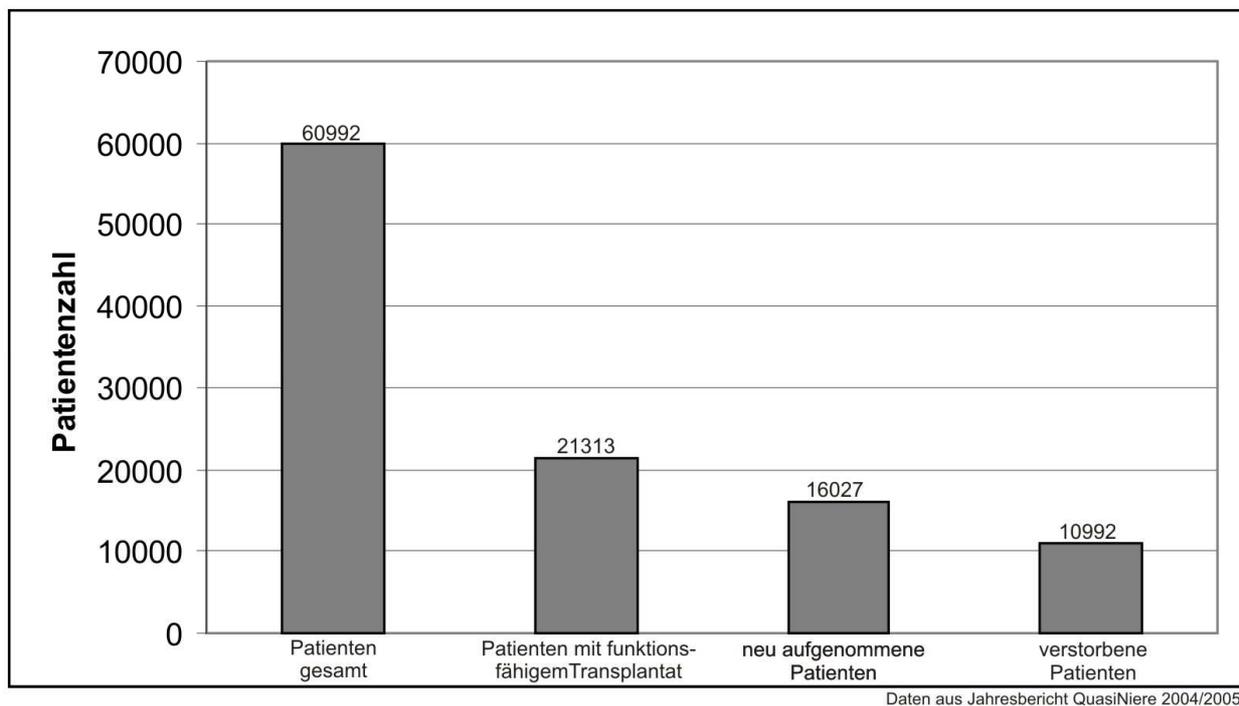


Abbildung 1: Patienten mit ESRD in Deutschland 2004

In Deutschland gibt es ca. 82.000 Männer und Frauen, die mittels Nierenersatzverfahren behandelt werden müssen. 2004 wurden 16.000 Patienten einer geeigneten Nierenersatztherapie (HD, PD, NTP u.a.) neu zugeführt. Ca. 11.000 Patienten verstarben.

Da nur wenige Patienten mit ESRD von einem Lebendspender präemptiv nierentransplantiert werden (81 von 16027 = 0,5% der Fälle), kommen lebensnotwendige überbrückende Dialyseverfahren (➔ **Kap. 3.1.2**) zum Einsatz. Über 90% der erwachsenen Patienten (14.953) und damit 99% der Fälle beginnen die Nierenersatztherapie mit der Hämodialyse, welche auch im weiteren Behandlungsverlauf die häufigste Therapieform bleibt (➔ **Tabelle 1**).

CAPD, APD/IPD	4,6% = 2.824 Patienten
HF	0,3% = 207 Patienten
HDF	7,3% = 4.430 Patienten
HD	87,8% = 53.531 Patienten
60992 Patienten \triangleq 90% der deutschen Patienten in 2004	
Quelle: Jahresbericht Quasi Niere 2004/2005	

Tabelle 1: Anteile der verschiedenen Dialyseverfahren an der Patientenversorgung in Deutschland im Jahre 2004

Im Jahre 2004 betrug die durchschnittliche Wartezeit bis zur Nierentransplantation (NTP) in Deutschland 40 Monate (Median 33 Monate). Laut EUROTRANPLANT dialysierten sogar 44,8% der 2005 transplantierten Patienten vor einer NTP länger als 60 Monate (Jahresbericht 2005 Eurotranplant International Foundation). Einer wachsenden Zahl terminal Nierenkranker (Neuaufnahmen in chronisches Nierenersatzprogramm 1996: 12.406; 2000: 14.370; 2004: 16.027 Patienten; Jahresbericht Quasi Niere 2004/2005) steht eine weitgehend stagnierende Anzahl von Transplantaten zur Verfügung (1996: 1887 Nierentransplantate postmortaler Spender; 2000: 1873; 2004: 1989 Spender; Jahresbericht der DEUTSCHE STIFTUNG ORGANTRANSPLANTATION (DSO) 2005). Lediglich die Lebendnierenspende verzeichnet größere Fallzuwächse (Fälle 1996: 129 = 6,4% aller NTP; 2000: 346 = 15,6%; 2004: 489 = 19,7%; Jahresbericht der Deutsche Stiftung Organtransplantation (DSO) 2005). Hinzu kommen verschiedene Faktoren, die eine Transplantation verhindern oder unmöglich machen (Patient lehnt NTP ab, Noncompliance, Infektion, Alter, Operationsrisiko u.a.), sodass die verschiedenen Dialyseverfahren weiter an Bedeutung gewinnen (Prävalenz von Dialysepatienten 1996: 524/Mio. Einwohner; 2000: 640/Mio. Einwohner; 2004: 739/Mio. Einwohner (+41% im Vergleich zu 1996; Jahresbericht Quasi Niere 2004/2005). Trotz gewaltiger technischer und hygienischer Fortschritte im Bereich der Dialyse versterben auch heute noch viele Patienten auf der Warteliste (2004: 483 Gemeldete, Jahresbericht 2005 Eurotranplant International Foundation) bevor sie ein lebensrettendes Organ erhalten.

1.2 Mortalität von Dialysepatienten

DIE Mortalität von Patienten im chronischen Nierenersatz, insbesondere die Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse (CVD), wie Schlaganfall und Myokardinfarkt, ist gegenüber der altersgleichen, nierengesunden Normalbevölkerung eklatant erhöht (Beddhu et al.

2002; The USRDS Dialysis Morbidity and Mortality Study 1997; Chavers et al. 2002; Foley et al. 1998). Bei Dialysepatienten unter 45 Jahren sogar über 100fach (Foley et al. 1998). Alleine ein GFR-Verlust von $5\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ im GFR-Bereich $16,8\text{-}116,9\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2$ steigert nach Meinung der Autoren der HOORN-Studie die Gefahr eines CVD-bedingten Todes um 26%. Niereninsuffizienz ist damit einer der stärksten kardiovaskulären Risikofaktoren überhaupt (Wannamethee et al. 1997; Henry et al. 2002; Anavekar et al. 2004; Tonelli et al. 2006). Im Jahr 2004 verstarb in Deutschland etwa 1/8 aller in der chronischen Nierenersatztherapie befindlichen Patienten (10.577 der erwachsenen Dialysepatienten, 398 Transplantierte und 17 der Kinder und Jugendlichen). Haupttodesursache in über 50% der Fälle waren kardiovaskuläre Ereignisse (Jahresbericht Quasi Niere 2004/2005). Die Zahl entspricht damit in etwa auch den US-amerikanischen Daten des UNITED STATES RENAL DATA SYSTEMS (USRDS, z.B. 1997: 53,3% CVD bedingter Tod, The USRDS Dialysis Morbidity and Mortality Study 1997). Ein in der Vergangenheit für verschiedenste Patienten-/Bevölkerungsgruppen identifizierter Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen ist das Homocystein (Clarke et al. 1991; Ridker et al. 1999; Perry et al. 1995; Whincup et al. 1999; Boushey et al. 1995; Nygard et al. 1997 und ↗ **Kap. 3.1**). Dies konnte insbesondere auch für Niereninsuffiziente gezeigt werden (Baigent et al. 2000). Die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) korreliert invers mit dem Plasma-Hcy (Wollesen et al. 1999; Arnadottir et al. 1996). Bereits mit Beginn einer Niereninsuffizienz weisen Betroffene in erheblichem Umfang erhöhte Hcy-Werte auf, wobei in ESRD erkrankten Dialysepatienten zu mehr als 85% laborchemische Anhebungen des Plasma-Hcy-Levels gemessen werden können (Moustapha et al. 1999; Kalantar-Zadeh et al. 2004). Eine derzeit gängige, aber bei Nierenkranken nicht Evidenz basierte Strategie in der Behandlung der Hyperhomocysteinämie besteht in einer Senkung des Hcy-Spiegels mittels Vitaminsupplementation. Physiologisch sinnvolle Interventionsmöglichkeiten sind Cofaktoren im Hcy-Metabolismus: Folsäure, Vitamin B₆ und B₁₂ (↗ **Kap. 3.1**). Verschiedene Substitutionsschemata in Bezug auf Applikationsform, -menge und -weise werden in Abhängigkeit vom Patientenklintel (Hcy-Spiegel, individuelles CVD-Risiko, Grunderkrankung, Nierenersatztherapie, persönlicher Wunsch, Compliance, monetäre Aspekte usw.) und aktueller Studienlage therapeutisch angewandt. Während bei Nierengesunden niedrigere Hcy-Konzentrationen mit einer signifikanten Reduktion des

CVD-Risikos einhergehen (30 Studien umfassende Metaanalyse, Homocysteine Studies Collaboration 2002), besteht für Dialysepatienten hinsichtlich der prädiktiven, determinierenden Wertigkeit von Hcy, dessen Behandlung bzw. Nichtbehandlung, bezüglich des CVD-Risikos und dementsprechend der Mortalität weiterhin dringender Aufklärungsbedarf. Kontroverse Studienergebnisse liegen vor (Kalantar-Zadeh et al. 2003; Ducloux et al. 2006; Kalantar-Zadeh et al. 2004; Mallamaci et al. 2002).

2. Ziel der Arbeit

ZIEL der vorliegenden Promotionsarbeit ist die Erfassung der prognostischen Wertigkeit von Homocystein für das Überleben von Dialysepatienten des Dialysezentrums der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn. Es handelt sich um eine retrospektive Datenanalyse mit sechsjährigem Follow-up. Die kontroverse Studienlage zu diesem Thema soll dargestellt, diskutiert und um Bonner Daten ergänzt werden, um ggf. neue Evidenzen für die zukünftige Hcy-assoziierte Therapie und Prognose von Dialysepatienten zu erlangen.

3. Literaturübersicht

3.1 Homocystein

HOMOCYSTEIN (Hcy) ist eine schwefelhaltige Aminosäure, deren wichtigste Aufgabe in der Bereitstellung von Methylgruppen zur Bildung essentieller Aminosäuren liegt. Pro Tag werden in den Körperzellen von Erwachsenen etwa 15 bis 20mmol Hcy produziert. Da Hcy potentiell zelltoxisch ist, wird es entweder zu Methionin remethyliert, oder zu Cystein abgebaut.

3.1.1 Historie

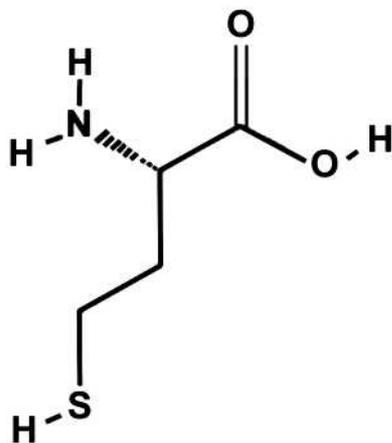
ALS Erstbeschreiber 1932 gelten DU VIGNEAUD ET AL. (1950). In den 60er Jahren wurde tHcy erstmalig im Urin nachgewiesen und mit pathogenen Prozessen (Homocysteinurie, Retardierung, Arteriosklerose) in Verbindung gebracht (Carson et al. 1962, Gerritsen et al. 1962, Gibson et al. 1964, McCully et al. 1969). NEWBURGH stellte zwischen 1915-1925 die These auf, dass Proteine für die Bildung atherosklerotischer Plaques verantwortlich sind, konnte jedoch keine einzelne Aminosäure identifizieren, da Methionin (1922) und Hcy (1932) noch nicht bekannt waren. 1964 gelang es, einen

Zusammenhang zwischen Thrombosen, vaskulären Ereignissen, dem erbten Mangel der Cystathionase und der daraus resultierenden Homocysteinurie darzustellen.

Einen ausführlichen geschichtlichen Überblick über die Homocystein- und Arterioskleroseforschung veröffentlichte einer ihrer Pioniere, KILMER S. McCULLY im Jahre 2005 (McCully et al. 2005).

3.1.2 Chemie

HOMOCYSTEIN (α -Amino- γ -Mercaptobutyrat) ist eine potentiell zelltoxische, nichtessentielle, schwefelhaltige, aliphatische α -Aminosäure/Aminocarbonsäure (AS) mit einem Molekulargewicht von 135U.



Systematischer Name von Homocystein
(2S)-2-amino-4-sulfanyl-butanoic acid

Abkürzung	: Hyc
Chemische Formel	: $C_4H_9NO_2S$
Molekulgewicht	: $135,186g \cdot mol^{-1}$
CAS Nummer	: (L)-454-29-5 (DL)-454-29-5
PubChem	: CID 91552
SMILES	: <chem>C(CS)C(C(=O)O)N</chem>

Abbildung 2: „Datenblatt“ der Aminosäure L-Homocystein

In der L-Konfiguration ist Hcy Bestandteil verschiedener Stoffwechselwege im Menschen (**↗ Abb. 2**). Es entsteht als Intermediärprodukt im Metabolismus der essentiellen Aminosäure L-Methionin. Ein Erwachsener nimmt täglich etwa 2g Methionin mit der Nahrung auf. Enteral resorbiertes L-Methionin wird durch Transfer einer Adenosylgruppe aus ATP auf die SH-Gruppe (Substitution des Wasserstoffs der Sulfhydryl-(Thio-)Gruppe durch eine Methylgruppe) zu S-Adenosyl-L-Methionin (SAM) umgewandelt. SAM ist einer der wichtigsten Methylgruppendonatoren endogener Biosynthesen (Chiang et al. 1996). Im nächsten Schritt demethyliert die Adenosyl-Homocysteinase dieses zu S-Adenosyl-L-Homocystein, welches anschließend in Adenosin und L-Homocystein hydrolysiert wird.

Etwa 90% des Homocysteins findet sich innerhalb der Körperzellen, der Rest im Blutplasma. Aufgrund von Membrangängigkeit und aktivem Austausch korreliert der tHcy-Plasmaspiegel positiv mit der intrazellulären Konzentration (Blom et al. 2000, Budy et al. 2006). Der Hauptteil des im Plasma vorkommenden Homocysteins liegt oxidiert an Albumin gebunden oder als Disulfid (z.B. zusammen mit Cystin) vor, sodass die freie Menge an Homocystein unter 5% liegt (Ueland et al. 1995).

Die Elimination von Hcy erfolgt entweder durch Folsäure- und Cobalamin-(Vitamin B₁₂) abhängige Remethylierung zu Methionin oder alternativ durch Kondensation mit Serin über Cystathionin zu Cystein und Glutathion (Pyridoxin-(Vitamin B₆)abhängige Transsulfurierung, irreversibel):

Durch Katalyse der Vitamin B₁₂-abhängigen Methioninsynthase (MS) ist Hcy als Methylgruppenakzeptor (Transmethylierung; Methylgruppendonor dieser Reaktion ist 5-Methyl-Tetrahydrofolat) Teil des Methioninrecyclings. Neben der MS ist die Methylentetrahydrofolat-Reduktase (MTHFR) ein Schlüsselenzym bei dieser Reaktion (➤ **Anhang 8.1.1.5**). Sie reduziert 5,10-Methylen-Tetrahydrofolat zu 5-Methyl-Tetrahydrofolat. 5-Methyl-Tetrahydrofolat ist ein wichtiger Methylgruppendonor, seine Methylgruppe wird auf Homocystein übertragen, das dann zu Methionin umgewandelt wird.

Auch die Betain-Homocystein-Methyl-Transferase wandelt Homocystein unter Bildung von Dimethylglycin in Methionin um. Da diese Reaktion aber nur in der Leber stattfindet, und ihre Aktivität auch bei hohem Substratangebot kaum steigt, spielt sie im Homocysteinstoffwechsel eine untergeordnete Rolle.

Essentiell ist Hcy ferner bei der Biosynthese von Cystein und Homoserin. Hier dient es als SH-Gruppenlieferant (Transsulfurierung) bei der Vitamin B₆-abhängigen Cystathionin-Synthetase (CBS, Schrittmacherenzym) und Cystathionase (Hatch et al. 1961). Die Transsulfurierung ist irreversibel und dient der Elimination von Homocystein aus dem Körper, das entstehende überschüssige Cystein wird zu Sulfat oxidiert und über die Nieren ausgeschieden.

Gendefekte der drei Schlüsselenzyme des Homocysteinstoffwechsels CBS, MS und MTHFR führen zu schweren Hyperhomocytinämien. Liegt beispielsweise eine Mutation im MTHFR-Gen vor, entsteht ein thermolabiler Phänotyp des Enzyms mit reduzierter Aktivität. Ursächlich findet man eine Transition von Cytosin in Thymin an der

Nukleotidposition 667 im Exon 4 des MTHFR-Gen (Chromosom 1p36.3), so dass im Protein ein Wechsel von Alanin zu Valin an der Aminosäureposition 245 resultiert. Synonyme in der Literatur für diesen Polymorphismus sind die Bezeichnungen C677T, A223V und A245V. Durch die reduzierte Enzymaktivität werden vermindert C1-Körper zur Regeneration von Homocystein zu Methionin zur Verfügung gestellt. Dies hat zur Folge, dass bei heterozygot betroffenen Patienten moderate und bei homozygot Betroffenen stark erhöhte Homocysteinwerte auftreten (Billon et al. 2002, Födinger et al. 1997).

Der L-Homocysteinmetabolismus wird in folgender Abbildung (**➤ Abb. 3**) dargestellt:

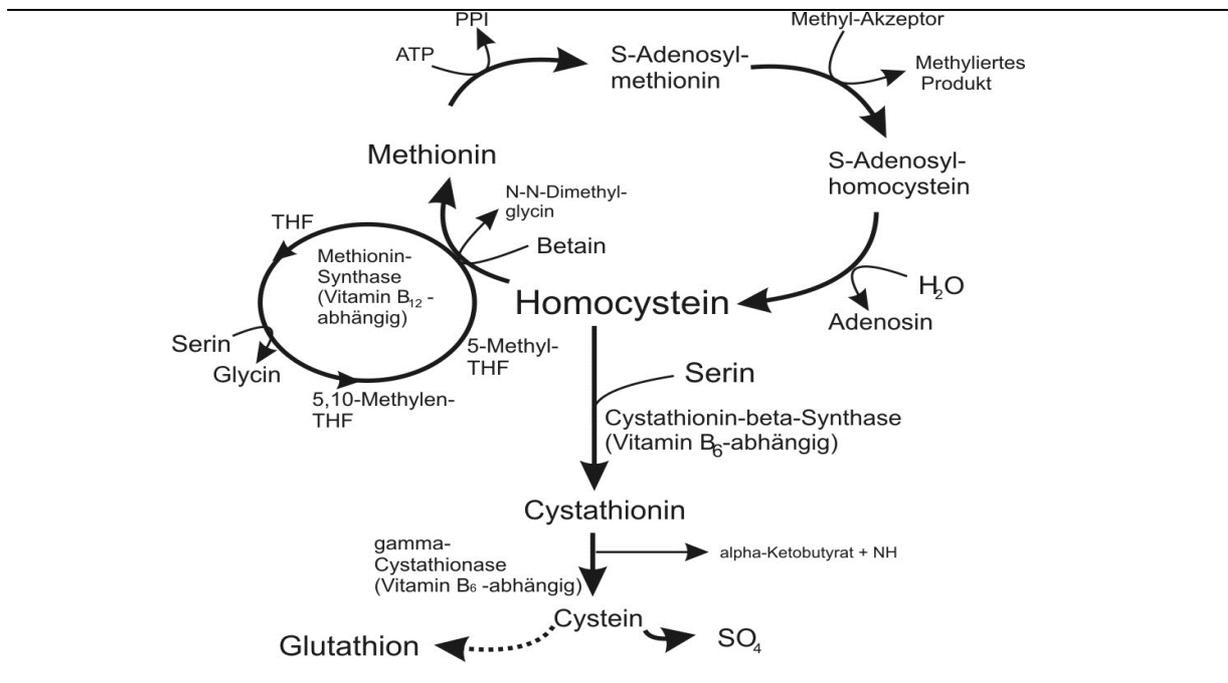


Abbildung 3: Der L-Homocysteinmetabolismus (schematisch)

Die Elimination von Hcy erfolgt durch Remethylierung zu Methionin (Folsäure- und Cobalamin-abh.) oder durch Kondensation mit Serin zu Cystein und Glutathion. Durch Katalyse der Methioninsynthase ist Hcy als Methylgruppenakzeptor Teil des Methioninrecyclings. Die Methylentetrahydrofolat-Reduktase reduziert 5,10-Methylen-Tetrahydrofolat (5,10-Methylen-THF) zu 5-Methyl-THF. 5-Methyl-THF ist ein Methylgruppendonor für Hcy, das dann zu Methionin umgewandelt wird. Auch die Betain-Homocystein-Methyl-Transferase wandelt Hcy unter Bildung von Dimethylglycin in Methionin um. Bei der Biosynthese von Cystein und Homoserin dient Hcy als SH-Gruppenlieferant bei der Vitamin B₆-abhängigen Cystathion-β-Synthetase und Cystathionase.

3.1.3 Homocysteinmessung

FIORE ET AL. veröffentlichten 1988 die durch SHIPCHANDLER ET AL. weiterentwickelte und heute gängige Methode, einen Fluoreszenzpolarisationsimmunoassay (FPIA), zur Bestimmung des Plasmahomocysteins (Shipchandler et al. 1995, Fiore et al. 1988).

BARBE et al. validierten den Assay, indem sie ihn mit anderen Messverfahren verglichen (Barbe et al. 2001). Das Prinzip der FPIA kann bei DANDLIKER ET AL. nachgelesen werden (Dandliker et al. 1961, Dandliker et al. 1970).

In Kürze: Nach Applikation eines Puffers (enthält u.a. Dithiothreitol (DTT), Adenosin und SAH-Hydrolase) reduziert DTT gebundenes Homocystein (>95% des Plasmahomocysteins ist gebunden, Ueland et al. 1995) zu freiem Hcy, welches durch SAH enzymatisch zu S-Adenosyl-L-Homocystein umgewandelt wird. Ein der Lösung zugegebener monoklonaler Maus-Antikörper gegen S-Adenosyl-L-Homocystein bindet kompetitiv an zeitgleich addiertes Fluoreszenzmarker-gekoppeltes S-Adenosyl-L-Cystein-6-Carboxyfluoreszeinamid. Je höher die Plasmakonzentration von Homocystein ist, desto weniger Fluoreszenzmarker wird aus der Bindung an Cystein verdrängt. Folglich ergibt sich ein starkes Fluoreszenzsignal, da wenig Fluoreszenzmarker frei wird und in Lösung geht. Die Detektion der Emissionsmenge des mittels polarisierten Lichts angeregten Fluoreszeins, ermöglicht schließlich eine Konzentrationsbestimmung.

3.1.4 Referenzbereich und Risikostratifizierung

JE nach Autor variiert die Angabe einer Obergrenze physiologischer Plasmaspiegel zwischen 10 und 15 $\mu\text{mol/L}$. Darüber hinausgehende Werte entsprechen definitionsgemäß einer Hyperhomocysteinämie, die sich nach KANG ET AL. in leicht (<30 $\mu\text{mol/L}$), moderat (31-100 $\mu\text{mol/L}$) und schwer (>100 $\mu\text{mol/L}$) unterteilen (Kang et al. 1992). Allerdings scheint eine strenge Einteilung problematisch, da viele Faktoren, wie z.B. Alter und Geschlecht, die physiologische Konzentration beeinflussen. Zudem korreliert das Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen in der allgemeinen Bevölkerung bereits bei Werten unter 10 $\mu\text{mol/L}$ mit dem Homocysteinspiegel (Boushey et al. 1995, Nygard et al. 1997, Anderson et al. 2000). BOTS ET AL. geben nach Auswertung der ROTTERDAM-Studie eine Risikoerhöhung von 6-7% pro $\mu\text{mol/L}$ Homocysteinanstieg an (Bots et al. 1999).

Dem gegenüber beschreiben BUCCANTI ET AL. eine um 3% pro $\mu\text{mol/L}$ Hcy-Anstieg erhöhte Mortalität von Dialysepatienten (Buccianti et al. 2004). In einer Metaanalyse von BAIGENT ET AL. stellte sich ein Anstieg des relativen CVD-Risikos Nierenkranker um den Faktor 1,5 bei einem Hcy-Anstieg um 5 $\mu\text{mol/L}$ dar. Das entspricht prognostisch ungefähr

einem HDL-Abfall um 0,4mmol/L oder einem Lipoprotein-(a)-Anstieg um 0,4 µmol/L (Baigent et al. 2000).

Die DACH-LIGA HOMOCYSTEIN, ein Zusammenschluß von interdisziplinären Wissenschaftlern aus den DACH-Ländern (Deutschland, Österreich, Schweiz), die sich mit der Forschung auf dem Gebiet von Homocystein, relevanter Vitamine und assoziierter Krankheiten im weiteren Sinne befassen, schlägt daher folgende Einteilung zur Risikostratifizierung vor (↗ **Tab. 2**) und spricht für ausgewählte Bevölkerungsgruppen (↗ **Tab. 3**) eine Screening-Empfehlung aus. Erhöhte Homocysteinwerte im Sinne einer Hyperhomocysteinämie bestehen bei bis zu 10% der Allgemeinbevölkerung und bei bis zu 40% der Risikopatienten mit Gefäßerkrankungen (Stanger et al. 2004).

> 12 – 30µmol/L	moderate Hyperhomocysteinämie mit Handlungsbedarf für alle (Gesunde u. Kranke)
10 – 12µmol/L	Handlungsbedarf bei Patienten mit kardiovaskulärem Risikoprofil
< 10µmol/L	günstig, kein Handlungsbedarf
Quelle: DachLiga Homocystein	

Tabelle 2: Einteilung der Homocystein-Bereiche nach Handlungsbedarf

Manifeste Gefäßerkrankungen	CVD-Risikogruppen	Vitaminmangel-Risikogruppen
Koronare Herzkrankheit	positive Familienanamnese	alte Menschen
Myokardinfarkt	Arterieller Hypertonus	Vegetarier
Atherosklerose der Carotiden	Raucher	Alkohol-/Drogenabusus
Atherosklerose der Hirnarterien	Hyperlipidämie	(Chronisch) entzündliche Magen-Darmerkrankungen
pAVK	Niereninsuffizienz	Präeklampsie
Zerebraler Insult	Diabetes	Nierenerkrankungen
Vernöse Thrombosen	Metabolisches Syndrom	Einseitige Ernährung
Pulmonalarterienembolie		Medikamente
Quelle: DachLiga Homocystein		

Tabelle 3: Zielgruppen einer Homocysteinbestimmung zur Risikostratifizierung

3.1.4.1 Hyperhomocysteinämie

SERUM- und intrazelluläre Homocystein Spiegel werden durch die Remythelierung von Homocystein zu Methionin oder der Transsulfuration zu Cystein reguliert. Erhöhte Homocystein Spiegel resultieren aus Defiziten der Vitamine Folsäure, Pyridoxin und Cobalamin, sowie eingeschränkten Enzymaktivitäten und genetischen Defekten (Welch et al. 1998). Beispielsweise führt eine Mutation im Methylen-Tetrahydrofolat-Reduktase-Gen zur 70%igen Funktionseinschränkung des Enzyms (Soares Melo et al.

2006, Caso et al. 2006, Kerkeni et al.2006) (**➤ Abschnitt 3.1.2**). Ferner können Arzneimittel (Methotrexat, Phenotoin, Theophillin) und Erkrankungen wie Hypothyreoidismus, perniziöse Anämie, akute lymphatische Leukämie, Karzinome (Mamma-, Ovarial- und Pankreaskarzinome) und terminales Nierenversagen eine Hyperhomocysteinämie hervorrufen (Robins et al. 1972, Bostom et al. 1997, Welch et al. 1998, Guttormsen et al. 1997). Bei Patienten mit ESRD ist allerdings unklar, ob gesteigerte Konzentrationen von Hcy durch Beeinträchtigung des Homocysteinmetabolismus oder verringerte Ausscheidungsfunktion der Nieren zustande kommen (Welch et al. 1998). Folge der Hyperhomocysteinämie ist eine wesentlich erhöhte Konversion von Hcy zu Methionin (Födinger et al. 1997).

Kardiovaskuläre Erkrankungen begründen den Hauptteil der Morbidität und Mortalität von Dialysepatienten. Zahlreiche retrospektive und prospektive Studien finden übereinstimmend eine unabhängige Beziehung zwischen bereits leicht erhöhtem Homocystein und kardiovaskulären, thromboembolischen Erkrankungen sowie der Gesamtmortalität in der generellen Bevölkerung aber auch bei Patienten mit terminalem Nierenversagen (Welch et al. 1998, Stanger et al. 2003, Wald et al. 2003, Ueland et al. 1992, Stampfer et al. 1995). Zum Beispiel konnten CLARKE ET AL. durch ihre Studie bei 42% der Patienten mit cerebrovaskulären Erkrankungen, bei 28% mit peripherer vaskulärer Erkrankung und bei 30% mit KHK eine Hyperhomocysteinämie nachweisen (Clarke et al. 1991). In der PHYSICIANS` HEALTH Studie von STAMPFER ET AL., eine der größten vorliegenden prospektiven Studien zur Beurteilung des Risikos für die Entwicklung eines Myokardinfarkts bei Hyperhomocysteinämie, zeigte sich bei einer Homocysteinerhöhung von 12% über den Normwert ein dreifach erhöhtes Risiko für Myokardinfarkte (Stampfer et al. 1992). Risikofaktoren wie Rauchen, arterieller Hypertonus, Diabetes und Hyperlipidämie können das Gesamtrisiko additiv oder durch Interaktion mit Homocystein synergistisch und überproportional erhöhen, wobei die Hyperhomocysteinämie als unabhängiger Risikofaktor gilt (Stanger et al. 2004).

4. Patienten und Methoden

4.1 Patientencharakteristika: Ein- und Ausschlusskriterien für die retrospektive Analyse

BEI der vorliegenden Untersuchung handelt es sich um eine retrospektive Studie bezüglich der prognostischen Wertigkeit von Serum-Homocystein-Spiegeln bei

Dialysepatienten. Vergleichbare Arbeiten zu diesem Thema liegen vor, haben jedoch zu kontroversen Ergebnissen geführt.

Insgesamt wurden Daten von 2893 Dialysepatienten gescreent, die sich im Zeitraum 1999 bis 2006 in nephrologischer Behandlung in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn befanden. Einschlusskriterium für die Aufnahme in die retrospektive Studie war mindestens ein erhobener Homocysteinwert, welcher sich bei 476 Patienten fand. Ausschlusskriterium war ein Follow-up von weniger als 6 Monaten bei Patienten, welche im Beobachtungszeitraum nicht verstorben sind.

Zusätzlich wurden die zur terminalen Niereninsuffizienz führende Grunderkrankung, kardiovaskuläre Begleiterkrankungen, das Vorhandensein von Diabetes, das Auftreten kardio-vaskulärer Ereignisse, der Dialysezeitraum sowie der Todeszeitpunkt mit Ursache bzw. das Überleben der Patienten erfasst, so dass letztendlich 241 Patienten, bei denen diese Daten vollständig vorlagen, in die Auswertung aufgenommen werden konnten.

4.2 Datenerhebung bei Diagnosestellung und im Verlauf: erhobene Parameter, Untersuchungen

Im Rahmen der Aufnahmeroutine (Serumkontrollen) wurden im Zentrallabor des Universitätsklinikums Bonn die Homocysteinwerte ermittelt. Indikation für eine Hcy-Bestimmung war zu diesem Zeitpunkt die allgemeine Risikoabschätzung für kardiovaskuläre Erkrankungen.

Bestimmt wurde das Gesamt-Hcy (totales Homocystein [tHcy]), bestehend aus reduzierter und oxidierten Formen (Summe aus freiem und gebundenem Hcy: Homocystin, proteingebundenes Homocystein [Hauptanteil] und Cystein-Homocystein-Komplex).

Die Plasma-Hcy-Bestimmung erfolgte an der Dialyse aus morgentlichem „Nüchternblut“ (Nüchternperiode >8h), da sowohl freies als auch Gesamt-Hcy nach einer Mahlzeit um 10-30% erhöht sein können. Bei venöser Stauung können falsch niedrige Hcy-Werte gemessen werden. Die Blutentnahme erfolgte deshalb prä-dialytisch unmittelbar vor dem Zusatz von Heparin aus dem Shunt oder dem Dialysekatheter direkt in 10ml EDTA-Röhrchen (Sarstedt AG, Nümbrecht, Deutschland). Nach Blutentnahme kommt es temperatur- und zeitabhängig zur Freisetzung von Hcy vor allem aus den Erythrozyten,

weshalb die Proben am Abnahmestern (ca. eineinhalb Stunde nach Entnahme) zentrifugiert wurden. Nach der Zentrifugation ist Hcy im Plasma stabil. Die Bestimmung aus Serum ist prinzipiell möglich, wird aber wegen der Fehler durch unvollständige Koagulation nicht empfohlen (Halwachs-Baumann 2006, Refsum et al. 1998).

tHcy wurde mittels der HCYS Flex[®] reagent cartridge Methode (Siemens Healthcare Diagnostics GmbH) quantifiziert. Dabei handelt es sich um ein in-vitro-Diagnostikum zur Bestimmung von tHcy in Humanserum, Heparinplasma und EDTA-Plasma mit dem Dimension Vista[®] System. Grundlage des Verfahrens ist ein kompetitiver Test, welcher darauf beruht, dass gebundenes Hcy in der Probe durch Einwirkung von Dithiothreitol zu freiem Hcy reduziert und dann enzymatisch zu S-Adenosylhomocystein (SAH) umgewandelt wird. Konjugiertes S-Adenosylcystein (SAC), das zu Beginn der Reaktion beigegeben wurde, konkurriert mit dem SAH in der Probe um die Bindung an Anti-SAH-Antikörper, die an Polystyrolpartikel gebunden sind. In der Gegenwart von SAH bilden sich entweder keine oder nur schwache Partikelaggregate. Ist kein SAH in der Probe vorhanden, tritt eine Aggregation der Polystyrolpartikel durch das konjugierte SAC auf. Je höher die SAH-Konzentration im Reaktionsgemisch, desto kleiner ist das Streulichtsignal. Die Auswertung erfolgt durch Vergleich mit einem Standard bekannter Konzentration.

tHcy und alle übrigen Blut-Parameter [C-reaktives Protein (CRP) (Nephelometrie), Low density Lipoprotein (LDL) (direkte Messung), High density Lipoprotein (HDL) (direkte Messung), Gesamtcholesterin (Cholesterin-Oxidase-Methode), Hämoglobin (Hb) (cyanidfreie Natriumlaurylsulfat-Methode), Kreatinin (kinetische Jaffé-Methode), Harnstoff-N (Urease-Methode), Kalzium (Molybdänblau-Methode ohne Enteiweißung) und Phosphat (Kresolphthalein-Komplex-Methode), und Parathormon (intakt) (PTH) (Einschritt-Festphasen-Chemilumineszenz-immunometrischer Assay)] wurden im Zentrallabor der Universitätsklinik Bonn analysiert.

Hinweise zur Beurteilung des Nutritionstatus gibt der body-mass-index (BMI). Er wird nach Ermittlung von Körpergewicht in Kilogramm (kg) und Körpergröße in Metern (m) durch Bildung des Quotienten kg/m^2 errechnet. Bei Hämodialyse-Patienten wurde das sogenannte „Trockengewicht“ zur Bestimmung des BMI herangezogen. Leider waren unsere Daten hinsichtlich des BMI durch häufig fehlende Angaben zur Körpergröße unvollständig und konnten daher nicht in die Auswertung miteinbezogen werden.

Weiterhin wurden folgende epidemiologischen Daten erhoben und statistisch ausgewertet:

- Geschlechterverteilung
- Lebensalter
- renale Grunderkrankungen
- Follow up/Überleben

4.2.1 Datenerhebung und -verarbeitung

DIE für die Jahre bis 1999 bis 2006 retrospektive Erfassung der relevanten Patientendaten erfolgte von Januar 2004 bis Juli 2006 mittels eines standardisierten Auswertungsbogens in einer Excel Tabelle (Microsoft, München, Deutschland), in welche Informationen aus den Patientenakten und den elektronischen Datenbanken des Universitätsklinikums und den zuweisenden Dialysezentren (➔ **Tab. 4**) einfließen. Die betreuenden zuweisenden Nephrologinnen und Nephrologen aller Patienten, wurden kontaktiert und gebeten, ergänzende Untersuchungsbefunde des Patienten zuzusenden.

NephrologInnen	Ort
Dr. med. Krebs, Dr. med. Gerhardt	Betzdorf/Altenkirchen
Dr. med. Petrik	Bad Neuenahr-Ahrweiler
PD Dr. med. Brensing, Dr. med. Raab, Dr. med. Kottmann, Dr. med. Pöge	Bad Godesberg
Dr. med. Figge, Dr. med. Silbernik	Bonn Hardtberg
Dr. med. Bozkurt, Dr. med. Bous, Fr. Dr. med. Bergheim	Daun
Dr. med. Gohlke, Fr. Dr. med. Platen, Fr. Kunkel, Dr. med. Ackermann	Euskirchen/Mechernich
Dr. med. Dehnert, Dr. med. Roth, Dr. med. Ernst	Dernbach
Herr Peters, Dr. med. Müller	Erfstadt
Dr. med. Helmecke	Hennef
Dr. med. Grahl	Hürth
Prof. Dr. med. Eisenhauer	Koblenz
Prof. Dr. med. Baldamus, PD Dr. med. Marsen	Köln-Lindenthal
Dr. med. Nebel (Leitender Arzt)	Köln-Merheim
Dr. med. Bröker	Köln-Porz
Dr. med. Grieger, Dr. med. Hahn, Dr. med. Kreuzer	Mayen
Dr. med. Wintergalen	Olpe
Dr. med. Richter	Neuwied
Dr. med. Freudenhammer	Remagen
Dr. med. Hundertmark, Dr. med. Henk	Rheinbach
Dr. med. Herrmann, Hr Michalowitz, Dr. med. Nöthen, Fr. Dr. med. Tillmanns, Dr. med. Dose	Siegburg
Dr. med. Illing, Dr. med. Wildburg, Dr. med. Wildburg	Simmern
Herr Münch, Dr. med. Spannbrucker, Dr. med. Cöster	Wesseling

Tabelle 4: Zuweisende NephrologInnen

4.3 Statistische Auswertungen

FÜR die statistische Auswertung (Deskriptive Statistiken, Subgruppen- und Korrelationsanalysen) wurde die Software StatView für Windows verwendet (SAS, Cary, USA). Für die deskriptive Statistik von nominalen oder kategorischen Variablen wurden Häufigkeitsverteilungen und Kreuztabellen benutzt. Dabei wurden Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Risikofaktoren hinsichtlich des Ereignisses „Tod“ wurden mit Hilfe von ROC-Analysen hinsichtlich ihrer Sensitivität und Spezifität analysiert und letztendlich durch uni- und multivariate Analysen als signifikant bzw. nicht signifikant definiert (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA). Als statistisch signifikant wurden Ergebnisse, für die die zufällige Eintrittswahrscheinlichkeit $<5\%$ (entsprechend $p < 0,05$) war, bezeichnet.

5. Ergebnisse

5.1 Einleitung

BEI der vorliegenden Untersuchung wurden Daten von insgesamt 2893 *dialysepflichtigen* Patienten (ESRD, CKD V), die sich im Zeitraum Januar 1999 bis Dezember 2006 in nephrologischer Behandlung in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn befanden, gescreent.

5.1.1 Studienpopulation/ Demographie

EINSCHLUSSKRITERIUM in die Studie war mindestens ein dokumentierter Homocysteinwert, welcher sich bei 476 konsekutiven Patienten (16,5%) fand. Ausschlusskriterien waren neben einem fehlendem Homocysteinwert, ein Follow up von weniger als 6 Monaten bei Lebenden, sowie ein Follow up von weniger als einem Tag im Todesfalle des Patienten. Letztendlich konnten 241 Patienten (8,3% der gescreenten Patienten) in die Auswertung aufgenommen werden. Dieses Patientenkollektiv wird im Folgenden als Gruppe 1 „Gesamtpopulation“ ($n = 241$) bezeichnet.

Der am weitesten zurückliegende Dialysebeginn in dieser Gruppe findet sich im Jahre 1968, während der jüngste Dialysebeginn 2004 zu verzeichnen ist. Die Patienten der Gruppe 1 weisen ein medianes Follow up von 2,41 Jahren auf, wobei der kürzeste Beobachtungszeitraum 0,01 Jahre und der Längste 6,56 Jahre beträgt. Die Patienten wurden mit folgenden Dialyseverfahren behandelt: HF (Hämofiltration), Hämodialyse

und/oder Hämodiafiltration (**↗ Anhang 8.1.1.2**). Die Geschlechterverteilung in der „Gesamtpopulation“, sowie das Patientenalter sind in der Tabelle 5 (**↗ Tab. 5**) aufgeführt. Die renalen Grunderkrankungen werden im Abschnitt (**↗ Kap. 5.1.2**) näher beschrieben und nach Diagnosen aufgeschlüsselt.

In der Gruppe 1 befinden sich unter anderem Patienten, die durch ein akutes Geschehen (z.B. durch ein akutes Nierenversagen bei Hypovolämie, nach Kontrastmittelexposition, nach intraoperativem Blutdruckabfall, im Rahmen einer Sepsis oder eines hepato-renalen Syndroms) dialysepflichtig geworden sind, also vor Studienbeginn nicht an einem chronischen Dialyseprogramm teilgenommen haben und gegebenenfalls während des stationären Aufenthalts verstorben sind. Um eine Patientengruppe mit ausschließlich chronischen Dialysepatienten abzugrenzen, wurde die Subgruppe 1, die „chronische Dialysepatienten“ enthält (n=195), gebildet. Der Beobachtungszeitraum sowohl der Subgruppe 1, wie auch derjenige der Gesamtpopulation (Gruppe 1), beträgt mindestens 0,01, maximal 6,56 Jahre. Der Median liegt bei 2,72 Jahren. Geschlechterverteilung und medianes Alter dieser Subgruppe 1 finden sich ebenfalls in der Tabelle 5 (**↗ Tab. 5**), während die renalen Grunderkrankungen im folgenden Abschnitt (**↗ Kap. 5.1.2**) näher charakterisiert sind.

	Gruppe 1	Subgruppe 1
Geschlechterverteilung	w:105 m:136	w:84 m:111
medianes Alter	62,84 Jahre	61,63 Jahre
Range	22,95-88,72 Jahre	22,95-86,28 Jahre

Tabelle 5: Geschlechterverteilung und medianes Alter

5.1.2 „Renale“ Grunderkrankungen

DIE Grunderkrankungen und die Verteilung der Grunderkrankungen der Gesamtpopulation (Gruppe 1) sind in der folgenden Abbildung 4 (**↗ Abb. 4**) zusammenfassend wiedergegeben.

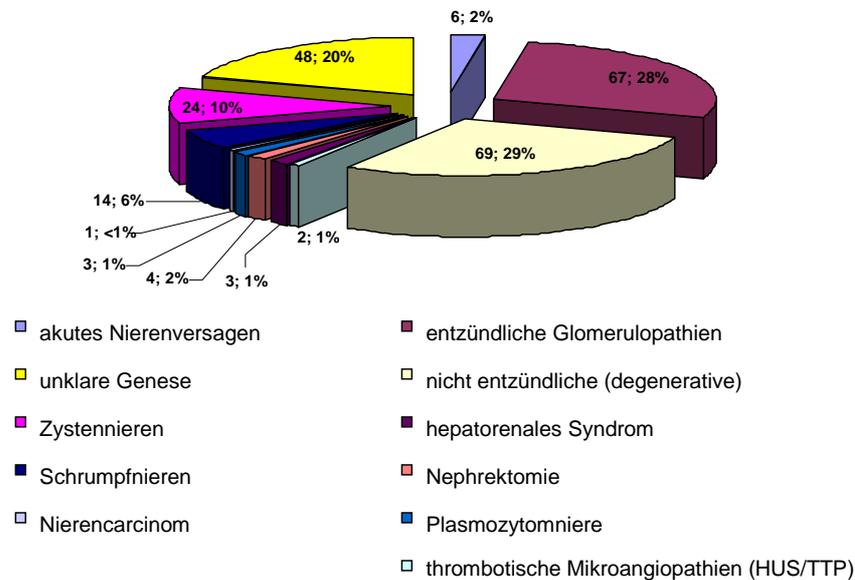


Abbildung 4: Zusammenfassung der Grunderkrankungen der Gesamtpopulation

In der Gruppe 1 nehmen den Hauptanteil der Grunderkrankungen die nicht entzündlichen (n=69 Patienten (29%)) und entzündlichen (n=67 Patienten (28%)) Glomerulopathien ein.

Hier wurde zwischen akutem Nierenversagen (n = 6 Patienten, entsprechen 2,1% der Gruppe 1), entzündlichen Glomerulopathien/-nephritiden (n = 67 Patienten, 28%), nicht entzündlichen (degenerativen) Glomerulopathien (n = 69 Patienten, 29%), thrombotischen Mikroangiopathien (n = 2 Patienten, 1%), hepatorenalem Syndrom (n = 3 Patienten, 1%), Nephrektomien (n = 4 Patienten, 2%), Plasmozytomnieren (n = 3 Patienten, 1%), Nierencarcinomen (1 Patient, <1%), Schrumpfnieren - nicht näher klassifiziert - (n = 14 Patienten, 6%), Zystennieren (n = 24 Patienten, 10%) und Niereninsuffizienz mit unklarer Genese (n = 48 Patienten, 20%) unterschieden.

Die folgende Tabelle 6, sowie die Abbildungen 5 und 6 (↗ Tab. 6, ↗ Abb. 5 und Abb. 6) stellen die Aufteilungen der Grundkrankheiten unter den in der Abbildung 4 (↗ Abb. 4) zusammengefassten Oberbegriffen „entzündliche Glomerulopathien“, „nicht entzündliche Glomerulopathien“ und „akutes Nierenversagen“ grafisch dar. Sie enthalten absolute und relative Angaben hinsichtlich ihrer Prävalenz in der Studie.

Entzündliche GN	Prozent (%)	Anzahl (n)
GN	10	7
Poststreptokokken GN	1	1
Membranöse GN	21	14
Minimal change GN	9	6
HWI	1	1
Pyelonephritis	10	7
Interstitielle Fibrose	7	5
Nephritis bei syst. Skerodermie	1	1
Nephritis bei TBC	1	1
Chronische GN (ohne nähere Angaben)	14	21
Fokal sklerosierende GN	2	3
Rapid progressive GN	7	5
Mesangioproliferative GN vom IgA-Typ	1	1
GN bei Goodpasture Syndrom	1	1
Interstitielle Nephritis	12	8
Lupusnephritis	4	3
Nephritis bei M. Wegener	1	1
Toxische Nephritis	1	1

Tabelle 6: Aufschlüsselung der „entzündlichen Glomerulopathien“

In der Gesamtpopulation finden sich unter dem Oberbegriff „entzündliche Glomerulopathien“ am häufigsten die membranöse Glomerulonephritis mit 21% (n=14) Patienten. Weitere häufige Diagnosen sind die interstitiellen Nephritiden mit insgesamt 12% und die Glomerulonephritiden mit 10%.

Ein Fünftel der entzündlichen Glomerulopathien sind membranöse Glomerulopathien (21%, n=14). Weitere häufige Ursachen sind interstitielle Nephritiden mit insgesamt 12% (n=8), Glomerulonephritiden mit 10% (n=7), minimal change Glomerulonephritiden mit 9% (n=6) und rapid progressive Glomerulonephritiden mit 7% (n=5).

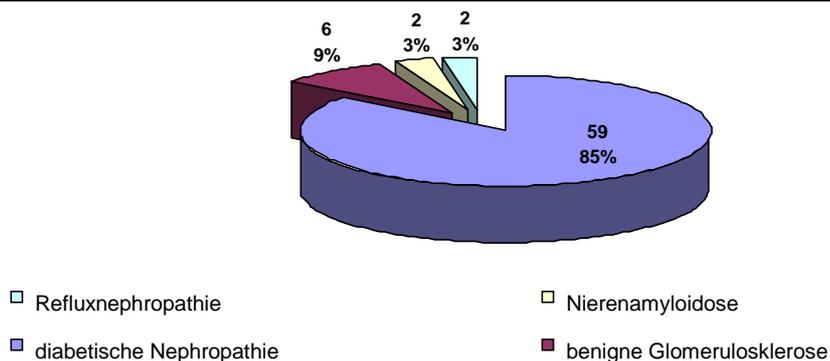


Abbildung 5: Aufschlüsselung der „nicht entzündlichen Glomerulopathien“

Unter dem Oberbegriff „nicht entzündliche Glomerulopathien“ finden sich v.a. Patienten mit diabetischer Nephropathie (85%).

Den weitaus größten Anteil unter den nicht entzündlichen Glomerulopathien in unserem Kollektiv stellt mit 85% (n=59) die diabetische Nephropathie. Daneben verbergen sich unter dem Oberbegriff der „nicht entzündlichen Glomerulopathie“ n=6 Patienten (9%) mit

benigner Glomerulosklerose, n=2 Patienten (3%) mit Nierenamyloidose und n=2 Patienten (3%) mit Refluxnephropathie.

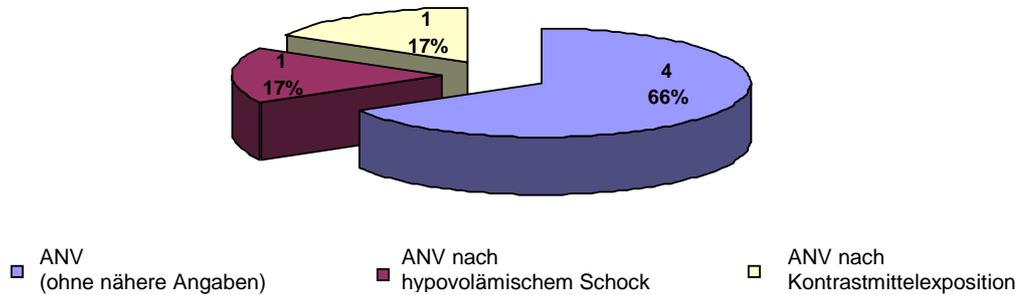


Abbildung 6: Aufschlüsselung der Patienten mit der Diagnose „akutes Nierenversagen“

In der Gesamtpopulation finden sich n=4 Patienten (66%) mit einem ANV o.n.A, n=1 Patient (17%) mit einem ANV nach hypovolämischem Schock und n=1 Patient (17%) mit ANV nach Kontrastmittelexposition.

Leider konnte in 4 von 6 Fällen keine nähere Information über die Ursache des akuten Nierenversagens ausfindig gemacht werden.

Wie oben erwähnt, beinhaltet die Gruppe der chronischen Dialysepatienten (Subgruppe 1) keine Patienten, die im Rahmen eines akuten Nierenversagens dialysepflichtig wurden. Dadurch ergibt sich folgende leichte Verschiebung der einzelnen Anteile der Grunderkrankungen an den „renalen Diagnosen“ der Grundgesamtheit der Subgruppe 1 (➔ Tab. 7).

Entzündliche GN	Prozent (%)	Anzahl (n)
diabetische Nephropathie	28	55
unbekannte Genese	16	32
Zystennieren o.n.A.	12	23
Lupusnephritis	7	14
chronische GN o.n.A.	5	10
mesangioproliferative GN	5	10
Pyelonephritis	4	7
interstitielle Nephropathie	4	7
IgA Nephropathie	3	6
Nephrektomie o.n.A.	3	5
Schrumpfnieren	2	3
Plasmozytomniere	2	3
membranöse GN	2	3
akutes Nierenversagen o.n.A.	1	2
Nierencarcinom	1	2
Nierenamyloidose	1	2

Tabelle 7: Aufschlüsselung der „nicht entzündlichen Glomerulopathien“

Entzündliche GN	Prozent (%)	Anzahl (n)
Niereninsuffizienz	1	1
Refluxnephropathie	1	1
Nephritis bei systemischer Sklerodermie	1	1
toxische Nephropathie o.n.A.	1	1
fokal sklerosierende GN	1	1
HWI	1	1
hämolytisch urämisches Syndrom	1	1
interstitielle Fibrose o.n.A.	1	1
nephrotisches Syndrom o.n.A.	1	1
Nephritis bei TBC	1	1
minimal change GN	1	1

Fortsetzung Tabelle 7 : Aufschlüsselung der „nicht entzündlichen Glomerulopathien“

In der Subgruppe 1 findet sich unter dem Oberbegriff „entzündliche Glomerulopathien“ am häufigsten die diabetische Nephropathie mit 28% (n=55). Die Gruppe der chronischen Dialysepatienten enthält keine Patienten, die im Rahmen eines akuten Nierenversagens dialysepflichtig wurden.

In der Subgruppe 1 ist die diabetische Nephropathie mit 28% (n=55) die am häufigsten vertretende renale Diagnose. Häufig ist zudem die Diagnose Niereninsuffizienz, nicht näher klassifiziert, (16%, n=32) und die Diagnose Zystennieren (12%, n=28). Es folgen mit abnehmender Häufigkeit die Lupusnephritis mit 7% (n=14), die chronischen Glomerulonephritiden ohne nähere Angaben und die mesangioproliferative Glomerulonephritis mit jeweils 5% (n=10).

5.1.3 Laborchemische Charakteristika

Die laborchemische Analyse des Homocysteins sowie die der übrigen Blut-Parameter (C-reaktives Protein (CRP), Low density Lipoprotein (LDL), High density Lipoprotein (HDL), Gesamtcholesterin (Chol), Hämoglobin (Hb), Kreatinin (Krea), Harnstoff-N, Phosphat (P) und Parathormon (PTH)) erfolgte im Zentrallabor des Universitätsklinikums Bonn.

Zentraler Analyseparameter in unserer Studie war das Homocystein. In der Gesamtheit der Patienten und auch in der Subgruppe 1 war das Homocystein zumindest leicht erhöht. Dabei ist das mediane Homocystein in der Gesamtpopulation (Gruppe 1) mit 19,8µmol/L (Range 4,05-170,8µmol/L) geringgradig niedriger als das in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten (Subgruppe 1) mit 20,7µmol/L (Range 4,05-170,8µmol/L). Einen Überblick gibt die folgende Tabelle 8 (➔ **Tab. 8**):

	Gesamtpopulation Hcy $\mu\text{mol/L}$	Subgruppe 1 Hcy $\mu\text{mol/L}$
Anzahl	241	195
Mittelwert	22,84	23,4
Standartabweichung	15,17	16
Median	19,8	20,7
Minimum	4,05	4,05
Maximum	170,8	170,8

Tabelle 8: Homocysteinwerte der Gesamtpopulation/Subgruppe

Das mediane Homocystein in der Gesamtpopulation ist mit $19,8\mu\text{mol/L}$ geringgradig niedriger als das in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten mit $20,7\mu\text{mol/L}$.

Die Genese erhöhter Homocysteinwerte im Plasma niereninsuffizienter Patienten ist komplex. Die biochemischen Vorgänge und physiologischen Werte (Normwerte) sind im Abschnitt 3.1.4 (**➔ Abschnitt 3.1.4**) näher erläutert. Trotz aller bisherigen Erkenntnisse bleibt die genaue Ursache der Hyperhomocysteinämie bei Patienten mit ESRD auch heute noch unklar. Diskutiert werden z.B. die reduzierte renale Exkretion oder eine durch Urämietoxine bedingte Inhibition von (Schlüssel-)Enzymen des Homocysteinmetabolismus (Metabolisierungsdefizit).

Betrachtet man die Gesamtheit der laborchemischen Veränderungen der Patienten aller drei Gruppen, sind diese charakteristisch für chronisch Nierenkranke.

Harnpflichtige Substanzen

Harnstoff und Kreatinin waren bei allen Dialysepatienten erwartungsgemäß signifikant erhöht. Dabei findet sich in der Gruppe 1 (Gesamtpopulation) mit $130,5\text{ mg/dL}$ (Range $4,2\text{-}538\text{ mg/dL}$) der höchste mediane Kreatininwert, während der Wert der Subgruppe 1 mit 130 mg/dL (Range $4,2\text{-}352\text{ mg/dL}$) geringgradig niedriger ausfällt. Der mediane Harnstoffwert wies dagegen in der Gesamtpopulation (Gruppe 1) mit $7,9\text{ mg/dL}$ (Range $1,6\text{-}177\text{ mg/dL}$) einen geringeren Wert als in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten (Subgruppe 1) mit $8,41\text{ mg/dL}$ (Range $2,3\text{-}177\text{ mg/dL}$) auf.

C-reaktives Protein (CRP) und Hämoglobin

Erhöhte CRP-Werte kann man in unserer Studie in beiden Gruppen antreffen. Hier zeigt sich mit $11,2\text{ mg/L}$ (Range: $0,03\text{-}224\text{ mg/L}$) der CRP-Wert in der Gruppe 1 am höchsten,

wohingegen die Subgruppe 1 mit 9,4 mg/L (Range: 0,03-224 mg/L) einen tendenziell niedrigeren Wert aufweist.

Das Hämoglobin dagegen ist im Sinne einer Anämie nach Definition der Weltgesundheitsorganisation WHO in allen Gruppen erniedrigt. Dabei ist die Ausprägung der Anämie in der Gesamtpopulation (Gruppe 1) und der chronischen Dialysepatienten (Subgruppe 1) mit jeweils einem Median von 10,3 g/dL (Range: 2,51-22,5 g/dL) identisch.

Knochenstoffwechsel

In unserer Studie findet sich in beiden Patientengruppen eine Hyperphosphatämie auf vergleichbarem Niveau mit medianen Phosphatwerten von 1,83 mmol/L in der Gruppe 1 (Range: 0,45-105 mmol/L) und 1,18 mmol/L in der Subgruppe 1 (Range: 0,45-105 mmol/L).

Auch das im Knochenstoffwechsel regulatorisch wirkenden Parathormon weist im Mittel in allen Patientengruppen Werte im Bereich eines (sekundären) Hyperparathyreodismus auf. Hier findet sich in der Gruppe 1 ein Median von 133,5 ng/L, (Range 1-226,2 ng/L), während die Subgruppe 1 mit einem Median von 133 ng/L (Range 1-226,2 ng/L) geringfügig niedrigere Werte aufweist. Auf die komplexe Pathogenese des PTH-Stoffwechsels wird im Kapitel 6.3.2.4 (**↗ Kap. 6.3.2.4**) eingegangen.

Lipidstoffwechsel

Der Cholesterinwert der Gruppe 1 zeigt einen Median von 166 mg/dL (Range 50-474 mg/dL), das LDL weist einen Medianwert von 90 mg/dL (Range 10,6-898 mg/dL) und das HDL einen Medianwert von 38 mg/dL (Range 10-160 mg/dL) auf. Die Befunde in der Subgruppe 1 weichen nur minimal ab (**↗ Tab. 9** und **10**).

Die nachfolgenden Tabellen 9 und 10 (**↗ Tab. 9** und **10**) geben einen zusammenfassenden Überblick über die statistische Verteilung (Mittelwert, Median, Standardabweichung etc.) der erhobenen laborchemischen Parameter der einzelnen Gruppen wieder.

	CRP mg/L	Chol mg/dL	LDL mg/dL	HDL mg/dL	Hcy μmol/L	PTH ng/L	Hb g/dL	P mmol/L	Harnstoff mg/dL	Krea mg/dL
Anzahl	235	234	209	218	241	214	239	239	240	238
Mittelwert	33,46	171,09	98,98	40,15	22,84	256,63	10,4	2,3	138,51	9,2
Standardabweichung	50,04	54,76	69,73	17,52	15,17	358,61	1,8	6,7	63,81	12,77
Median	11,2	166	90	38	19,8	133,5	10,3	1,83	130,5	7,9
Minimum	0,03	50	10,6	10	4,05	1	2,51	0,45	4,2	1,6
Maximum	224	474	898	160	170,8	226,2	22,5	105	538	177

Tabelle 9: Laborparameter der Gesamtpopulation

Der Tabelle 9 sind die Mediane, Standardabweichungen, Mittelwerte, Minima und Maxima der Gesamtpopulation zu entnehmen. Harnstoff, Kreatinin, Phosphat, PTH und CRP sind erhöht. Hämoglobin ist im Sinne einer Anämie nach Definition der Weltgesundheitsorganisation WHO erniedrigt.

	CRP mg/L	Chol mg/dL	LDL mg/dL	HD L mg/dL	Hcy μmol/L	PTH ng/L	Hb g/dL	P mmol /L	Harnstoff mg/dL	Krea mg/dL
Anzahl	191	190	172	178	195	183	193	193	194	192
Mittelwert	30,5	174,22	95,7	41,5	23,4	269,8	10,4	2,39	133,8	9,79
Standardabweichung	49,5	54,05	41,7	17,2	16	380,7	1,87	7,45	55,8	14,11
Median	9,4	167	90,6	39	20,7	133	10,3	1,84	130	8,41
Minimum	0,03	50	10,6	10	4,05	1	2,51	0,45	4,2	2,3
Maximum	224	474	247,2	160	170,8	226,2	22,5	105	352	177

Tabelle 10: Laborparameter der Subgruppe 1

In Tabelle 10 finden sich äquivalent zur Tabelle 9 die Mediane, Standardabweichungen, Mittelwerte, Minima und Maxima der Subgruppe 1. Harnstoff, Kreatinin, Phosphat, PTH und CRP sind erhöht. Hämoglobin ist im Sinne einer Anämie nach Definition der Weltgesundheitsorganisation WHO erniedrigt.

5.2 Korrelationsanalysen

Um den Einfluss stetiger und nominaler Variablen auf den Homocysteinspiegel in allen drei Gruppen, sowie mögliche Zusammenhänge der einzelnen Parameter untereinander zu untersuchen, wurde mithilfe von Korrelationsanalysen eine Berechnung des Signifikanzniveaus p und des Korrelationskoeffizienten r vorgenommen.

Abhängigkeiten zwischen den bestimmten Homocysteinwerten und nominalen Variablen wie Geschlecht oder bestimmten Erkrankungen, wie z.B. Diabetes oder kardiovaskulären Erkrankungen, wurden mittels Mann-Whitney-Test ("Mann-Whitney-U-Test" oder kurz "U-Test") überprüft. Der Mann-Whitney-Test ist ein Homogenitätstest

und ermöglicht die Überprüfung der statistischen Signifikanz von Unterschieden zwischen unverbundenen, nicht normalverteilten Stichproben.

5.2.1 Korrelationsanalysen der Gesamtpopulation (Gruppe 1)

EINE signifikante Korrelation wurde für Cholesterin und LDL ($p < 0,0001$, $r = 0,439$), Harnstoff und Phosphat ($p < 0,0001$, $r = 0,439$), Gewicht und Kreatinin ($p < 0,0001$, $r = 0,369$), Kreatinin und Phosphat ($p < 0,0001$, $r = 0,335$), sowie zwischen Hb und LDL ($p = 0,0004$, $r = 0,276$) errechnet.

Weniger stark ($r < 0,25$), aber dennoch signifikant ($p < 0,05$), korrelierten Kreatinin und Harnstoff ($p = 0,0026$, $r = 0,238$), Cholesterin und Hb ($p = 0,0044$, $r = 0,225$), PTH und Phosphat ($p = 0,0095$, $r = 0,206$), Gewicht und Harnstoff ($p = 0,0215$, $r = 0,183$), Hb und Alter ($p = 0,0264$, $r = 0,177$), Gewicht und PTH ($p = 0,0275$, $r = 0,176$) sowie PTH und Kreatinin ($p = 0,0102$, $r = 0,204$).

Ein negativer Korrelationskoeffizient findet sich, wenn die Korrelation von Alter mit Kreatinin ($p < 0,0001$, $r = -0,309$), CRP mit Hb ($p = 0,0059$, $r = -0,218$), CRP mit Cholesterin ($p = 0,0097$, $r = 0,205$), oder Alter mit PTH ($p = 0,267$, $r = -0,177$) berechnet wird.

Anschließend wurden die Korrelationsanalysen mit Homocystein durchgeführt. Dabei wurde eine positive Korrelation von Homocystein mit Kreatinin ($p = 0,0441$, $r = 0,161$) und eine negative Korrelation mit CRP ($p = 0,0240$, $r = -0,180$) festgestellt.

Keine signifikante Korrelation wurde dagegen für Homocystein und Harnstoff bzw. mit LDL ($p =$ nicht signifikant, $r = 0,111-0,106$) gefunden.

Alle Ergebnisse der Korrelationsanalysen von Homocystein mit den verschiedenen Laborparametern sind in der folgenden Tabelle 11 (➔ **Tab. 11**) dargestellt.

Korrelation von Homocystein mit	Korrelationskoeffizient r	p-Wert
PTH	0,052	0,5221
Hb	-0,027	0,7416
Kreatinin	0,161	0,0441
Harnstoff	0,111	0,1664
Phosphat	-0,042	0,6031
LDL	0,106	0,1880
Cholesterin	0,135	0,0909
CRP	-0,180	0,0240

Tabelle 11: Korrelationsanalysen Homocystein: Gesamtpopulation

Tabelle 11 zeigt die Korrelationsanalysen von Homocystein. Eine positiv signifikante Korrelation fand sich zwischen Hcy und Kreatinin, eine negativ signifikante Korrelation zwischen Hcy und CRP. Die signifikanten Werte sind hervorgehoben.

Mann-Whitney-U-Tests der Gesamtpopulation

In der Gesamtpopulation (Gruppe 1) konnte keine signifikante Korrelation zwischen Homocystein und dem Geschlecht verzeichnet werden. Auch zwischen Homocystein und ausgewählten Erkrankungen (Diabetes mellitus, KHK oder anderen kardiovaskulären Erkrankungen (CVD)) konnte keine eindeutige Wechselbeziehung festgestellt werden.

Die Irrtumswahrscheinlichkeiten (p-Werte) dieser Korrelationsanalysen sind in der folgenden Tabelle 12 (↗ **Tab. 12**) dargestellt:

Korrelation von Homocystein mit:	p-Wert
Geschlecht (m/w)	0,8507
Diabetes	0,7413
KHK	0,7953
CVD	0,7640

Tabelle 12: Mann-Whitney-Tests, Gruppe 1

In der Gesamtpopulation fand sich keine signifikante Korrelation zwischen Homocystein und den getesteten Parametern (Geschlecht, Diabetes, KHK, CVD).

5.2.2 Korrelationsanalysen der Subgruppe 1

IN der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ finden sich äquivalent zur Gesamtpopulation die stärksten Korrelationen zwischen den Parametern des Lipidstoffwechsels Cholesterin und LDL ($p < 0,0001$, $r = 0,608$), den Nierenretentionsparametern Harnstoff und Phosphat ($p = 0,0005$, $r = 0,450$), Gewicht und Kreatinin ($p = 0,0009$, $r = 0,433$), Größe und Gewicht ($p < 0,0001$, $r = 0,725$), sowie zwischen Kreatinin und Phosphat ($p = 0,0108$, $r = 0,343$).

Schwächere, aber noch signifikante Wechselseitigkeiten finden sich zwischen Größe und Kreatinin ($p = 0,0016$, $r = 0,414$), Cholesterin und Harnstoff ($p = 0,0019$, $r = 0,409$), Alter und LDL ($p = 0,0294$, $r = 0,296$), Größe und Hb ($p = 0,0226$, $r = 0,309$) und PTH und Kreatinin ($p = 0,0359$, $r = 0,286$).

Negative Korrelationskoeffizienten finden sich bei der Korrelation von Alter und Kreatinin ($p = 0,0133$, $r = -0,333$), sowie von LDL und HDL ($p = 0,0494$, $r = -0,268$).

In der Subgruppe 1 findet man, im Gegensatz zur Gesamtpopulation, keine Verbindungen zwischen Hb und LDL ($p = 0,3935$, $r = 0,119$), Kreatinin und Harnstoff ($p = 0,1089$, $r = 0,221$), Cholesterin und Hb ($p = 0,2110$, $r = 0,173$), PTH und Phosphat

($p=0,2575$, $r=0,157$), Gewicht und Harnstoff ($p=0,2526$, $r=0,159$), Hb und Alter ($p=0,3043$, $r=0,143$) und Gewicht und PTH ($p=0,0624$, $r=0,255$) mehr.

Ferner finden sich keinerlei signifikante Korrelationen von Homocystein mit den weiteren untersuchten Parametern, wie in Tabelle 13 (➔ **Tab. 13**) verdeutlicht:

Korrelation von Homocystein mit:	Korrelationskoeffizient r	p-Wert
PTH	0,019	0,8936
Hb	-0,021	0,8786
Kreatinin	0,242	0,0783
Harnstoff	0,216	0,1168
Phosphat	0,098	0,4807
LDL	0,260	0,0571
Cholesterin	0,179	0,1959
CRP	-0,205	0,1371
Albumin	-0,158	0,2546

Tabelle 13: Korrelationsanalysen Homocystein: Subgruppe 1

Es finden sich keine signifikanten Korrelationen zwischen Homocystein und den untersuchten Parametern in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten.

Auswertung der Mann-Whitney-U-Tests der Subgruppe 1

Auch in der Subgruppe 1 kann keine signifikanten Korrelationen zwischen Homocystein und Diabetes mellitus, KHK oder CVD festgestellt werden. Die p-Werte, die mit Hilfe des Mann-Whitney-Test ermittelt wurden, sind in der Tabelle 14 (➔ **Tab. 14**) dargestellt:

Korrelation von Homocystein mit:	p-Wert
Diabetes	0,8671
KHK	0,8550
CVD	0,9660

Tabelle 14: Mann-Whitney-Tests, Subgruppe 1

Es können keine signifikanten Korrelationen zwischen Homocystein und Diabetes mellitus, KHK oder CVD in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten gefunden werden.

5.3 ROC (Receiver Operating Characteristic) – Analyse

Die ROC-Analyse ist eine Signalanalyse mittels "Receiver Operating Characteristic"-Kurven, welche einen Überblick über Sensitivität und Spezifität eines diagnostischen Tests gibt. In ihnen werden für verschiedene Cut-off-points (Grenzwertwerte) Sensitivität und Spezifität gegeneinander aufgetragen. Dabei beschreibt die Sensitivität den Anteil der richtig positiv erkannten Patienten unter allen Kranken, während die

Spezifität den Anteil der richtig negativ erkannten Patienten unter den Nicht-Kranken angibt. Ein Maß für die Güte des Tests ist die Fläche unter der ROC-Kurve (AUC: area under the curve). Die Fläche kann Werte zwischen 0,5 und 1 annehmen, wobei ein höherer Wert die bessere Güte anzeigt.

Unsere bisherigen Ergebnisse wurden jeweils mit dem als oberen Normwert für Gesunde akzeptierten Werte ermittelt. Die Werte unserer Dialysepatienten lagen jedoch häufig außerhalb dieser Normwerte, so dass als Voraussetzung für eine multivariate Analyse mithilfe der ROC-Analyse ein „realistischer“ Grenzwert (Cut-off-point) für die höchste Sensitivität gesucht wurde.

In der vorliegenden Arbeit wurden ROC-Analysen zur Ermittlung der Cut-off-Werte für Alter, C-reatives Protein, Gewicht, Homocystein, Parathormon, Hämoglobin, Phosphat und Cholesterin sowohl in der Gruppe 1 „Gesamtpopulation“ (n = 241) als auch in der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ (n=195) durchgeführt. Als Endpunkt wurde jeweils das Ereignis „Tod“ gewählt.

5.3.1 ROC-Analyse des laborchemischen Parameter Homocystein

In der Gruppe 1 „Gesamtpopulation“ ergab sich in der ROC-Analyse der Grenzwert von Homocystein von $\leq 33,1 \mu\text{mol/L}$. Dieser Cut-off-point weist eine Sensitivität von 92% und eine Spezifität von 18% auf. Das 95%-Konfidenzintervall der Fläche unter der Kurve (Area under Curve (AUC) = 0,504) erstreckt sich von 0,439-0,569. Die Abbildung 7 (**➔ Abb. 7**) zeigt den zugehörigen Graphen 2.

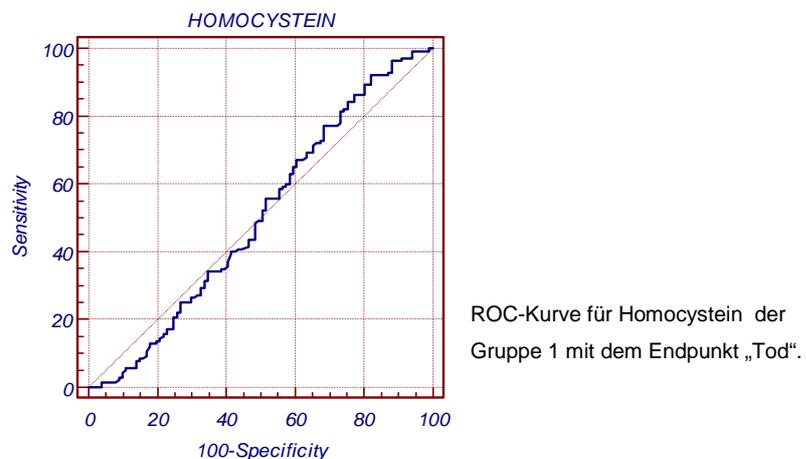
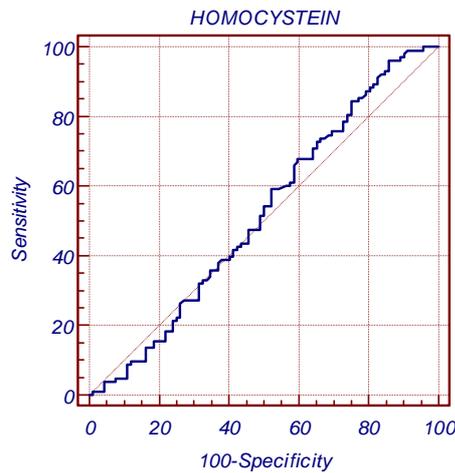


Abbildung 7: ROC-Kurve Gesamtpopulation – Cut-off-point Homocystein $\leq 33,1 \mu\text{mol/L}$

Hier ergibt sich die Sensitivität von 92%, die Spezifität von 18% und ein 95%-Konfidenzintervall von 0,439-0,569.

In der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ findet sich ein Cut-off-point von $>9,5\mu\text{mol/L}$ für Homocystein mit einer Sensitivität von 96% und einer Spezifität von 14%. Das 95%-Konfidenzintervall (AUC=0,520) beträgt von 0,447-0,592. Die folgende Grafik 8 (➤ **Abb. 8**) stellt die ROC-Kurve des Homocysteins in der Subgruppe 1 dar.



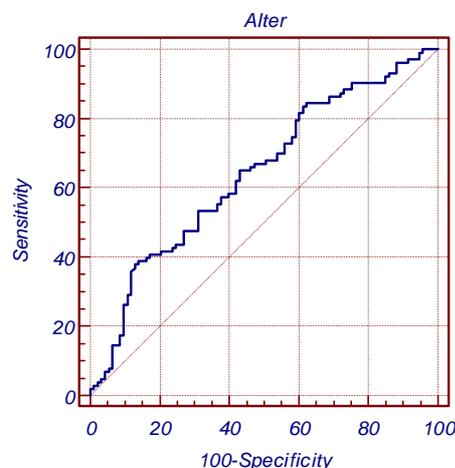
ROC-Kurve für Homocystein der Subgruppe 1 mit dem Endpunkt „Tod“.

Abbildung 8: ROC-Kurve Subgruppe 1 – Cut-off-point Homocystein $>9,5\mu\text{mol/L}$

Bei einem Cut-off-point von $>9,5\mu\text{mol/L}$ für Homocystein errechnet sich eine Sensitivität von 96% und eine Spezifität von 14%. Das 95%-Konfidenzintervall beträgt von 0,447-0,592.

5.3.2 ROC-Analysen des Parameters Alter

IN Vorbereitung der Multivariaten Analyse wurden auch Korrelationsanalysen hinsichtlich des Alters durchgeführt. Als Grenzpunkte haben sich durch die ROC-Analysen die Werte $>68,6$ Jahre in der Gesamtpopulation und $>70,1$ Jahre in der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ für den Endpunkt Tod ergeben (➤ **Abb. 9** und **10**).



ROC-Kurve für „Alter“ der Gesamtpopulation mit dem Endpunkt „Tod“.

Abbildung 9: ROC-Kurve Gesamtpopulation – Cut-off-Point Alter $>68,6$ Jahre

Die Sensitivität beträgt 44%, die Spezifität 81% bei einem 95%-Konfidenzintervall von 0,599 – 0,722.

Die Sensitivität des ermittelten Cut-off-points der ROC-Kurve für das Alter der Abbildung 9 (Gesamtpopulation) (**➔ Abb. 9**) beträgt 44% und die Spezifität 81% bei einem 95%-Konfidenzintervall von 0,599 – 0,722 (AUC=0,663).

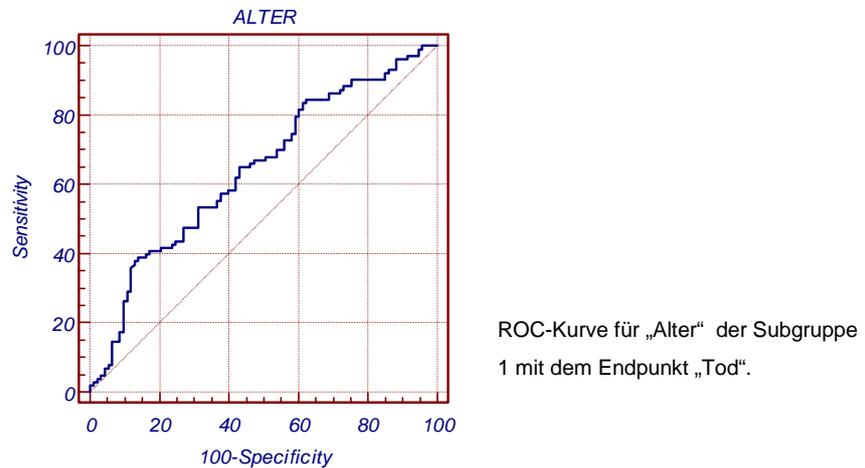


Abbildung 10: ROC-Kurve Subgruppe 1 – Cut-off-point Alter >70,1 Jahre

Die Sensitivität des ermittelten Grenzpunktes der ROC-Kurve der chronischen Dialysepatienten liegt bei 37%, die Spezifität bei 87% und das 95%-Konfidenzintervall bei 0,571 – 0,710.

Im Vergleich dazu liegt die Sensitivität des ermittelten Grenzpunktes der ROC-Kurve der Abbildung 10 (chronische Dialysepatienten) (**➔ Abb. 10**) bei 37%, die Spezifität bei 87% und das 95%-Konfidenzintervall bei 0,571 – 0,710 (AUC=0,643).

5.3.3 ROC-Analysen der laborchemischen Parameter CRP, PTH, Hb, Phosphat und Cholesterin

WEITERE Grenzwertpunkte wurden für die laborchemischen Parameter CRP, PTH, Hb, Phosphat und Cholesterin festgelegt. Hier finden sich in der Gruppe 1 „Gesamtpopulation“ ein Cut-off-point für CRP von >1mg/L und für PTH von ≤532ng/L, während man in der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ ein CRP >143mg/L und ein PTH <532ng/L als Grenzwerte definieren kann. Sowohl in Gruppe 1 als auch in der Subgruppe 1 ergeben sich für die Parameter Hb mit >10,8g/dL, Phosphat mit >2mmol/L und Cholesterin mit >230mg/dL jeweils gleiche Ergebnisse für die Cut-off-points, während sich die entsprechenden Werte für Sensitivität und Spezifität jeweils unterscheiden. Die Ergebnisse können den folgenden Tabellen 15 und 16 (**➔ Tab. 15, 16**) mit den entsprechenden Werten für Sensitivität und Spezifität entnommen werden:

Parameter	Cut-off-point	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
CRP	> 1 mg/L	88	25
PTH	≤ 532 ng/L	92	16
Hb	> 10,8 g/dL	41	67
Phosphat	> 2 mmol/L	43	70
Cholesterin	> 230 mg/dL	15	93

Tabelle 15: Cut-Off-Points: Gruppe 1 „Gesamtpopulation“

Tabelle 15 können die Grenzwertpunkte für die laborchemischen Parameter CRP, PTH, Hb, Phosphat und Cholesterin mit entsprechender Sensitivität und Spezifität der Gruppe 1 entnommen werden.

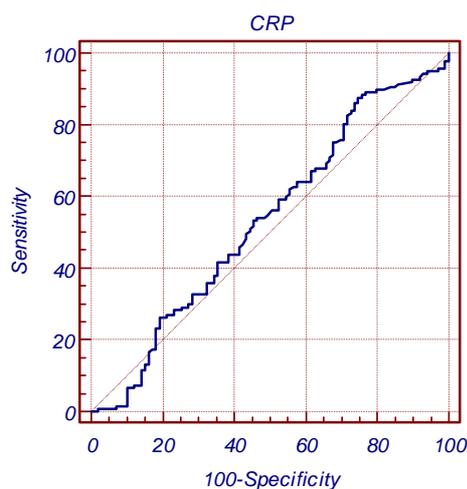
Parameter	Cut-off-point	Sensitivität (%)	Spezifität (%)
CRP	> 143 mg/L	99	13
PTH	< 532 ng/L	93,4	13,1
Hb	> 10,8 g/dL	45	67
Phosphat	> 2 mmol/L	48	68,4
Cholesterin	> 230 mg/dL	18	92

Tabelle 16: Cut-Off-Points: Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“

Tabelle 16 zeigt die Grenzwertpunkte für die laborchemischen Parameter CRP, PTH, Hb, Phosphat und Cholesterin mit entsprechender Sensitivität und Spezifität der Subgruppe 1 auf.

In den folgenden Graphen 11 und 12 (➔ **Abb. 11, 12**) sind die ROC-Kurven der Parameter CRP und Phosphat der Gesamtpopulation und der Gruppe der chronischen Dialysepatienten dargestellt:

Laborchemischer Parameter CRP

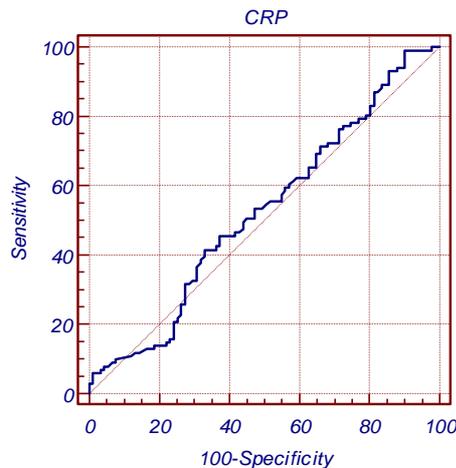


ROC-Kurve für „CRP“ der Gesamtpopulation mit dem Endpunkt „Tod“.

Abbildung 11: ROC-Kurve Gesamtpopulation – Cut-off-point CRP >1mg/L

In der Gruppe 1 beträgt die Sensitivität für den Cut-off-point CRP >1mg/L 88%, die Spezifität 25%. Das 95%-Konfidenzintervalle erstreckt sich von 0,467-0,598.

Die Sensitivität beträgt in der Gesamtpopulation für den Cut-off-point CRP >1mg/L 88%, während die Spezifität 25% beträgt. Dagegen findet man in der Subgruppe 1 eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 13%, welche in der folgenden Darstellung 12 (➔ **Abb. 12**) grafisch aufgezeigt wird. Es ergeben sich 95%-Konfidenzintervalle von 0,467-0,598 mit einer AUC von 0,533 für die Gesamtpopulation beziehungsweise von 0,451-0,596 mit einer AUC= 0,524 für die Subgruppe 1.

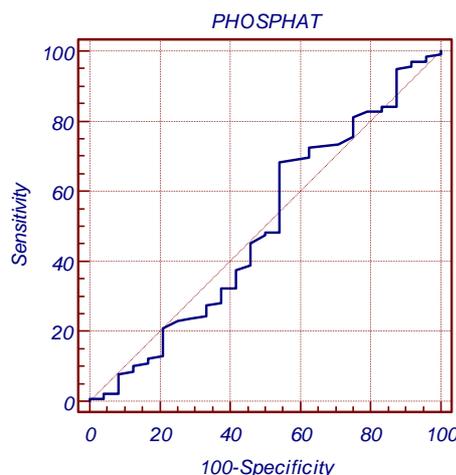


ROC-Kurve für „CRP“
der Subgruppe 1 mit dem
Endpunkt „Tod“.

Abbildung 12: ROC-Kurve Subgruppe 1 – Cut-off-point CRP >143mg/L

In der Subgruppe 1 findet sich eine Sensitivität von 99% und eine Spezifität von 13%. Das 95%-Konfidenzintervall erstreckt sich von 0,451-0,596 mit einer AUC von 0,524.

Laborchemischer Parameter Phosphat



ROC-Kurve für „Phosphat“ der
Gesamtpopulation mit dem
Endpunkt „Tod“.

Abbildung 13: ROC-Kurve Gesamtpopulation – Cut-off-point Phosphat >2mmol/L

In der Gesamtpopulation findet sich für Phosphat bei einem Cut-off-point von <2mmol/L eine Sensitivität von 43%, eine Spezifität von 70% und ein 95%-Konfidenzintervall von 0,513-0,642.

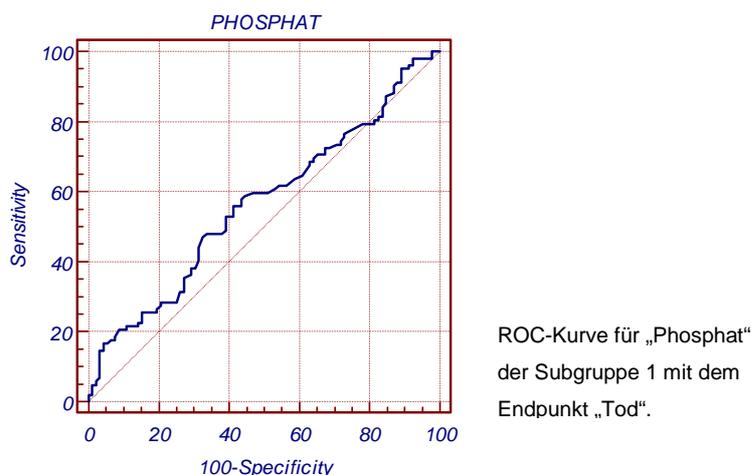


Abbildung 14: ROC-Kurve Subgruppe 1 – Cut-off-point Phosphat >2mmol/L

Bei einem Grenzwertpunkt für Phosphat von >2mmol/L in der Subgruppe 1 ist eine Sensitivität von 48% und eine Spezifität von 68,4% gegeben.

Bei gleichen Grenzwertpunkten für Phosphat von >2mmol/L in der Gruppe 1 und der Subgruppe 1 ist in der Gesamtpopulation eine Sensitivität von 43%, eine Spezifität von 70% und ein 95%-Konfidenzintervall von 0,513-0,642 (AUC=0,579) zu finden (➔ **Abb. 13**), während bei den chronischen Dialysepatienten eine Sensitivität von 48% und eine Spezifität von 68,4% bestehen (➔ **Abb. 14**).

5.4 Univariate Analyse

Im Studienzeitraum verstarben insgesamt 140 (58%) der eingeschlossenen Patienten. Dabei wurde die genaue Todesursache durch Fragebögen durch die behandelnden Ärzte evaluiert, wobei nur bei 27 (11%) der Patienten eine definitive Todesursache angegeben werden konnte. So verstarben z.B. 3% der Patienten (n=4) im Rahmen eines Apoplexes, 3% (n=4) an plötzlichem Herztod und 3% (n=4) in der Sepsis. Weitere Todesursachen werden in der folgenden Abbildung zusammenfassend wieder gegeben (➔ **Abb. 15**).

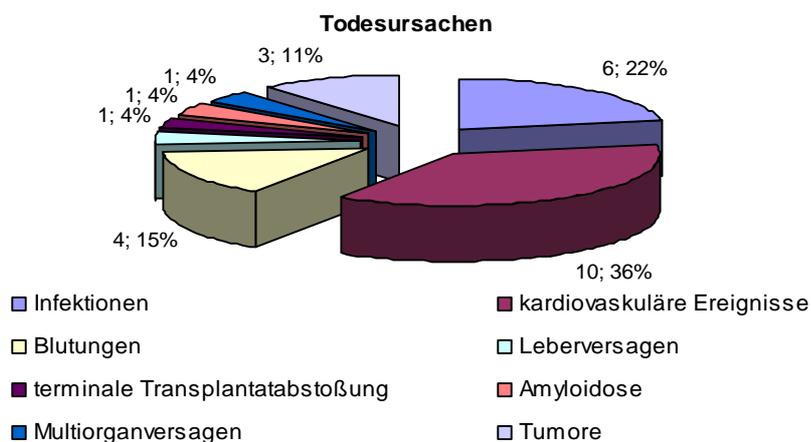


Abbildung 15: Todesursachen Gesamtpopulation

Abbildung 15 zeigt die Todesursachen der Patienten der Gruppe 1 auf, wobei die kardiovaskulären Ereignisse mit 36% im Vordergrund stehen.

Mithilfe der Univarianzanalyse wurde die Signifikanz definierter Risikofaktoren für das Ereignis „Tod“ ermittelt. Als Variablen (Risikofaktoren) wurden neben dem Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH mit den zuvor berechneten Grenzwerten (**↗ Kap. 5.3**) eingesetzt.

Untersucht wurden die Gruppe 1 „Gesamtpopulation“ (n = 241) sowie die Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ (n=195). Als Endpunkt wurde jeweils das Ereignis „Tod“ gewählt.

Erhoben wurden für die jeweiligen Prädiktoren (Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH) jeweils das relative Risiko, das 95%-Konfidenzintervall, sowie die Signifikanz für das Überleben der Patienten. Als höchst signifikante Variable wurde in der Gruppe 1 „Gesamtpopulation“ ein Alter >68,6 Jahre (p= 0,000) und ein bereits nur leicht erhöhtes CRP >1mg/L (p=0,003), ein erhöhtes Phosphat (>2mmol/L) (p=0,020) ermittelt. Dagegen lagen Homocystein ≤33,1µmol/L (p=0,546), Hämoglobin >10,8g/dl (p=0,415), Cholesterin >230mg/dL (p=0,676) und Parathormon ≤532ng/L (p=0,157) nicht im Signifikanzbereich (p ≤0,05). Das bedeutet, dass unserer Analyse zufolge sich mittels der oben genannten Grenzwerte kein signifikanter Einfluss auf das Überleben zeigen lässt. Siehe auch Tabelle 17 (**↗ Tab. 17**).

Variable	Cut-off-point	Relatives Risiko	95%-Konfidenzintervall	Signifikanz
Homocystein	≤ 33,1 µmol/L	0,813	0,416 – 1,590	0,564
Alter	> 68,5 Jahre	2,464	1,667 – 3,642	0,000
CRP	> 1 mg/L	2,367	1,347 – 4,159	0,003
PTH	≤ 532 ng/L	1,603	0,834 – 3,079	0,157
Hb	> 10,8 g/dL	1,173	0,799 – 1,722	0,415
Phosphat	> 2 mmol/L	1,568	1,074 – 2,287	0,020
Cholesterin	> 230 mg/dL	1,673	0,962 – 2,909	0,676

Tabelle 17: Univariate Analyse - Gruppe 1 „Gesamtpopulation“

Neben den Signifikanzniveaus für das Überleben der Patienten weist die Tabelle 17 für die jeweiligen Prädiktoren (Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH) jeweils das relative Risiko und das 95%-Konfidenzintervall aus. Als höchst signifikante Variable wurde in der Gruppe 1 ein Alter >68,6 Jahre, ein leicht erhöhtes CRP (>1mg/L) und ein erhöhtes Phosphat (>2mmol/L) ermittelt.

In der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ stellten sich ein Alter von >70,1 Jahren mit einer Signifikanz von $p=0,001$, ein Phosphat von >2mmol/L mit einer Signifikanz von $p=0,016$ und ein Cholesterin von >230mg/dL mit einer Signifikanz von $p=0,044$ als Risikofaktoren heraus. Auch hier finden sich die entsprechenden relativen Risiken und die 95%-Konfidenzintervalle in der Tabelle 18 (➔ **Tab. 18**) zusammengefasst wieder.

Variable	Cut-off-point	Relatives Risiko	Signifikanz
Homocystein	> 9,5 µmol/L	2,141	0,144
Alter	> 70,1 Jahre	2,049	0,001
CRP	> 143 mg/L	0,315	0,111
PTH	< 532 ng/L	1,707	0,178
Hb	> 10,8 g/dL	0,957	0,819
Phosphat	> 2 mmol/L	1,705	0,016
Cholesterin	> 230 mg/dL	1,820	0,044

Tabelle 18: Univariate Analyse - Subgruppe 1 „alle chronischen Dialysepatienten“ Tabelle 18 beschreibt die jeweiligen Cut-off-pionts, das relative Risiko und die Signifikanz der Prädiktoren (Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH). In der Gruppe der chronischen Dialysepatienten stellen sich das Alter, das Phosphat und das Cholesterin als signifikante Variablen dar.

Nicht im Signifikanzbereich liegen in der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ Cutt-off-Werte von einem Homocystein >9,5µmol/L ($p=0,144$), einem Hämoglobin >10,8g/dl ($p=0,819$), einem CRP >143mg/L ($p=0,111$) und einem Parathormon <532ng/L ($p=0,178$).

5.5 Multivariate Analyse

DURCH die Univarianzanalyse konnten mehrere Risikofaktoren hinsichtlich des Überlebens von Dialysepatienten ermittelt werden. Mithilfe einer Multivarianzanalyse soll nun die Unabhängigkeit der Risikofaktoren geprüft werden.

5.5.1 Cox-Regression für die Gesamtpopulation

DIE untersuchte Kohorte umfasst die Gesamtpopulation (Gruppe 1) mit n=241 Patienten. Als Endpunkt wurde das Ereignis „Tod“ gewählt. Als höchst signifikante Variablen stellten sich in der Gesamtpopulation das Alter mit einer Signifikanz $p=0,000$, das CRP mit einer Signifikanz von $p=0,004$ und das Phosphat mit einer Signifikanz von $p=0,011$ dar. Alle drei Variablen können also eindeutig als Risikofaktoren in Bezug auf das Überleben der Patienten identifiziert werden. Weiterhin wurden für diese Risikofaktoren das relative Risiko, sowie das 95%-Konfidenzintervall berechnet. Diese können der folgenden Tabelle 19 (↗ **Tab. 19**) entnommen werden.

Variable	Cut-off-point	Relatives Risiko	95%-Konfidenzintervall	Signifikanz
Alter	> 68,5 Jahre	2,503	1,708 – 3,668	0,000
CRP	> 1 mg/L	2,237	1,286 – 3,890	0,004
Phosphat	> 2 mmol/L	1,630	1,120 – 2,372	0,011

Tabelle 19: Multivariate Analyse - Gruppe 1 „Gesamtpopulation“

Tabelle 19 zeigt die Cut-off-points, das relative Risiko, die 95%-Konfidenzintervalle und die Signifikanz der identifizierten Risikofaktoren (Alter, CRP und Phosphat) der Gesamtpopulation.

Nicht im Signifikanzbereich lagen auch bei der Multivarianzanalyse Homocystein $\leq 33,1 \mu\text{mol/L}$, Hämoglobin $> 10,8 \text{g/dl}$, Cholesterin $> 230 \text{mg/dL}$ und Parathormon $\leq 532 \text{ng/L}$.

5.5.2 Cox-Regression für die Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“

DIE zweite untersuchte Kohorte umfasst die Gruppe der „chronischen Dialysepatienten“ mit n=195 Patienten. Als Endpunkt wurde auch hier das Ereignis „Tod“ gewählt.

In der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ konnten, wie bereits in der Univariaten Analyse, das Alter $> 70,1$ Jahre, Phosphat $> 2 \text{mmol/L}$ und das Cholesterin $> 230 \text{mg/dL}$ als signifikante Risikofaktoren erkannt werden. Die entsprechenden

Signifikanzen, die relativen Risiken und die 95%-Konfidenzintervalle sind in der Tabelle 20 (➔ **Tab. 20**) zusammengefasst.

Variable	Cut-off-point	Relatives Risiko	95%-Konfidenzintervall	Signifikanz
Alter	> 70,1 Jahre	2,087	1,350 – 3,225	0,001
Phosphat	> 2 mmol/L	1,677	1,089 – 2,581	0,019
Cholesterin	> 230 mg/dL	2,018	1,132 -3,596	0,017

Tabelle 20: Multivariate Analyse - Subgruppe 1 „alle chronischen Dialysepatienten“

Tabelle 20 zeigt die Cut-off-points, das relative Risiko, die 95%-Konfidenzintervalle und die Signifikanz der identifizierten Risikofaktoren (Alter, CRP und Cholesterin) der Gruppe der chronischen Dialysepatienten.

6. Diskussion

6.1 Studiendesign

BEI der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine retrospektive Datenanalyse. Grundsätzlich handelt es sich bei retrospektiven Studien um nicht-interventionelle Studien, welche designbedingt einige bedeutende erkenntnistheoretische Nachteile gegenüber prospektiven Studien haben:

- trotz umfangreicher Datenerhebung, ergeben sich unvollständige Beobachtungszeiträume
- Laborbefunde wurden nicht nach einem festen Schema, sondern nach dem klinischen Bedarf erhoben
- es können keine anerkannten Beweise, sondern nur eine empirische Evidenz zur Stärkung von Hypothesen erbracht werden
- die Richtung der Kausalzusammenhänge kann nicht endgültig geklärt werden - wie auch die Zahl der schon erschienen Studien zu diesem Thema verdeutlicht
- die Datenqualität kann nicht beeinflusst werden, daher sind Fehler aufgrund der zum Teil älteren Unterlagen nicht auszuschließen
- es bestand kein Einfluss auf die Stichprobenauswahl

Das Ziel der vorliegenden Promotionsarbeit ist die Erfassung der prognostischen Wertigkeit von Homocystein für das Überleben von Dialysepatienten des Dialysezentrums der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn.

Die Hyperhomocysteinämie ist durch Erhöhung des oxidativen Stresses und Erniedrigung der endothelialen Relaxation ein Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen in der Gesamtbevölkerung (Jin et al. 2007). Ob bei Patienten mit ESRD diese Aussage auch zutrifft oder eine entgegengesetzte Epidemiologie besteht, wird in diversen Studien (und auch in dieser Arbeit) kontrovers diskutiert.

Eine positive Korrelation erhöhter Homocysteinspiegel mit einem verlängerten Überleben von Dialysepatienten wird z.B. in dem Review von KALANTAR-ZADEH ET AL. (2003) und in der Studie von SULIMAN ET AL. (2007) berichtet. Beide Forschungsgruppen diskutieren, dass höhere Homocysteinwerte mit weniger Inflammationen und Malnutrition einhergehen, was den Überlebensvorteil der Patienten mit höheren Hcy-Werten ihrer Studien erklären könnte.

Die Studien von BOSTOM ET AL. (1997), BUCCIANTI ET AL. (2004) und MOUSTRAPHA ET AL. (1998) und andere zeigen dagegen einen negativen Einfluss erhöhter Homocysteinspiegel auf das Gesamtüberleben von Dialysepatienten. Die schlechtere Prognose der Dialysepatienten mit Hyperhomocysteinämie führen diese Autoren auf das deutlich erhöhte kardiovaskuläre Risiko der urämischen Patienten zurück.

In Abgrenzung diskutieren BUSCH ET AL. (2004), dass nicht der Homocysteinwert, sondern vielmehr konventionelle Risikofaktoren wie Diabetes, ESRD und erhöhte laborchemische Entzündungswerte wie CRP eine viel gewichtigere Rolle auf das kardiovaskuläre Outcome bei Patienten mit chronischen Nierenerkrankungen und damit auf die Überlebenswahrscheinlichkeit haben als Hcy. Hcy stehe in keinem Zusammenhang mit einer erhöhten Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse und kann nach Meinung der Autoren aus diesem Grund nicht als Prognosefaktor herangezogen werden.

Diese kontroverse Studienlage soll im folgenden dargestellt, diskutiert und um die Bonner Daten ergänzt werden, um ggf. neue Evidenzen für die zukünftige Hcy-assoziierte Therapie und Prognose von Dialysepatienten zu erlangen.

Hierzu wurden laborchemische und klinische Daten von 2893 Dialysepatienten, die sich im Zeitraum 1999 bis 2006 in nephrologischer Behandlung in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn befanden, gescreent. Nach Beachtung der Ein- und Ausschlusskriterien konnten letztendlich 241 Patienten in die retrospektive

Auswertung aufgenommen werden (**↗ Kap. 4.1**). Der maximale Beobachtungszeitraum (Follow-up) beträgt 6,56 Jahre. Vergleichbare Studien zu diesem Thema liegen vor. Hier finden sich aber wesentlich kürzere Beobachtungszeiträume.

6.2 Epidemiologische Faktoren

DAS mediane Alter unserer Patienten zum Zeitpunkt der Datenerhebung beträgt in der Gesamtpopulation (Gruppe1) 62,84 Jahre (Range 22,95-88,72 Jahre). Damit sind unsere Patienten im Schnitt etwa 3 Jahre jünger als der Durchschnitt aller Dialysepatienten in Deutschland (Alter im Median 66 Jahre; Quasi Niere Bericht 2005). Da sich im Jahre 1996 aber noch ein Schnitt von 59 Jahren fand und das Alter seitdem ansteigt, spiegeln unsere Zahlen (1999-2006) die deutschen Altersdurchschnittswerte gut wieder.

Chronische Dialysepatienten (Subgruppe 1) zeigen ein medianes Alter von 61,63 Jahre (Range 22,95-86,28 Jahre). Da statistisch kein Unterschied zwischen dem Patientenalter der genannten Gruppen besteht, ist von einem vergleichbaren Altersdurchschnitt der Patienten beider Gruppen auszugehen.

Insgesamt ist das mediane Alter mit dem der Patienten aus den Studien von BUCCIANTI ET AL. (2004) und MOUSTAPHA ET AL. (1998), die einen negativen Einfluss von Hcy postulieren, vergleichbar. In der Studie von SULIMAN ET AL. (2007), in welcher eine Hyperhomocysteinämie mit einem besseren Outcome assoziiert wird, wird dagegen ein deutlich jüngeres Patientenkollektiv betrachtet (medianes Alter 54 Jahre; Range 22-70 Jahre).

Der Tabelle 5 im Abschnitt 5.1.1 (**↗ Abschnitt 5.1.1, Tab. 5**) ist zu entnehmen, dass in beiden Gruppen das männliche Geschlecht leicht dominiert, sich in der Gewichtung in allen Gruppen aber nicht wesentlich unterscheidet. Die Verteilung ist wie folgt: in der Gesamtpopulation 136 Männer (gesamt 241, 56%) und in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten 111 männliche Patienten (gesamt 195, 57%).

Laut QUASI-NIERE Bericht nimmt der Anteil der Männer im deutschen Dialyseprogramm seit Jahren leicht zu (1999: 58%; 2005: 60%). Damit entsprechen die Bonner Daten ungefähr der Geschlechterverteilung im deutschen Gesamtdialysekollektiv.

Diverse Arbeiten unterstreichen die Dominanz der männlichen Dialysepatienten. So findet man in der Arbeit von BUSCH ET AL. (2004) von insgesamt 232 Patienten 150

männliche Patienten, in den Studien von SULIMAN ET AL. (2000) eine Geschlechterverteilung von m : w = 71 : 46 und von SULIMAN ET AL. (2004) mit m : w = 157 : 93. Buccianti ET AL. (2004) findet ein Verhältnis von Männern zu Frauen von 47 : 30 und in die Studie von MOUSTAPHA ET AL. (1998) wurden 93 männliche und 74 weibliche Patienten in die Analyse aufgenommen, so dass auch hier das männliche Geschlecht eindeutig überwiegt.

6.3 Diagnostik

6.3.1 Diagnostik der „renalen“ Grunderkrankungen

Die häufigste renale Grunderkrankung in der Gesamtpopulation (Gruppe 1) sind die nicht entzündlichen Glomerulopathien (n=74 Patienten (30%)). Diese wiederum sind mit 85% hauptsächlich durch eine diabetische Nephropathie bedingt (n=59). Entzündliche Glomerulopathien finden sich dagegen in dieser Gruppe nur bei 28% der Patienten (n=67), wovon ein großer Teil, nämlich 21% (n=14), durch membranöse Glomerulopathien verursacht sind. Häufige Ursachen stellen jedoch auch die interstitiellen Nephritiden mit insgesamt 12% (n=8), Glomerulonephritiden mit 10% (n=7), minimal change Glomerulonephritiden mit 9% (n=6) und rapid progressive Glomerulonephritiden mit 7% (n=5) dar.

Vergleicht man diese Daten mit der Diagnoseverteilung bei Therapiebeginn aller erfassten Dialysepatienten im Rahmen des von FREI UND SCHÖBER-HALSTENBERG verfassten Berichts über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2005/2006 (Jahresvergleiche 1995-2005), kann man feststellen, dass auch hier die Hauptursache der Niereninsuffizienz in der Grunderkrankung Diabetes mellitus (Typ II: 32%; Typ I: 3 %; n=6720 Patienten) zu finden ist. Entzündliche Nephritiden (zusammengesetzt aus interstitiellen - und glomerulären Nephritiden - keine Trennung zwischen entzündlicher und nicht entzündlicher GN) finden sich hier nur bei 21% der Patienten. Mit 23% nehmen in diesem Bericht auch die vaskulären Nephritiden einen großen Anteil der ESRD-Ursachen ein. Prüft man die Diagnoseverteilung über den Erhebungsraum 1995 bis 2005, so zeigt sich, dass der Anteil der diabetisch bedingten Nephropathien an allen ESRD seit 1995 kontinuierlich gestiegen ist und sich seit 2003 etwa auf dem heutigen Niveau bewegt. Auch der Anteil der durch Hypertonie bedingten Nephrosklerose steigt, wohingegen der Anteil der Nephritiden (interstitielle und

Glomerulonephritiden) dementsprechend sinkt und nun einen steady state erreicht zu haben scheint. Andere Ursachen, die FREI ET AL. in ihren Quasi-Niere Jahresberichten berücksichtigen, wie zum Beispiel Zystennieren, Systemerkrankungen (unter anderem Lupusnephritis, Goodpasture-Syndrom, Monoklonale Gammopathien, Amyloidose, Vaskulitiden (Mikroskopische Polyangiitis, Wegener'sche Granulomatose, Churg-Strauss-Syndrom), Anti-Phospholipid-Syndrom, Hämolytisch-urämisches Syndrom, Thrombotisch-thrombozytopenische Purpura) oder angeborene Erkrankungen halten sich seit 1995 auf stabilen Level (Frei et al., 2005/2006). Der beschriebene sinkende Anteil der chronischen Nierenerkrankungen durch Nephritiden ist sicherlich auch auf bessere Therapiemöglichkeiten zurückzuführen. Die Zunahme der Nierenschädigungen durch arterielle Hypertonie und Diabetes mellitus ist durch steigende Zahlen der Patienten mit metabolischen Syndrom, einer Kombination aus Adipositas, Fettstoffwechselstörung, gestörter Glukoseverwertungsstörung und Hypertonie, verständlich zu erklären (Wahba et al. 2007).

6.3.2 Laborchemische Charakteristika

CHRONISCHES Nierenversagen bezeichnet das Terminal- oder Endstadium einer chronischen Nierenkrankheit, das gekennzeichnet ist durch eine Nierenleistung von 15% der Norm oder weniger, entsprechend einer glomerulären Filtrationsrate (GFR) von unter 15ml/min/1,73m² und der Notwendigkeit einer Nierenersatztherapie in Form einer Dialysebehandlung oder Nierentransplantation (K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease. 2002). Durch die verminderte Ausscheidungs- und Filtrationsleistung der Nieren lassen sich laborchemische Veränderungen im Blut nachweisen, die entweder durch eine Akkumulation der sog. Retentionsparameter (z.B. Kreatinin) und/oder durch eine Verminderung der in der Niere gebildeten Stoffe (z.B. Erythropoetin) und/oder durch die urämiebedingte chronische Entzündungsreaktion des Körpers zustande kommen.

Betrachtet man die Gesamtheit der laborchemischen Veränderungen der Patienten unserer Studie sind diese gut mit dem Terminalstadium einer chronischen Nierenerkrankung vereinbar. Zur besseren Beurteilbarkeit bzw. zur Verdeutlichung der Zusammenhänge wird im Folgenden u.a. auf die pathophysiologische Bedeutung der einzelnen betrachteten Laborparameter eingegangen.

6.3.2.1 Harnpflichtige Substanzen

DIE Retentionsparameter Harnstoff - ein Endprodukt des Stoffwechsels von Stickstoffverbindungen - und Kreatinin - aus dem Muskelstoffwechsel – dienen als Marker der Nierenfunktion.

Harnstoff wird in der Leber im Rahmen des Harnstoffzyklus beim Aminosäureabbau (zur Vermeidung der Bildung von Ammoniak) gebildet und über die Nieren ausgeschieden. Der Harnstoffspiegel ist also auch davon abhängig, wie sich der Mensch ernährt oder ob er sich gerade in einer katabolen (so wie die meisten Dialysepatienten) oder anabolen Stoffwechsellage befindet.

Kreatinin dagegen ist ein Abbauprodukt des in der Muskulatur vorkommenden Kreatin. Der Kreatininwert hängt damit auch von der Muskelmasse, aber auch von Faktoren wie körperliche Aktivität, Lebensalter und Geschlecht ab. Bei Nierenschädigung sind beide Parameter erhöht, dementsprechend ist der Harnstoff-Kreatinin-Quotient im Allgemeinen nicht erhöht.

In unserer Analyse sind beide Parameter erwartungsgemäß bei allen Dialysepatienten signifikant erhöht (Kreatinin: Gruppe 1: Median 130,5mg/dL (Range 4,2-538mg/dL); Subgruppe 1: Median 130mg/dL (Range 4,2-352mg/dL); Harnstoff: Gruppe 1: Median 7,9mg/dL, (Range 1,6-177mg/dL); Subgruppe 1: Median 8,41mg/dL (Range 2,3-177mg/dL); siehe ➤ **Abschnitt 5.1.3**).

Sie eignen sich auch zur Überwachung der Dialysetherapie und -qualität. In Kenntnis des BMI lassen sie zudem gewisse Rückschlüsse auf die Ernährungssituation des Patienten zu. Da die absolute Höhe der Retentionsparameter in allen Gruppen nahezu identisch ist, kann primär von vergleichbaren Voraussetzungen (Dialysequalität) in den einzelnen Subgruppen ausgegangen werden.

Eine positive, *signifikante* Korrelation zwischen diesen beiden Parametern (Kreatinin und Harnstoff) ist in der Gesamtpopulation (Gruppe 1) mit einen Korrelationskoeffizienten von $r=0,24$ und einer Irrtumswahrscheinlichkeit von $p=0,0026$ gegeben, was der Erwartung entspricht (s.o.).

In der Gruppe der chronischen Dialysepatienten findet sich allerdings *keine* signifikante Korrelation zwischen Kreatinin und Harnstoff ($p=0,11$; $r=0,22$), sondern nur zwischen

Harnstoff und Phosphat ($p=0,0005$, $r=0,45$) und zwischen Kreatinin und Phosphat ($p=0,011$, $r=0,34$). Eine mögliche Ursache dafür könnte in der regelmäßigen Dialysetherapie (u.a. unterschiedliche Eliminationseffizienz des Dialysators für beide Substanzen) und dem Versuch der konsequenten Senkung der Retentionsparameter auf ein normwertiges Niveau liegen.

6.3.2.2 C-reaktives Protein

DAS C-reaktive Protein ist ein fünfeckförmiges kohlenhydratfreies Protein, welches in der Leber nach Stimulation, v.a. durch Interleukin 6, gebildet wird. Seine Serumkonzentration, welcher idealerweise unter 0,5mg/L liegen sollte, steigt im Rahmen einer unspezifischen Immunreaktion bei Gewebsschädigungen entzündlicher (infektiöser und nichtinfektiöser) Prozesse an, wobei seine Höhe mit dem Ausmaß der Entzündung oder Gewebszerstörung steigt. Grundsätzlich hängt die CRP-Konzentration im Plasma jedoch der Krankheitsaktivität um 12-24 Stunden nach.

Obwohl der CRP-Wert unabhängig von der glomerulären Filtrationrate ist, ist bekannt, dass bereits bei Prädialysepatienten das CRP ansteigt. Dies ist wahrscheinlich durch eine chronische Entzündungsreaktion im Rahmen der Urämie bedingt. Bei Dialysepatienten findet zusätzlich ein regelmäßiger Kontakt mit Fremdoberflächen (Dialysemembran) statt, welcher auch zur Erhöhung des Akute Phase Proteins beiträgt. Das erhöhte CRP bei Dialysepatienten lässt verschiedene Schlussfolgerungen hinsichtlich Ursache und Wirkungen zu. So assoziieren zum Beispiel STENVINKEL ET AL. (1999) den Anstieg von *Akuten Phase Proteinen* mit einer erhöhten Mortalität bei Dialysepatienten. HIMMELFARB ET AL. (2002) sehen bei erhöhten CRP-Werten ein erhöhtes Risiko hinsichtlich kardiovaskulärer Erkrankungen und der damit verbundenen Mortalität. In ihrer Studie vermuten sie, dass durch die chronische Inflammation und Malnutrition bei Dialysepatienten der oxidative Stress gefördert wird, welcher dann das CVD-Risiko erhöht.

Die Patienten in den beiden Bonner Gruppen weisen erhöhte Werte von C-reaktivem Protein auf, nämlich im Median: 11,2mg/L in der Gesamtpopulation (Range: 0,03-224mg/L), in der Subgruppe 1 im Median: 9,4mg/L (Range: 0,03-224mg/L).

Unsere Daten widersprechen somit weder der Hypothese von HIMMELFARB ET AL. (2002) noch der von STENVINKEL ET AL. (1999).

Versucht man durch Korrelationsanalysen eine Beziehung zwischen erhöhtem CRP, Homocystein und dem Überleben der Patienten herzustellen, stellt man fest, dass in *keiner* der analysierten Gruppen eine positive Korrelation zwischen CRP und Homocystein besteht. Ob also das akute Phase Protein einen Einfluss auf das kardiovaskuläre Outcome und damit auf die Mortalität - wie in den Arbeiten von HIMMELFARB ET AL. (2002) oder BUSCH ET AL. (2004) dargestellt – hat, ist aus unseren Daten studiendesignbedingt nicht ersichtlich.

Allerdings findet sich in unseren Daten eine *negative* Korrelation zwischen CRP und Cholesterin ($p=0,0097$ und $r=0,205$). Da Cholesterin in der nierengesunden Bevölkerung als Risikofaktor für CVD steht, wäre das Auswerten unserer Daten hinsichtlich des CVD-Risikos sicherlich ein verfolgenswerter Ansatz. Allerdings fehlen bei unseren Daten Angaben hinsichtlich des Nüchternzustandes, so dass der Lipidstatus nur eingeschränkt verwertbar ist und somit hier nicht weiter diskutiert wird.

6.3.2.3 Hämoglobin

DAS Hämoglobin, ein spezieller Eiweißstoff, der durch die Sauerstoff bindenden, eisenhaltigen Häm-Gruppen in der Lage ist Sauerstoff zu transportieren, ist im Sinne einer Anämie nach Definition der WELTGESUNDHEITSORGANISATION WHO (w: $Hb < 12g/dL$; m: $Hb < 13g/dL$) in unserer Studie in beiden Gruppen erniedrigt mit je $10,3g/dL$ im Median sowohl in Gruppe 1 als auch Subgruppe 1 (Range: $2,51-22,5g/dL$).

In Zusammenschau ist die gefundene Anämie nicht ungewöhnlich, da neben dem nierenfunktionsbedingten Erythropetinmangel die BFU-E, „burst forming units-erythroid“ im Knochenmark in Entzündungssituationen nur in reduziertem Maße auf (substituiertes) Erythropoetin ansprechen. Zudem spielen die verkürzte Lebensdauer der Erythrozyten (Urämie, Hämolyse an Membranen etc.), Blutverluste (durch häufige Laborkontrollen und die Dialyse selbst bedingt) oder eine Überfunktion der Nebenschilddrüse eine Rolle. Laut den EUROPEAN BEST PRACTISE GUIDELINES (EBPG, 1999) ist der Zielbereich des Hämoglobinwertes bei 85% der Dialysepatienten bei $11g/dL$ oder darüber (Hb-Mittelwert $12,5g/dL$) anzustreben. Wirksamstes Mittel zur Erreichbarkeit dieses Ziels besteht in der Therapie mit Erythropoetin und Eisen. Im Mai 2008 veröffentlichten DEMIRJIAN ET AL. (2008) allerdings Daten, die eine nachteilige Auswirkung auf das Outcome von Dialysepatienten durch Anhebung des Hämoglobins auf Normwerte durch die Gabe von

Erythropoetin belegen. Erste Auswirkungen dieser Ergebnisse machen sich bereits bemerkbar. So hat die US FOOD AND DRUG ADMINISTRATION (FDA) den Hämoglobin-Zielwert nun bei Dialysepatienten im Bereich zwischen 10 bis 12g/dL angesiedelt.

In unserer Analyse korreliert der Hämoglobinwert positiv *signifikant* mit dem Alter der Patienten in der Gesamtpopulation ($p=0,0264$, $r=0,177$), während sich das Hämoglobin in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten *unabhängig* vom Alter der Patienten darstellt ($p=0,3043$, $r=0,143$).

Interessant ist auch die in unserer Studie gefundene negative *signifikante* Korrelation zwischen dem Hämoglobin und dem CRP in der Gesamtpopulation (Gruppe 1) mit $p=0,0059$ und $r=-0,218$. Viele Autoren sehen die Gründe der Anämie bei Dialysepatienten nicht nur im Verlust der physiologischen Erythropoetinproduktion, sondern auch in der Kombination aus Malnutrition, erhöhten Blutverlusten und Inflammation, welche ein vermindertes Ansprechen des Knochenmark auf Erythropoetin und eine Eisenspeicherung im Ferritin bewirkt (u.a. Selim et al. 2007).

6.3.2.4 Knochenstoffwechsel

PHOSPHATE sind die Salze und Ester der Ortho-Phosphorsäure. Sie sind beteiligt am Aufbau biologisch wichtiger Moleküle, etwa der Desoxyribonukleinsäure (DNS/DNA) und spielen eine wichtige Rolle in der Bereitstellung von Energie (im Phosphodiester/Phosphotriester-System von Adenosindiphosphat (ADP) und Adenosintriphosphat (ATP)) und der selektiven Übertragung von Phosphat auf Proteine und dadurch möglichen Regulation metabolischer Prozesse. Im Knochenstoffwechsel verbindet sich Phosphat mit Calcium zum festen Calciumapatit. Regulatorische Hormone sind Parathormon, Vitamin D und Calcitonin.

Dialysepatienten sind aufgrund der Niereninsuffizienz, respektive der dadurch bedingten Phosphatretenion, nicht in der Lage, im Blut ein ausgeglichenes Kalzium-Phosphat-Verhältnis aufrecht zu erhalten.

In unserer Studie findet sich in allen Patientengruppen eine Hyperphosphatämie auf vergleichbarem Niveau mit einem Median von 1,83mmol/L in der Gesamtpopulation (Gruppe 1, Range: 0,45-105mmol/L) und einem Median von 1,84mmol/L in der Subgruppe 1 (Range: 0,45-105mmol/L). Die Hyperphosphatämie ist ein wichtiger Faktor bei der Entstehung kardiovaskulärer Verkalkungen bei Dialysepatienten und damit

mitverantwortlich für die hohe Morbidität und Mortalität (Savica et al. 2008). BURKE (2008) zeigt in seiner Studie weitere metabolische Folgen der Hyperphosphatämie wie Hyperparathyreoidismus, Vitamin D Resistenz und Hypocalcämie bei ESRD-Patienten auf. In Kombination mit anderen Risikofaktoren kommt es zu Organschädigungen. Hier sind unter anderem die Nebenschilddrüse, Knochen und das gesamte kardiovaskuläre System durch Artherosklerose betroffen, wodurch sich das erhöhte Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis ergibt. Eine Therapie (Diät, Dialyse, orale Phosphatbinder) zur Senkung und Normalisierung des Phosphathaushaltes ist nach der aktuellen Studienlage in jedem Fall zu empfehlen (EBPG, NKF-K/DOQI).

Wichtige Regulatoren des Kalzium-Phosphathaushaltes sind Vitamin D₃ und Parathormon. Das aus Vitamin D₃ (Cholecalciferol) in der Leber gebildete Calcifediol (25-OH-D₃) wird in den Nieren in das biologisch sehr aktive Calcitriol (1 α -25-(OH)₂-D₃), das die enterale Resorption von Kalzium und Phosphat fördert, umgewandelt. Dieser Vorgang wird durch die Phosphatkonzentration, die leicht messbar ist, reguliert. Ein hoher Phosphatspiegel senkt die Calcitriolbildung im Sinne einer negativen Rückkopplung. Das Prä-Pro-Parathormon (Peptid aus 115 Aminosäuren) wird in den Epithelkörperchen der Nebenschilddrüse gebildet. Sein N-terminales Ende (34 Aminosäuren) ist außerhalb der Schilddrüse biologisch aktiv und stimuliert die Adenylatzyklase in Nieren und Knochen. Dies führt zu einer vermehrten renalen Phosphatausscheidung: Gleichzeitig wird die Kalziumreabsorption stimuliert. Sinkende Phosphatspiegel wiederum führen zur Produktionssteigerung von Calcitriol.

Niedrige Calcium- oder Calcitriolspiegel, sowie hohe Phosphatkonzentrationen, z.B. in der Urämie, stimulieren die PTH-Sekretion. Zwischen Kalzium und PTH besteht eine negative, regulatorische Rückkopplung (Feedback-Regulation).

Die PTH-Werte der Untersuchten liegen im Mittel in beiden Patientengruppen im Bereich eines (sekundären) Hyperparathyreoidismus (Gruppe 1: Median 133,5ng/L, (Range 1-226,2ng/L), Subgruppe 1: Median 133ng/L, (Range 1-226,2ng/L). Um einen adynamen Knochenstoffwechsel zu vermeiden wird bei Dialysepatienten allerdings ein PTH-Wert, der dem 2-9fachen der Norm entspricht, toleriert bzw. angestrebt (aktuelle DIGO-Leitlinie). Die Normwerte des PTHs variieren je nach Assay und Labor und liegen im Mittel im Serum bei 12-72ng/l bzw. 1,5-6,0pmol/l. Daher relativieren sich die gemessenen Werte und liegen gemittelt nun im Zielbereich für Dialysepatienten.

In unseren Korrelationsanalysen finden sich in beiden Gruppen positive *signifikante* Zusammenhänge zwischen Phosphat und den Retentionsparametern Harnstoff und Kreatinin (Harnstoff/Phosphat: Gruppe 1 mit $p < 0,0001$, $r = 0,439$ und Subgruppe 1 mit $p = 0,0005$, $r = 0,450$; Kreatinin/Phosphat: Subgruppe 1 mit $p = 0,0108$, $r = 0,343$). Dies entspricht den Erwartungen.

6.3.2.5 Lipidstoffwechsel

CHOLESTERIN ist der hydrophobe, intrazellulär liegende Hauptbestandteil der Plasmamembran. Außerdem bildet Cholesterin die Vorstufe von Gallensäuren und Steroidhormonen. Aufgaben sind neben einer Erhöhung der Membranstabilität, die Beteiligung an Transportprozessen. Der Cholesterintransport im Blut erfolgt mithilfe von Lipoproteinen, welche je nach ihrer Dichte als Chylomikronen, VLDL, IDL, LDL oder HDL bezeichnet werden. Parameter des Lipidstoffwechsels sind von mehreren Faktoren, wie z.B. dem Bewegungsausmaß des Patienten vor Blutentnahme, dem „Nüchternzustand“, genetischen Faktoren und vom Alter des Patienten abhängig. Da in der vorliegenden Studie z.B. Angaben zum Nüchternzustand fehlen, lassen sich hinsichtlich des Lipidstatus nur eingeschränkte, orientierende Aussagen treffen.

So ist Cholesterin in Gruppe 1 mit einem Median von 166mg/dL (Range 50-474mg/dL) je nach Definition eher dem unteren Normalbereich zuzuordnen bzw. entspricht einer leichten Hypocholesterinämie. In Deutschland liegt der Referenzbereich für LDL-Cholesterin für Frauen und Männer zwischen 70 und 180mg/dl. Das schädliche LDL ist mit 90mg/dL (Range 10,6-898mg/dL) somit ebenfalls als niedrig anzusehen, während das kardioprotektive HDL mit einem Medianwert von 38mg/dL (Range 10-160mg/dL) für (gesunde) Frauen im Normbereich (>35 mg/dL) und für (gesunde) Männer (>45 mg/dL) erniedrigt ist. Die Befunde der Subgruppe 1 weichen nur minimal ab (**↗ Abschnitt 5.1.3**).

6.3.2.6 Homocystein

DIE Daten unserer Studie wurden erhoben, um eine Aussage zur prognostischen Wertigkeit des Homocysteinwertes bei Dialysepatienten machen zu können. Eine kontroverse Studienlage zu diesem Thema mit weitaus kürzeren

Beobachtungszeiträumen, wie z.B. die Studien von MOUSTAPHA ET AL. (1998, 1999) mit einem follow-up von 18 Monaten, liegt vor (**↗ Kap. 5.1**).

Homocystein ist eine potentiell zelltoxische, schwefelhaltige Aminosäure, welche entweder zu Methionin remethyliert oder zu Cystein abgebaut wird (**↗ Kap. 3.1**, weitere Literaturübersicht im **↗ Anhang Kap. 8**). Die biochemischen Vorgänge und Normwerte sind im Abschnitt 3.1.2 und 3.1.4 (**↗ Abschnitt 3.1.2** und **3.1.4**) im Detail dargestellt.

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen das generelle Auftreten einer Hyperhomocysteinämie bei unseren Dialysepatienten. In der Gesamtpopulation (Gruppe 1) findet man einen leicht über die physiologische Norm erhöhten Homocysteinwert mit einem Median von 19,8µmol/L (Range 4,05-170,8µmol/L), sowie in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten (Subgruppe 1) einen Median von 20,7µmol/L (Range 4,05-170,8µmol/L) (**↗ Abschnitt 5.1.3**). Dabei sind die Unterschiede in den beiden Gruppen nicht signifikant.

Die Hyperhomocysteinämie gilt als Risikofaktor für diverse vaskuläre Erkrankungen wie zum Beispiel Alzheimer Demenz, erektile Dysfunktion, Venenthrombosen und wird immer wieder mit einem erhöhten kardiovaskulärem Risiko in der Gesamtbevölkerung in Verbindung gebracht (Al-Hunayan et al. 2008; Van Dam et al. 2008; Joseph et al. 2003; Huang et al. 2008; Hotoleanu et al. 2007). Schon lange sind erhöhte Homocysteinspiegel bei ESRD-Patienten bekannt und werden auch bei Dialysepatienten mit einem erhöhten CVD-Risiko in Verbindung gebracht (Lovčić et al. 2006; Chauveau et al. 1993; Bachmann et al. 1995; Robinson et al. 1996; Bostom et al. 1997; Buccianti et al. 2004).

Der Entstehungsmechanismus der Hyperhomocysteinämie bei Dialysepatienten ist komplex und nach wie vor nicht eindeutig geklärt. Die verminderte Fähigkeit der renalen Hcy-Ausscheidung, die Beeinträchtigung des Homocysteinmetabolismus durch Defizite am Hcy-metabolismus beteiligter Vitamine wie Folsäure, Pyridoxin und Cobalamin, aber auch Urämie- oder Gendefekt-bedingte eingeschränkte Aktivitäten von am Hcy-metabolismus beteiligter Enzymen, spielen eine Rolle (Hultberg et al. 1993; Welch et al. 1998) (**↗ Kap. 3.1**). Vitaminsubstitution (Folsäure, Vitamin B₆) reduzieren im Allgemeinen die erhöhten Homocysteinlevel bei urämischen Patienten, führen jedoch

selten zur Normalisierung der Homocysteinwerte (Suliman et al. 1999; Palomares Bayo et al. 2008). Auch ist der Benefit einer Homocysteinsenkung bei Dialysepatienten nicht eindeutig belegt und wird weiterhin kontrovers diskutiert (Zoccali et al. 2007; Lovčić V et al. 2006) (➔ **Anhang 8.1.2** und **8.1.3**).

Ein schlechteres Outcome von Dialysepatientin in Zusammenhang mit einem Anstieg des Homocysteins finden BOSTOM ET AL. (1997), BUCCIANTI ET AL. (2004), sowie MOUSTAPHA ET AL. (1998). Die Ursache liegt, vermuten die Autoren, vor allem in der erhöhten Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse und deren Folgen.

In der Literatur findet man kontroverse Aussagen hinsichtlich der prognostischen Wertigkeit von Homocystein. So finden - im Gegensatz zu den oben genannten Autoren - KALANTAR-ZADEH ET AL. (2000), SULIMAN ET AL. (2004) und KALANTAR-ZADEH ET AL. (2004) ein längeres Überleben von ESRD-Patienten mit Hyperhomocysteinämie. Diese Forschungsgruppen vermuten, dass höhere Homocysteinwerte bei Langzeit-Dialysetherapie mit weitaus weniger Inflammationen und Malnutrition einhergehen (wie oben ausgeführt korreliert CRP negativ mit Hcy), was den gefundenen Überlebensvorteil indirekt erklären könnte. Sie sprechen von einem „umgekehrten Effekt“ hinsichtlich der Bedeutung des Homocysteins im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung, bei welcher die Hyperhomocysteinämie eindeutig als CVD -Risikofaktor identifiziert wurde.

Ein Erklärungsansatz für diesen umgekehrten Effekt gibt zum Beispiel SULIMAN ET AL. (2004): chronische Inflammation im Rahmen einer Dialysetherapie führen zur Erniedrigung von freien Aminosäuren und somit auch zu erniedrigten Homocysteinwerten. Hohe Werte von freien Aminosäuren (guter Ernährungszustand und wenig Inflammation) und Hcy zu Beginn einer Dialysetherapie bedeuten folglich körperliche Reserven. Diese könnten das bessere 4 Jahres Überleben erklären.

Zudem sei an dieser Stelle die Arbeit von WRONE ET AL. (2001) erwähnt. Diese Autoren untersuchten den klinischen Zusammenhang zwischen Homocystein und stattgefundenen kardiovaskulären Ereignissen bei Dialysepatienten. Sie stellten fest, dass das Homocystein bei Patienten ohne kardiovaskuläre Ereignisse in der Krankenvorgeschichte höher ist als das von Patienten mit kardiovaskulären Ereignissen (35,2µmol/L versus 30,4µmol/L).

Betrachtet man die Homocysteinwerte unserer Analyse genauer, fällt auf, dass neben dem generellen Auftreten der Hyperhomocysteinämie die Patienten mit dem niedrigsten Entzündungsparametern (CRP<15µmol/L“) den höchsten medianen Homocysteinwert, nämlich 22,8µmol/L, aufweisen. Dialysepatienten mit einer chronischen Entzündungsreaktion weisen dagegen niedrigere Homocysteinwerte auf (Gruppe 1: Hcy-Median von 19,8mol/L, Subgruppe 1: Hcy-Median 20,7µmol/L; ↗ **Kap. 5.1.3**).

In unserer Korrelationsanalyse bestätigte sich diese Beobachtung und zeigt in der Gruppe 1 eine *negative signifikante* Korrelation zwischen Homocystein und CRP mit einem Korrelationskoeffizient r von $r=-0,180$ und einem p-Wert von $p=0,0240$.

Diese Beobachtung passt also zu den Ergebnissen von KALANTAR-ZADEH ET AL. (2004) und SULIMAN ET AL. (2004), die postulierten, dass CRP und nicht Hyperhomocysteinämie der Hauptrisikofaktor für CVD in HD Patienten unter Vitaminsupplementation ist. Die Wissenschaftler schlussfolgerten, wie eingangs erwähnt, dass die chronische Entzündungsreaktion zur Senkung der freien Aminosäuren und damit auch zur Senkung des Homocysteinwertes führt. Unsere Ergebnisse widersprechen dieser Aussage nicht. Zu einem diesem Ansatz widersprechenden Ergebnis kommen hingegen OHKUMA ET AL. (2003). In ihrer Studie konnte ein positiver Zusammenhang zwischen erhöhtem CRP, erhöhtem Hcy und atherosklerotischen Plaques gefunden werden. Allerdings wurde diese Studie an Peritonealdialysepatienten durchgeführt. Damit sind die Erkenntnisse dieser Untersuchung leider nur begrenzt auf Hämodialysepatienten übertragbar.

Generell stellen erhöhte CRP-Werte und die damit verbundenen chronischen Entzündungsreaktion bei Dialysepatienten einen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse dar (Ducloux et al. 2002, Cianciolo et al. 2008). Analog müssten die Patienten mit den niedrigeren Homocysteinspiegeln (wenn dieses nur entzündungsbedingt erniedrigt wäre) aus unserer Studie ein schlechteres Outcome hinsichtlich ihres Überlebens haben.

PACHALY ET AL. (2008) wiederum halten weder Hcy noch CRP für einen guten Prädiktor. Sie propagieren den Entzündungsmarker Interleukin 6 für prognostische Aussagen.

Unsere weiteren Korrelationsanalysen mit Homocystein zeigten in der Gruppe 1 (Gesamtpopulation) einen *signifikanten* Zusammenhang zwischen Homocystein und Kreatinin mit ($p=0,0441$, $r=0,161$). Die Ausscheidung von Kreatinin mit dem Harn erfolgt

relativ konstant, ist jedoch abhängig von der Muskelmasse. Der Plasma-Kreatininspiegel ist ebenso abhängig von der Muskelmasse, aber auch von der körperlichen Aktivität, dem Lebensalter, dem Geschlecht und der Nierenfunktion (➤ **Abschnitt 5.3.2.1**). Kreatinin kann als Indikator für die Dialyseeffektivität, aber auch für die Muskelmasse und den Ernährungsstatus bei Dialysepatienten herangezogen werden (Canaud et al. 1995, Perez et al. 2000).

Eine positive signifikante Korrelation zwischen Homocystein und Kreatinin finden auch KALANTAR-ZADEH ET AL. (2004), CANAUD ET AL. (1995), PEREZ ET AL. (2000) und KALANTAR-ZADEH ET AL. (2004) sehen einen paradoxen Zusammenhang zwischen erhöhten Kreatininwerten (eigentlich ein Zeichen für Urämie und schlechte Dialysequalität), die eine größere Muskelmasse anzeigen, und einem besseren Überleben. Hier wird der bessere Ernährungszustand (= mehr Aminosäuren, mehr Muskulatur, mehr körperliche Reserven, aktiverer Patient aber natürlich auch mehr Hcy) der Dialysepatienten als Erklärungsansatz herangezogen.

Alle weiteren Ergebnisse der Korrelationsanalysen der Gruppe 1 von Homocystein mit den verschiedenen Laborparametern sind im Detail im Kapitel 5.2.2 dargestellt (➤ **Abschnitt 5.2.2**). Hier finden sich *keine* weiteren signifikanten Zusammenhänge zwischen Hcy und den entsprechenden Laborparametern (PTH, Hb, Harnstoff, Phosphat, LDL, Cholesterin, CRP und Albumin).

In der Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ finden sich äquivalent zur Gesamtpopulation *keine* signifikante Korrelationen von Homocystein und den untersuchten Parametern, wie in den Tabellen 11 und 13 (➤ **Kap. 5.2, Tab. 11 und Tab. 13**) verdeutlicht.

6.4 Überlebenszeit - Risikofaktoren (Univariate Analyse)

In unserem Studienzeitraum mit einer medianen Nachbeobachtungszeit von 6,56 Jahren verstarben insgesamt 140 (58%) der eingeschlossenen Patienten. Die genaue Todesursache konnte jedoch nur bei 27 (11%) Patienten evaluiert werden, da zum Beispiel in den Praxen keine ausreichenden Daten hinsichtlich der Todesursache vorgehalten wurden. Eine Analyse ist deshalb nur eingeschränkt möglich. Betrachtet

man die vorhandenen Daten trotzdem im Detail, so verstarben z.B. 3% der Patienten (n=4) im Rahmen eines Apoplexes, 3% (n=4) an plötzlichem Herztod und 3% (n=4) in der Sepsis. Zusammenfassend waren die Haupttodesursachen folglich kardiovaskulärer Genese, gefolgt von Infektionen (**↗ Kap. 5.4**). Diese Ergebnisse sind gut vereinbar mit denen im QUASI-NIERE Bericht zur Qualitätssicherung in der Nierenersatztherapie. In dem Jahresbericht 2004/2005 ist die Mortalität bei dialysepflichtigen Männern hauptsächlich durch kardiale (m=41%; w=36%, Ø39%), bei Frauen hingegen durch vaskuläre (m=12%; w=15%, Ø13%) Ursachen bedingt. Eine Geschlechtertrennung ist bei unseren Auswertungen nicht erfolgt.

In unserer Arbeit konnte mithilfe der Univarianzanalyse die Signifikanz der durch die ROC-Analysen identifizierten Risikofaktoren hinsichtlich des Überlebens dargestellt werden. Erhoben wurden für die jeweiligen Prädiktoren (Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH) das relative Risiko, das 95%-Konfidenzintervall, sowie die Signifikanz für das Überleben der Patienten. Dabei konnte in der Gesamtpopulation ein Alter über 68,6 Jahre als unabhängiger Risikofaktor mit einer Signifikanz von $p=0,000$ und einem relativen Risiko von 2,464 für das Ereignis „Tod“ ermittelt werden. In der Gruppe der chronischen Dialysepatienten wurde ein ähnlich hohes Alter von 70,1 Jahren als Grenzwert ermittelt (relatives Risiko von 2,049, $p=0,001$). Bekanntermaßen ist das Alter ein Prädiktor für das Überleben und eignete sich daher in der Univarianzanalyse als interner Kontrollparameter. Zudem wurden die Berechnungen zum Alter in der Univarianzanalyse zur Vorbereitung der multivariaten Analyse benötigt.

Ebenfalls als unabhängiger signifikanter Risikofaktor für „Tod“ wurde übereinstimmend in beiden Gruppen das Phosphat identifiziert (Gruppe 1: über 2mmol/L ($p=0,020$), relatives Risiko von 1,568; Subgruppe 1: über 2mmol/L ($p=0,016$), relatives Risiko von 1,705). Auswirkung auf das Überleben mit einer Signifikanz von $p=0,003$ hat auch der laborchemische Parameter CRP in der Gruppe 1. Das relative Risiko zu versterben beträgt in unserer Studie 2,367 bei einem CRP von größer 1mg/L. Das C-reaktive Protein stellte sich in der Subgruppe 1 jedoch mit $p=0,111$ nicht als signifikanter Risikofaktor heraus. Bei unseren chronischen Dialysepatienten ermittelten wir zusätzlich als signifikanten Risikofaktor einen Cholesterinwert über 230mg/dL ($p=0,044$). Patienten

dieser Gruppe mit einem Cholesterinwert über 230mg/L versterben 1,82mal häufiger als Patienten mit niedrigeren Cholesterinwerten. Dagegen scheint ein Cholesterin größer als 230mg/dL in der Gesamtpopulation kein signifikanten Risikofaktor ($p=0,676$) zu sein. Keine signifikanten Risikofaktoren hinsichtlich des Überlebens in beiden analysierten Patientengruppen sind die laborchemischen Parameter Homocystein (Gruppe 1: Hcy $\leq 33,1\mu\text{mol/L}$ ($p=0,546$), Subgruppe 1: Hcy $>9,5\mu\text{mol/L}$ ($p=0,144$)), Hämoglobin (Gruppe 1: $>10,8\text{g/dl}$ ($p=0,415$), Subgruppe 1: $>10,8\text{g/dl}$ ($p=0,819$)) und Parathormon (Gruppe 1: $\leq 532\text{ng/L}$ ($p=0,157$), Subgruppe 1: $<532\text{ng/L}$ ($p=0,178$)) (↗ **Kap. 5.4**). Diskutiert werden diese laborchemischen Risikofaktoren bereits ausführlich im Kapitel 6.3.2 (↗ **Kap. 6.3.2**), so dass an dieser Stelle auf eine erneute Diskussion verzichtet wird.

6.5 Multivariate Analyse

MULTIVARIATE Verfahren haben zum Ziel, die Abhängigkeiten von Drittvariablen zu erkennen und diese gegebenenfalls zu eliminieren. In dieser Arbeit wurde die sogenannte Cox-Regressionsanalyse – eine Regressionsmethode zur Analyse von Überlebensdaten aus der mathematischen Statistik, basierend auf dem Konzept der Hazardrate - verwendet, mit dem Ziel Risikofaktoren hinsichtlich des Überlebens und deren Unabhängigkeit zu identifizieren bzw. zu beweisen. Benannt wurde die Cox-Regression nach dem britischen Statistiker David Cox.

Nachdem bereits mehrere Risikofaktoren mithilfe der ROC- und Univarianzanalyse für das Überleben der Dialysepatienten ermittelt wurden (↗ **Kap. 5.3** und **5.4**), sollte die Multivarianzanalyse diese Assoziationen hypothesengerecht bestätigen und die Unabhängigkeit dieser Faktoren beweisen. Untersucht wurde die Gesamtpopulation mit $n=241$ Patienten und die Subgruppe 1 mit $n=195$ Patienten. Das Ereignis „Tod“ wurde erneut als Endpunkt definiert. Als Variablen wurden neben dem Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH mit den jeweils ermittelten Cut-off-points verwendet (↗ **Kap. 5.3**). Definiert wurden für die jeweiligen Prädiktoren (Alter, Hcy, Chol, Hb, Phosphat, CRP und PTH) je das relative Risiko, das 95%-Konfidenzintervall, sowie die Signifikanz für das Überleben der Patienten.

Durch die Multivarianzanalyse konnten die Ergebnisse der Univarianzanalyse bestätigt werden. Auch hier findet man das Alter ($p=0,000$), das CRP ($p=0,004$) und das

Phosphat ($p=0,011$) als unabhängige signifikante Risikofaktoren in der Gesamtpopulation sowie das Alter ($p=0,001$), das Phosphat ($p=0,019$) und das Cholesterin ($p=0,017$) in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten.

In der Gesamtpopulation zeigt ein Alter über 68,5 Jahre ein relatives Risiko von 2,503, während in der Subgruppe 1 ein Alter über 70,1 Jahre ein relatives Risiko von 2,087 für das Ereignis „Tod“ aufweist. Vergleicht man die gefundenen „realistischen“ Grenzwertpunkte für das Alter der ESRD-Patienten mit den Daten aus dem QUASI NIERE Bericht (Jahresbericht 2006-2007), in welchem das Durchschnittsalter bei Tod 73,2 Jahre beträgt, liegen unsere ermittelten Cut-off-points beider Gruppen wie zu erwarten niedriger, zeigen jedoch die Nähe zum Durchschnittsalter bei Todeseintritt für Dialysepatienten – sind also durchaus realistisch.

Das Phosphat stellte sich in unserer Analyse – wie bereits in der Univarianzanalyse – in beiden Gruppen als signifikanter Risikofaktor heraus. In beiden Gruppen gilt ein Wert von Phosphat größer 2mmol/L mit einem relativen Risiko von 1,630 in der Gruppe 1 und von 1,677 in der Subgruppe 1 als signifikanter Risikofaktor hinsichtlich des Überlebens. Eine Hyperphosphatämie findet sich bei der Mehrheit von ESRD-Patienten und trägt zur Entwicklung eines sekundären Hyperparathyreodismus bei (**➤ Abschnitt 6.3.2.4**). Dass die Hyperphosphatämie - für sich genommen - ein unabhängiger Risikofaktor für die erhöhte Sterblichkeit von Dialysepatienten ist, ist lange bekannt (Ganesh et al. 2001). Die Pathogenese der erhöhten Morbidität und Mortalität durch die Hyperphosphatämie beruht wahrscheinlich - wie bereits im Abschnitt 6.3.2.4 erwähnt – auf der Entstehung kardiovaskulärer Verkalkungen bei Dialysepatienten (Savica et al. 2008). Im Rahmen der Dialysis Outcomes and Practice Patterns Studie (DOPPS) definierten TENTORI ET AL. (2008) für Phosphat einen Bereich von 3,6 – 5,0mg/dL (0,2mmol/L – 0,28mmol/L) als Intervall für ein geringes Risiko, sowie den Phosphatwert von >7mg/dL (>0,4mmol/L) als Bereich für ein hohes Risiko zu versterben. Damit liegen unsere Cut-off-Werte für den Risikofaktor Phosphat hinsichtlich des Überlebens von Dialysepatienten mit über 2mmol/L höher, sind aber durchaus in Einklang mit den Ergebnissen von TENTORI ET AL. zu sehen.

Mit einem relativen Risiko von 2,237 ist das CRP von über 1mg/L in unserer Gesamtpopulation ebenfalls ein signifikanter Risikofaktor ($p=0,004$). Im Abschnitt 6.3.2.2

wurde bereits ausführlich auf das C-reaktive Protein eingegangen, einschließlich auf die Beobachtung, dass es bereits bei Prädialysepatienten, wahrscheinlich im Rahmen der Urämie, ansteigt. Die Vermutung, dass ein CRP-Anstieg mit einer erhöhten Mortalität assoziiert ist (Stenvinkel et al. 1999, Himmelfarb et al. 2002) kann durch unsere Daten für die Gesamtpopulation, in der CRP ein unabhängiger signifikanter Risikofaktor für das Überleben darstellt, bestätigt werden (➤ **Abschnitt 6.3.2.2**). In unserer Gruppe der chronischen Dialysepatienten scheint das CRP jedoch kein signifikanter Risikofaktor zu sein. Eine Erklärung liegt vielleicht in der Stichprobengröße, der weiten Range und der Höhe des CRPs, welches im Median 11,2mg/L in der Gesamtpopulation (Range: 0,03-224mg/L), in der Subgruppe 1 im Median jedoch nur 9,4mg/L (Range: 0,03-224mg/L) aufweist. Generell ist bekannt, dass das CRP bei ESRD-Patienten um den Faktor 10 gegenüber Gesunden erhöht ist (Bergström et al. 2000). Die prospektive Studie von ZIMMERMANN ET AL. (1999) ermittelte eine Erhöhung des kardiovaskulären Risikos in Abhängigkeit eines einmalig gemessenen Serum-CRP-Spiegels bei Hämodialysepatienten. Das Risiko eines kardiovaskulären Ereignisses, sowie die Gesamtmortalität stiegen mit der Höhe der CRP-Werte an. CRP ist also nachweislich ein Prädiktor für das Überleben. Nach wie vor bleibt die Frage offen, ob ein CRP-Anstieg in diesem Zusammenhang ein Begleitphänomen ist oder aber selbst eine kausale Rolle für kardiovaskuläre Erkrankungen spielt.

Als letzter signifikanter Risikofaktor konnte ein Cholesterinwert von größer 230mg/dL ($p=0,017$) mit einem relativen Risiko von 2,018 in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten identifiziert werden. Da jedoch in der vorliegenden Studie z.B. Angaben zum Nüchternzustand bei Blutentnahme fehlen und damit die Höhe der Cholesterinwerte auch falsch hoch sein kann, lassen sich hinsichtlich des Lipidstatus nur eingeschränkte, bestenfalls orientierende Aussagen treffen (➤ **Abschnitt 6.3.2.5**).

Nicht im Signifikanzbereich lagen auch bei der Multivarianzanalyse Homocystein $\leq 33,1\mu\text{mol/L}$, Hämoglobin $>10,8\text{g/dl}$, Cholesterin $>230\text{mg/dL}$ und Parathormon $\leq 532\text{ng/L}$ in der Gesamtpopulation, sowie Homocystein $>9,5\mu\text{mol/L}$, Hämoglobin $>10,8\text{g/dL}$, Parathormon $<532\text{ng/L}$ und CRP $>143\text{mg/L}$ in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten.

Homocystein weist dabei in der Gesamtpopulation ein p von 0,458, in der Subgruppe 1 ein p von 0,073 auf. Damit liegen beide Werte eindeutig nicht im Signifikanzbereich ($p \leq 0,05$). Unsere bisherigen Ergebnisse hinsichtlich der prognostischen Wertigkeit von Homocystein - nämlich, dass Homocystein *keine* prognostische Wertigkeit hinsichtlich des Überlebens von ESRD-Patienten aufweist - werden also auch durch die Multivarianzanalyse unterstrichen. Eine multivariaten COX-Regressionsanalyse von SIMIC-OGRIZOVIC ET AL. (2006) offenbarte in Einklang mit unseren Daten keinen direkten Zusammenhang zwischen einer Hyperhomocysteinämie und dem Überleben von Dialysepatienten. Dass Homocystein aber einen Risikofaktor für eine CVD darstellt, konnte auch in der zitierten propektiven Studie, welche 113 Patienten einschloss, letztlich nicht ausgeschlossen werden. Dieselbe Frage nach dem Zusammenhang von Hyperhomocysteinämie und Überleben stellten sich allerdings auch PERNOD ET AL. (2006), welche später dagegen aus den Ergebnissen ihrer Studie schlossen, dass Homocystein sehr wohl ein Risikofaktor für ein kardiovaskuläres Ereignis bei ESRD-Patienten mit hohen Plasmahomocysteinspiegel darstellt.

Auf das Hämoglobin wurde bereits ausführlich im Abschnitt 6.3.2.3 eingegangen (**➤ Abschnitt 6.3.2.3**). Laut den EUROPEAN BEST PRACTISE GUIDELINES (EBPG, 1999) ist ein Zielbereich des Hämoglobinwertes von 11g/dL oder darüber bei 85% der Dialysepatienten (Hb-Mittelwert 12,5g/dL) anzustreben. Allerdings sollte der Hb-Wert bei Dialysepatienten und Patienten mit chronischer Nierenerkrankung (CKD) laut KIDNEY DISEASE OUTCOMES QUALITY INITIATIVE (KDOQI) Leitlinie unter Therapie mit Erythropoiesis-stimulierenden Substanzen (ESAs) 13g/dL nicht überschreiten. Hier drohen Gefahren wie Herzversagen, Tod, Thrombose und verringerte Dialyseadäquanz. Unsere Hämoglobin-Grenzwerte liegen in beiden Gruppen unter 13g/dL, sollten also in Einklang mit den Richtlinien keinen Risikofaktor darstellen.

Auch Parathormon stellt in unserer Studie keinen signifikanten Risikofaktor dar. Trotzdem ist Parathormon ein bekanntes Urämietoxin (Massery et al. 1994). Es führt zur intrazellulären Akkumulation von Calcium, hemmt die Insulinsekretion, die Erythropoese und fördert die Fibrosierung des Knochenmarks, stellt einen Hämolyse- und kardiodepressiven Faktor dar und verursacht Funktionsstörungen von Leuko- und

Thrombozyten. YOUNG ET AL. allerdings beschreiben PTH im Rahmen der bereits zitierten DOPPS-Studie als signifikanten und unabhängigen Risikofaktor für das Überleben von Dialysepatienten mit einem relativen Risiko von 1,01 per 100pg/dL und einer Signifikanz von $p=0,04$, was unserem Ergebnis widerspricht. So definierten TENTORI ET AL. (2008) auch für Parathormon im Rahmen der prospektiven DOPPS-Studie einen Referenzbereich von 101-300pg/mL für die geringste Sterblichkeit von Dialysepatienten, während laut Studie Patienten mit PTH-Werten von über 600pg/mL ein deutlich erhöhtes Risiko zu versterben aufwiesen.

7. Zusammenfassung

WÄHREND die Hyperhomocysteinämie bei Nierengesunden als ein Risikofaktor für die Entstehung einer kardiovaskulären Erkrankung beschrieben ist, ist die Datenlage bei terminal Niereninsuffizienten unter Dialysetherapie immer noch kontrovers. Die nun vorliegende Arbeit sollte dazu beitragen die diffizile Datenlage mittels neuer Daten aus einem unselektionierten Kollektiv, im Sinne einer retrospektiven „Langzeitbeobachtung“, zu ergänzen.

Dazu wurden in der vorliegenden Arbeit laborchemische, epidemiologische und klinische Daten von 2893 Patienten, welche sich im Zeitraum von 1999 bis 2006 in nephrologischer Behandlung in der Medizinischen Klinik und Poliklinik I des Universitätsklinikums Bonn befanden, erfasst. Nach Beachtung der Ein- und Ausschlusskriterien konnten 136 Männer und 105 Frauen mit einem medianen Alter von 62,84 Jahren in die Studie eingeschlossen und retrospektiv hinsichtlich der prognostischen Wertigkeit von Homocystein auf das Überleben der Untersuchten analysiert werden. Das mittlere Follow-up beträgt 2,64 Jahre und ist somit der längste Beobachtungszeitraum aller derzeit verfügbaren Studien mit ähnlicher Fragestellung. Neben einer Datenauswertung des Gesamtkollektivs, wurde die Subgruppe 1 „chronische Dialysepatienten“ gebildet und ebenfalls hinsichtlich der diskutierten Parameter (Risikofaktoren hinsichtlich des Überlebens, wie Hämoglobin, Phosphat, Kreatinin, Harnstoff und CRP) analysiert. In der Subgruppe 1 wurden alle Patienten ausgeschlossen, die ein akutes Nierenversagen hatten. Bei fast allen Dialysepatienten wurde ein zumindest moderat erhöhtes Homocystein gemessen.

Die nachfolgenden Signifikanzen konnten in Korrelationsanalysen der (Sub-)Gruppe herausgearbeitet werden. Im Gesamtkollektiv wurde eine negative Korrelation zwischen Homocystein und CRP ($r=-0,180$, $p=0,0240$) gefunden. Daneben fanden sich bei den Dialysepatienten mit einer chronischen Entzündungsreaktion niedrigere Homocysteinwerte als in der Gesamtpopulation (Gruppe 1: Hcy-Median $19,8\mu\text{mol/L}$, Subgruppe 1: Hcy-Median $20,7\mu\text{mol/L}$).

Im nächsten Schritt und als Voraussetzung für eine uni- und multivariate Analyse der Risikofaktoren, wurde die ROC-Analyse durchgeführt. Hier konnten „realistische“ Grenzwerte (Cut-off-points) für die höchste Sensitivität bei Dialysepatienten, welche von den „Normwerten für Gesunde“ abweichen, gefunden werden. Als Endpunkt wurde jeweils das Ereignis „Tod“ definiert. Mithilfe der Univarianzanalyse konnte anschließend die Signifikanz der durch die ROC-Analysen identifizierten Risikofaktoren (Alter, Homocystein, Cholesterin, Hämoglobin, Phosphat, CRP und PTH) hinsichtlich des Überlebens kalkuliert werden. Homocystein wurde weder in der Gesamtpopulation noch in der Gruppe der chronischen Dialysepatienten als Risikofaktor hinsichtlich des Überlebens identifiziert. Diese Ergebnisse wurden mithilfe der Cox-Regressionsanalyse (Multivariate Analyse) bestätigt. In der Uni- und Multivarianzanalyse wurden das Alter, das CRP und das Phosphat in der Gesamtpopulation, sowie das Alter, das Phosphat und das Cholesterin in der Subgruppe 1 als unabhängige signifikante Risikofaktoren für den Endpunkt Tod identifiziert. Uni- als auch Multivarianzanalyse bestätigten somit für unsere Kohorte, dass Homocystein *keine* prognostische Wertigkeit hinsichtlich des Überlebens von ESRD-Patienten aufweist.

Leider ist auch unsere Studie nicht in der Lage abschließend zu klären, ob die Hyperhomocysteinämie bei Dialysepatienten einen Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse darstellt und somit das Outcome der Patienten verschlechtert, oder ob sie eher Zeichen eines besseren Ernährungszustand ist und/oder auf weniger Entzündungsaktivität im Körper hinweist und damit als ein günstiger Faktor zu werten wäre. Unsere Ergebnisse, deren Analyse und Diskussion geben einmal mehr die immer noch (und wegen der genannten Schwierigkeiten wahrscheinlich auch bleibende) kontroverse Datenlage zu diesem Thema im Detail wieder. Ob sich Homocystein als Prognoseparameter eignet, wird sich wohl nur durch prospektive Studien,

möglicherweise mit Interventionsarm, und durch definierte Subgruppenanalyse (ANV, chronische Dialysepatienten, hohes CRP, usw.) klären lassen. Prospektive Studien können homogenere Patientenkollektive betrachten und ermöglichen ein standardisiertes Vorgehen mit klaren Anweisungen hinsichtlich der Blutabnahme (vor/nach Dialyse, nüchtern/nicht nüchtern, usw.), so dass hier möglicherweise signifikante Effekte eher deutlich werden und eine klare Aussage ermöglichen.

Zusammenfassend zeigen die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit, dass Homocystein für das von uns untersuchte Gesamtkollektiv der Dialysepatienten *keine* prognostische Wertigkeit besitzt.

8. Anhang

8.1 Hämodialyse

DIE (Hämo-)Dialyse (griechisch: Los-/Auflösung, Trennung; umgangssprachlich: Blutwäsche) ist ein technisches Blutreinigungsverfahren. Sie dient dem temporären, partiellen Ersatz der Nierenfunktion bei Nierenversagen unabhängig von der Genese: z.B. kurzfristige Überbrückung bei ANV oder langfristig (ggf. Jahre) bei terminaler Niereninsuffizienz.

8.1.1 Historie

THOMAS GRAHAM schuf 1861 durch seine Diffusionsversuche mit semipermeablen Membranen die Voraussetzung für die Entwicklung der Dialyse (Graham 1861; Graham 1854). Die erste künstliche Niere, die schließlich experimentell zur Dialyse in Tierversuchen ihre Anwendung fand, wurde von **ABEL et al.** an der **JOHNS HOPKINS MEDICAL SCHOOL** in Baltimore im Jahre 1913 konstruiert. Sie verwendeten Hirudin zur Antikoagulation, wobei das Blut durch einen rudimentären Filter aus gebündelten, mit isotoner Kochsalzlösung umgebenen Celloidinröhren von 6-8mm Durchmesser und 20-50cm Länge, floss (Abel et al. 1914). Am Menschen konnte **GEORG HAAS** in Gießen erstmalig 1924 eine Dialyse durchführen (Haas 1926). Nach Entdeckung des Heparins im Jahre 1932 benutzten **THALHEIMER et al.** 1937 in Manhattan Zellophandialysatoren zur Dialyse (Thalheimer 1937). Im Jahre 1944 publizierten die Niederländer **KOLFF et al.** die erste erfolgreiche klinische Dialyse bei ANV (Kolff et al. 1944). Der Durchbruch erfolgte mit der Weiterentwicklung des drehbaren Trommeldialysators, welcher eine

breitere klinische Anwendung erlaubte (Alwall 1947; Merrill et al. 1950). Der gewickelte Spulendialysator ermöglichte eine verbesserte Kontrolle der Ultrafiltration während der 60er Jahre (Clark 2000). 1960 verwendete KIIL in Norwegen Cuprophan-Plattendialysatoren, die sich verhältnismäßig einfach sterilisieren und wiederverwenden ließen (Kiil 1960). Im selben Jahr beginnt der Patient C. SHIELDS bei SCRIBNER et al. die weltweit erste shuntbasierte Langzeit-Hämodialysebehandlung in den USA (Scribner et al. 1960; Quinton et al. 1960). Er verstirbt elf Jahre später an einem Myokardinfarkt (erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei Niereninsuffizienz). Das Dialysat-Gegenstromprinzip und die Einführung der Hohlfaserdialysatoren durch LIPPS et al. (Lipps et al. 1967), sowie zahllose Detailverbesserungen im Bereich der (Produktions-)Technik, Hygiene und Begleittherapie (z.B. Eisen-/Erythropoetinsubstitution, Hepatitis B Impfung und Blutdruckeinstellung) führten u.a. durch eine deutliche Verbesserung der Dialysequalität zu gesteigerter Lebensqualität und zu einer Senkung von Mortalität und Morbidität der Dialysepatienten (Iseki et al. 2004; Birchem et al. 2005; Collins 2002; KDOQI-Guidelines der American Kidney Foundation sowie Best Practice Guidelines der European Renal Association/European Dialysis and Transplant Association). Neben der Kostensenkung trug die Vereinfachung der Anwendung zur weiteren Verbreitung der Therapieform bei, sodass heute beispielsweise Hämodialyse mit dem entsprechenden Equipment sogar als sogenannte „Heimdialyse“ zuhause durchgeführt werden kann.

8.1.2 Dialyseverfahren

DIE im Rahmen dieser Doktorarbeit evaluierten Patienten wurden mit extrakorporalen, intermittierenden Dialyseverfahren behandelt. Alternative Nierenersatztherapien sind kontinuierliche Dialyse-/Filtrationsverfahren, wie z.B. CAVH, CVHD, die lediglich im Rahmen medizinischer Intensivtherapie kritisch Kranker zum Einsatz kommen (Teehan et al. 2003, Kellum et al. 2002, Bellomo et al. 2004). Daneben existieren verschiedene Peritonealdialyseverfahren (II. NKF-K/DOQI 2001) und die Nierentransplantation. Diese Techniken sind nicht Untersuchungsgegenstand und werden hier folglich nur kontextrelevant gestreift.

Über einen Gefäßzugang (Dialysehunt) mit hohem Blutfluß (> 500ml/min), welcher üblicherweise über eine permanente, operativ angelegte arterio-venöse Fistel nach

BRESCIA und CIMINO erfolgt (Brescia et al. 1966), wird dem Körper durch eine Hohlnadel arteriell-venöses, antikoaguliertes Mischblut entzogen, im Dialysegerät gereinigt (Übersicht über harnpflichtige Substanzen, Yavuz et al. 2005) und dem Körper wieder zugeführt. Alternative Dialysezugänge sind Prothesenshunts (Roy-Chaudhury et al. 2005) oder verschiedene zentralvenöse, temporäre (z.B. Shaldonkatheter) oder permanente (z.B. Demerskatheter), großlumige Katheter (Frankel et al. 2006).

8.1.2.1 Hämodialyse

VEREINFACHT dargestellt handelt es sich bei der Hämodialyse um ein physikalisches Trennverfahren zur Separation wässrig gelöster Teilchen (Elektrolyte, Urämietoxine, Vitamine und vieles mehr) mithilfe einer semipermeablen Membran. Der Stoffaustausch erfolgt nach dem Prinzip der Diffusion, was bedeutet, dass Moleküle und Ionen im Sinne eines Konzentrationsausgleiches vom Ort der höheren zum Ort der niedrigeren Konzentration wandern (↗ **Abb. 16**). Umgekehrt wandern Flüssigkeiten von der Seite der niederen Konzentration zur Seite der höheren Konzentration (Osmose) (↗ **Abb. 17**). Die Eigenschaften der verwendeten Dialysemembranen, wie z.B. Porengröße, Ladung und Oberflächengröße, des sogenannten Dialysators/Filters („künstliche Niere“, blutführende Kapillaren) sind maßgeblich für die Elimination/Selektion von (harnpflichtigen) Substanzen aus dem Blut (Valette et al. 1999, Clark et al. 2002). Entscheidend ist auch das verwendete Dialysat (Sam et al. 2006). Bei dem Dialysat („Waschlösung“) handelt es sich um eine im Gegen- oder Gleichstromprinzip den Dialysator umfließende Spüllösung, die, in Abhängigkeit ihrer Zusammensetzung, durch die Membran abgeschiedene Stoffe aufnimmt und wegtransportiert bzw. bei höherer Dialysatkonzentration an das Blut abgibt (*schematisch* ↗ **Abb. 16**). Darüberhinausgehende dialyseimmanente Einflußgrößen auf Qualität und Effektivität sind u.a. Dialysezeit, Shuntqualität, Art des Gefäßzugangs, Blut- und Dialysatfluß, sowie Begleitmedikation und Hygiene (III NKF-K/DOQI 2001, I. NKF-K/DOQI 2005, Best Practice Guidelines der European Renal Association/European Dialysis and Transplant Association).

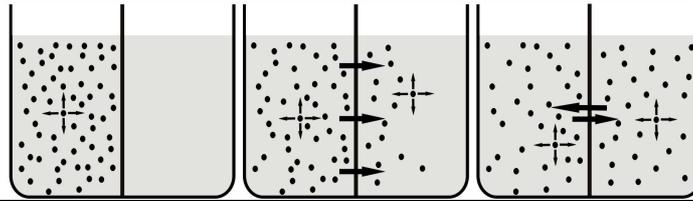


Abbildung 16: Prinzip der Diffusion (vereinfachte Darstellung: Diffusion durch eine semipermeable Membran)
Diffusion: Moleküle und Ionen wandern im Sinne eines Konzentrationsausgleiches vom Ort der höheren zum Ort der niedrigeren Konzentration.

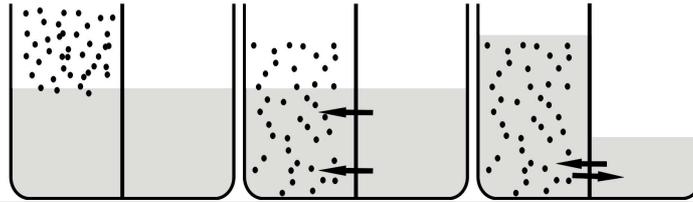


Abbildung 17: Prinzip der Osmose (vereinfachte Darstellung mittels semipermeabler Membran)
Osmose: Flüssigkeiten wandern von der Seite der niederen Konzentration zur Seite der höheren Konzentration.

8.1.2.2 Ultrafiltration

SOLL dem Körper lediglich Flüssigkeit entzogen werden (z.B. beim Lungenödem), kann dies mittels Erzeugung eines Überdruckes im Blut- und/oder eines Unterdruckes im Dialysatkompartiment geschehen (➔ **Abb. 18**). Flüssigkeit wird abgepresst. Dies bezeichnet man als Ultrafiltration (UF). Kombinitive Behandlungen aus Ultrafiltration und Hämodialyse/-filtration sind üblich.

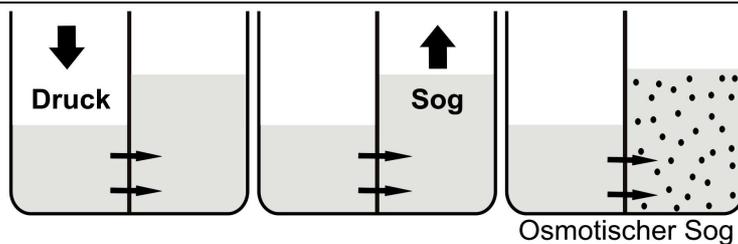


Abbildung 18: Prinzip der Ultrafiltration (vereinfachte Darstellung: UF über eine (semipermeable) Membran)
Durch Erzeugung eines Überdruckes im Blut- und/oder eines Unterdruckes im Dialysatkompartiment wird Flüssigkeit abgepresst.

8.1.2.3 Hämo(dia)filtration

DIE Hämofiltration (HF) arbeitet nach dem Prinzip der Konvektion, d.h., harnpflichtige Substanzen werden mit der im Filter abgepressten Flüssigkeit (Ultrafiltrat) mitgerissen (➔ **Abb. 19**), wodurch größere Moleküle effektiver, kleinere schlechter als bei der Hämodialyse eliminiert werden. Die entfernte Flüssigkeit wird vor (Prädilution) oder

hinter (Postdilution; Vorteil: bessere Clearance von Mittelmolekülen bei stärkerer Hämokonzentration → aber stärkere Antikoagulation erforderlich) dem Filter durch steriles Dialysat/Substitutat ersetzt.

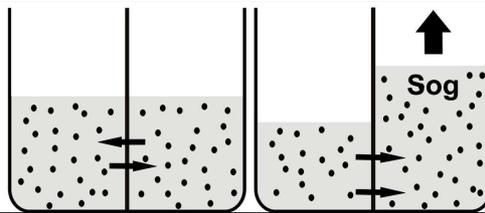


Abbildung 19: Prinzip der Konvektion (vereinfachte Darstellung mit (semipermeabler) Membran)
Substanzen werden mit der im Filter abgepressten Flüssigkeit (Ultrafiltrat) mitgerissen.

In der Hämodiafiltration (HDF) werden die Vorteile von Hämodialyse und Hämofiltration vereinigt. Es werden niedermolekulare Substanzen (z.B. Kreatinin oder Harnstoff) vorwiegend mit Hilfe von Diffusion (HD), mittelmolekulare Substanzen hingegen (z.B. β_2 -Mikroglobulin oder Vitamin B₁₂) überwiegend durch Konvektion (HF) entfernt (Maduell 2005, Ledebø 1998, Canaud et al. 2006, Yavuz et al. 2005). Sogenannte high-flux Dialysatoren, die durch eine Kombination diffusiver und konvektiver Prozesse die Gesamteliminationsrate bei der HDF verbessern, werden eingesetzt. High-flux Dialysatoren besitzen eine andere Poren-/Membranstruktur, die einen hohen UF-Koeffizienten ($>10 \text{ ml/h} \cdot \text{ mmHg} \cdot \text{ m}^2 \triangleq$), einer hohen Reinigungsleistung und Wasserpermeabilität ermöglicht. Ob die Erhöhung des molekularen Clearance-Cut-offs von etwa 5000kDa (low-flux Dialysatoren) auf ~50000kDa einen Vorteil hinsichtlich Mortalität und Morbidität gebracht hat, bleibt nach Auswertung der HEMO-STUDIE zweifelhaft (Cheung et al. 2003, Eknöyan et al. 2002). Die Ergebnisse der aktuell laufenden MPO-STUDIE (Membrane Permeability Outcome) bleiben abzuwarten (Locatelli et al. 1999). In einer Weiterentwicklung des Verfahrens stellen Dialysegeräte das benötigte Substitutat selbst her (On-line HDF) (Pedrini et al. 2003, Rindi et al. 1988).

8.2 Homocystein und Folsäure

VITAMINE sind essentielle Nahrungsbestandteile, die vom Organismus in geringen Konzentrationen zur Aufrechterhaltung von Stoffwechselfunktionen benötigt werden. Sie haben katalytische oder regulatorische Funktionen, wirken als Coenzyme, aktivieren

Transkriptionsfaktoren, wirken antioxidatorisch und sind Bestandteile von Signaltransduktionsketten.

Eine wichtige Rolle kommt dabei im menschlichen Stoffwechsel der gern als „Mangelvitamin“ bezeichneten Folsäure, einem Coenzym für Ein-Kohlenstoffübertragungen, zu. Folsäure ist unter anderem in grünem Gemüse, Hefe und Vollkornprodukten enthalten.

8.2.1 Folsäure, Historie

Die Entdeckung der Folatverbindung ist assoziiert mit der Aufklärung der Anämien. 1930 wurde festgestellt, dass Anämien, v.a. megaloblastische Anämien, mit Hefe- oder Leberextrakt therapiert werden können (Hoffbrand et al. 2001). WILLS entdeckte 1931, dass Anämien bei Schwangeren mit Folaten zu korrigieren waren (Wills et al. 1978, The History of folic acid. 2001). 1940 beschrieben SNELL ET AL. einen Faktor, der für das Wachstum von *Lactobacillus casei* essentiell ist (Mitchell et al. 1941). Folsäure wurde 1941 erstmals von MITCHELL ET AL. aus Spinatblättern extrahiert und verdankt seinen Namen dem lateinischen Wort „*folium*“, das Blatt bedeutet (Mitchell et al. 1941, Nzila 2006). Kurz darauf konnte die chemische Struktur der Folate aufgelöst werden; es gelang die Synthese der kristallinen Form. Bis 1951 wurden die meisten Aufgaben der Folsäure beim Transfer von C1-Einheiten im Organismus aufgeklärt (Welch et al. 1952).

8.2.2 Biochemie

FOLSÄURE ist ein hitze- und lichtempfindliches, hydrophiles Vitamin der Gruppe B (Kamien 2006). Heute bezeichnet der Terminus Folsäure (früher Vitamin B₉ oder Vitamin B_c) nur das Pteroylmonoglutamat, während in der Literatur häufig die ganze Substanzklasse aus etwa 140 verschiedenen Pteroylglutaminsäure-Derivaten gemeint wird.

Folsäure steht für N-[4-(2-Amino-3,4-dihydro-4-oxo-6-pteridinylmethylamino)-benzoyl]-L-glutaminsäure und ist aus einem Pteridinkern, p-Aminobenzoesäure und L-Glutamat aufgebaut (➤ **Abb. 20**). Die aus dem Pteridinringsystem und der p-Aminobenzoesäure gebildete Teilstruktur bezeichnet man als Pteroinsäure.

Die Summenformel lautet: C₁₉H₁₉N₇O₆. Die Molmasse von Folsäure beträgt 441,41g/mol.

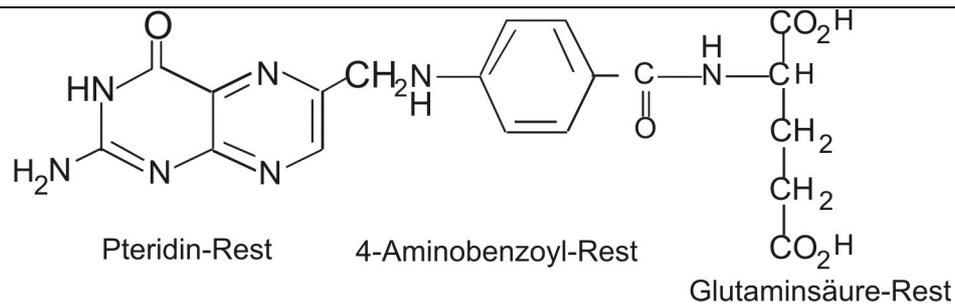


Abbildung 20: Strukturformel von Pteroylmonoglutamat

Der Pteridinring ist das Grundgerüst der Pteridine und Bestandteil von Hormonen und Insektenfarbstoffen. Der Name leitet sich vom griechischen „*pteryx*“ für Feder oder Flügel ab, da die ersten Pteridine (Leukopterin und Xanthopterin) aus Schmetterlingsflügeln isoliert wurden. P-Aminobenzoesäure (PABA) spielt z.B. als „Bakteriennährstoff“ (früher auch Vitamin H') eine Rolle in der Darmflora oder fand industrielle Anwendung als UV-Filter in Sonnencremes. Glutaminsäure ist ein wichtiger Transmitter des zentralen Nervensystems. Sie (E620) oder ihre Salze (Mononatriumglutamat E621, Monokaliumglutamat E622 u.a.) werden in der Lebensmittelindustrie als Geschmacksverstärker eingesetzt (Geschmack: „umami“) und sind möglicherweise Auslöser des sogenannten Chinarestaurantsyndroms.

Die biologisch aktiven Formen der Folsäure sind die 5,6,7,8-Tetrahydrofolsäure (FH₄) sowie ihre C1-substituierten Abkömmlinge, vor allem N5-Methyl-, N5- und N10-Formyl Tetrahydrofolsäure (THF). Im Organismus sind die Vitamine der Folsäuregruppe Coenzyme für Übertragungen von Einkohlenstoffresten (Methyl-, Formyl-, Formiat-, Hydroxymethylreste). Träger der Einkohlenstoffreste sind die N-Atome in Position 5 bzw. 10 des Pteroylrests (➤ **Abb. 20**). Durch Dehydrogenase- bzw. Isomerasereaktionen können die Einkohlenstoffreste ineinander überführt werden.

Bei Aufnahme aus pflanzlichen und tierischen Nahrungsmitteln liegt Folsäure zu 60-80% in Form von Polyglutamaten vor. Ein zu vernachlässigender Teil des täglichen Bedarfs wird bereits in der stoffwechselwirksamen reduzierten Form von THF durch die Synthese symbiotischer Darmbakterien gedeckt. Vor der Absorption muss die intestinale Mucosa die Poly- zu Monoglutamaten hydrolysieren (Rosenberg et al. 1969). Der Absorptionsmechanismus erfolgt bei physiologischen Aufnahmemengen (<5µmol/L)

über einen sättigbaren, Carrier-vermittelten Prozess, der bei pH 6-6,3 sein Transportmaximum erreicht. Bei höheren Konzentrationen spricht man von einem pharmakologischen Absorptionsmechanismus - wahrscheinlich durch passive Diffusion. Hauptabsorptionsort ist das proximale Jejunum. In die Darmzellen aufgenommene Folsäure wird überwiegend (~80%) in Gegenwart von Ascorbinsäure zu 5-Methyl-THF reduziert, zur Leber transportiert und dort gespeichert. Der Transport der 5-Methyl-THF im Serum erfolgt Plasmaprotein-gebunden (Alpha-Makroglobulin, Albumin und Transferrin). Alle drei Transportproteine besitzen nur geringe Bindungsaffinität gegenüber Folsäure. Zusätzlich existiert ein folatspezifisches Bindungsprotein (MG 42000) mit hoher Affinität, jedoch geringer Transportkapazität.

Die Aufnahme in die Zellen erfolgt rezeptorvermittelt gegen einen Konzentrationsgradienten. In der Zelle erfolgt die metabolische Umwandlung in die entsprechende Coenzymform oder in die Speicherform (nichtmethylierte Polyglutamate), welche hauptsächlich in der Leber zu finden sind. Um aus der Zelle in das Blut zu gelangen, wird Polyglutamat mit Hilfe der Folyl-Polyglutamyl-Hydrolase wieder in die Monoglutamatform überführt.

Im Gegensatz zu Serum oder Plasma enthalten reife Erythrozyten aufgrund ihrer Folatspeicherfunktion höhere Konzentrationen an Folat (Normalbereich: 200-500ng/ml). Ihr Folatgehalt ist ein guter Indikator für den menschlichen Versorgungsstatus.

Chemische Funktion der Folsäure

FOLATE sind zur Aufrechterhaltung unseres Stoffwechsels unerlässlich. Im Stoffwechsel fungiert Folsäure nach Reduktion zu Tetrahydrofolsäure (FH₄) als Coenzym bei zahlreichen Übertragungsreaktionen von Einkohlenstoffresten (➔ **Tab. 21**) Biochemie der Folsäure). Damit ist Folsäure an vielen wichtigen Stoffwechselreaktionen beteiligt: an der Biosynthese von Purinen, Pyrimidinen, Aminosäuren wie Serin und Methionin, im Histidinstoffwechsel, bei der Umwandlung von Glycin in Serin und bei verschiedenen anderen Methylierungsreaktionen (Synthese von Thymin und Hydroxymethylcytosin, Methylierung von Homocystein zu Methionin, Cholinbiosynthese u.a.),

Die biochemischen Funktionen der Folsäure werden in der folgenden Tabelle noch einmal zusammengefasst:

Aminosäure-/Purinoffwechsel	Nukleinsäurestoffwechsel
Homocystein und Cholinbiosynthese NAD ⁺ -abhängige Reduktion von N ⁵ ,N ¹⁰ -Methylen-THF zu N ⁵ -Methyl-THF, diese Methylgruppe dient als Donator bei der Methylierung von Homocystein zu Methionin sowie für die Cholinbiosynthese	Purinbiosynthese Folsäure-Coenzyme sind an der Umwandlung von dUMP zu dTMP : C-Atome 2 und 8 des Purinkerns werden in Form des Tetrahydrofolatderivats eingebaut
Glycin in Serin N ⁵ ,N ¹⁰ -Methylen-THF bildet den β-Kohlenstoff des Serin bei der Umwandlung von Glycin in Serin	Biosynthese von Proteinen Tetrahydrofolatderivat stellt die Formylgruppe der N-Formylmethionin-tRNA, die bei Prokaryonten die Biosynthese von Proteinen startet
Thymin und Hydroxymethylcytosin N ⁵ ,N ¹⁰ -Methylen-THF liefert Kohlenstoff für die Methylgruppen von Thymin und Hydroxymethylcytosin	
Histidin Umwandlung von Formiminoglutamat zu Glutamat	

Tabelle 21: Biochemische Funktionen der Folsäure

8.2.3 Folsäureüberdosierung

DIE Ausscheidung der Folsäure erfolgt über Galle (10-90 µg/Tag) und Urin (1-12µg/Tag). Bei Therapie mit Folsäure in hoher Dosierung ist Vorsicht geboten, da es zu Interferenzen mit Antikonvulsiva (Phenotoin, Carbamazepin u.v.m) kommen kann. Es besteht nach DEB eine inverse Relation zwischen Serumkonzentrationen der Antikonvulsiva und Serumkonzentrationen von Folsäure (Deb 1994). Demgegenüber scheint eine zusätzliche, niedrigdosierte Folsäuregabe bei Therapie mit Antikonvulsiva, mögliche Blutbildveränderungen, wie z.B. die Carbamazepin- induzierte Leukozytopenie, abzumildern (Asadi-Pooya et al. 2006). Interaktionen zwischen Folsäure und anderen Medikamenten wie z.B. Methotrexat (MTX) sind ebenfalls bekannt (Eichholzer et al. 2002). Bei gleichzeitiger Gabe wird die Wirkung von MTX abgeschwächt (Salim et al. 2006). Ob Folsäure auch zu Zinkverwertungsstörungen führt ist umstritten. Während EICHHOLZER ET AL. hiervon ausgehen, können GREEN ET AL. keinen Zusammenhang zwischen Folsäureapplikation und reduzierten Plasma-Zink-Konzentrationen bei Frauen im gebärfähigen Alter feststellen (Eichholzer et al. 2002, Green et al. 2003).

Ferner kann bei Vitamin B₁₂-Mangel eine perniziöse Anämie aufgrund fehlender Symptomatik unter Folsäuresubstitution maskiert werden, wodurch es zu neurologischen Schäden (z.B. funikuläre Myelose) kommen kann (Kamien 2006, Kloosterman et al. 2004). Um dies zu vermeiden, empfehlen viele Autoren eine kombinatorische Gabe von Vitamin B₁₂ (Bleie et al. 2004) und Folsäure.

8.2.4 Folsäuremangel

Die empfohlene Zufuhr von Folsäure entspricht laut der DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG (↗ Tab. 22):

Alter	Folsäure (µg/d)
0 – 4 Monate	60
4 – 12 Monate	80
1 – 4 Jahre	200
4 – 10 Jahre	300
Jugendliche und Erwachsene	400
Schwangere und Stillende	600
Patienten mit ESRD	400 bzw. keine besondere erforderlich (Q13)
Dialysepatienten	1000

Quelle: DGE 2000, European Renal Association 2004

Tabelle 22: Tägliche Zufuhrempfehlungen für Folsäure

Dialysepatienten wird von der DGE empfohlen, täglich 1000µg Folsäure zuzuführen.

Nach Angaben der DEUTSCHEN GESELLSCHAFT FÜR ERNÄHRUNG wird die empfohlene Menge an Folate (400µg/Tag, ↗ Tab. 22) über Nahrungsmittel von der deutschen Bevölkerung nicht annähernd erreicht. Frauen erreichen durchschnittlich 71% der empfohlenen Tagesdosis von 0,4mg, Männer nehmen 88% auf. Eine Gefahr durch Folsäureüberdosierung im Rahmen von Vorsorge und Therapie besteht selbst bei einer täglichen Aufnahme von 10mg/Tag nicht (Stanger et al. 2003).

Pathophysiologie des Folsäuremangels

FOLSÄUREMANGEL schädigt vor allem Zellsysteme mit hoher Teilungsrate, z.B. die blutbildenden Zellen des Knochenmarks (megaloblastische Anämie als frühes Zeichen des Folsäuremangels) oder die Schleimhaut des Gastrointestinal- und Urogenitaltrakts. Bei länger dauerndem Mangel kommt es zur generellen Störung des Zellstoffwechsels, da nicht nur die Biosynthesegeschwindigkeit von Nucleinsäuren abfällt, sondern auch der Phospholipidstoffwechsel (Cholinbiosynthese) und der Aminosäurestoffwechsel

beeinträchtigt werden. Die Teilnahme der Folsäurederivate an der Biosynthese von Purinen und Pyrimidinen zeigt ihre fundamentale Bedeutung für Zellteilung respektive Wachstum. Bei unzureichender Folatversorgung während der Schwangerschaft ist das Risiko einer Frühgeburt, fetaler Wachstumsverzögerungen und für geringes Geburtsgewicht erhöht; letzten Endes auch für kindliche Fehlbildungen wie z.B. Neuralrohrdefekte (Eichholzer et al. 2002). Bedeutende Studien zu diesem Thema veröffentlichten 1989 BOWER und STANLEY und 1991 die BRITISH MRC (MEDICAL RESEARCH COUNCIL) VITAMIN STUDY RESEARCH GROUP (Bower et al. 1989, Vitamin Study Research Group 1991). In Deutschland werden jedes Jahr vermutlich zwischen 470 und 800 Kinder mit Neuralrohrdefekten geboren (Kick und Engelhardt, Bayerisches Landesamt für Gesundheit und Lebensmittelsicherheit; Koletzko und Pietrzik, Gesundheitliche Bedeutung der Folsäurezufuhr).

Ferner wird diskutiert, ob Folat aufgrund seiner zentralen Bedeutung für die DNA-Synthese vor Krebserkrankungen schützen kann (Kloosterman et al. 2006). Die Auswertung von mehr als 30 epidemiologischen Studien zeigte einen inversen Zusammenhang zwischen Folataufnahme bzw. Folatstatus und dem Risiko kolorektaler Karzinome und – jedoch weniger ausgeprägt - anderer Tumoren. Weitere Erkrankungen, die vermutlich im Zusammenhang mit einer unzureichenden Folatversorgung (Coenzymmangel verursacht unter anderem Hyperhomocysteinämie ↗ **Kap. 3.1**) stehen, sind Demenz, depressive Störungen und CVD (Burger et al. 2004, Kloosterman et al. 2006, Clarke et al. 2008, Morris et al. 2003).

Bei Dialysepatienten findet man besonders häufig eine Hyperhomocysteinämie, welche in Zusammenhang mit Arteriosklerose und Atherothrombosen gebracht wird. Eine Therapie mit Folsäure senkt den Homocysteinspiegel, wobei jedoch umstritten ist, ob dadurch das Risiko für CVD gesenkt werden kann.

8.3 Homocystein und Vitamin B₆/ Vitamin B₁₂

DA Vitamin B₆ und Vitamin B₁₂ den endogenen Hcy-Stoffwechsel beeinflussen (↗ **Kap. 3.1**), sollen diese beiden auch therapeutisch relevanten Vitaminkomplexe im Folgenden näher beschrieben werden.

8.3.1 Allgemeines

DER Vitamin B-Komplex besteht aus den acht wasserlöslichen Vitaminen Thiamin (Vit. B₁), Riboflavin (Vit. B₂), Nikotinamid, Folsäure (➤ **Anhang 8.1.2.2**), Pantothersäure, Pyridoxin (Vit. B₆), Biotin (Vit. H), den Cobalaminen (Vit. B₁₂) und Pangaminsäure. Die chemisch und pharmakologisch völlig verschiedenen Substanzen, dienen als Coenzym-Vorstufen. Ihre Nummerierung ist nicht fortlaufend, weil sich bei vielen Substanzen, die ursprünglich als Vitamine galten, der Vitamincharakter nicht bestätigen ließ.

Vitamin B₆ hat wesentlichen Einfluss auf den Stoffwechsel vieler Nährstoffe (vor allem der Aminosäuren), die Funktion des Nervensystems, die Immunabwehr und die Bildung des Hämoglobins. Pyridoxin kommt sowohl in tierischen als auch in pflanzlichen Produkten vor. Die Aufnahme erfolgt über den Dünndarm (Jeker et al. Swiss Forum For Sport, DGE).

Vitamin B₁₂ wird exklusiv durch Mikroorganismen wie *Pseudomonas denitrificans*, *Propionibacterium shermanii*, *Bacillus subtilis* etc., wie sie u.a. in der natürlichen Darmflora vorkommen, synthetisiert. Die Aufnahme von Vitamin B₁₂ (auch „extrinsic factor“) aus tierischen Bezugsquellen (Leber, Fleisch und Eiern), aber auch aus Algen, ist nach pH-saurer Proteinabspaltung nur mithilfe des im Magen sezernierten „intrinsic factors“ durch rezeptorvermittelter Endozytose im terminalen Ileum möglich. Daher wird der Großteil des im Darm gebildeten Vitamin B₁₂ ausgeschieden. Störungen in der intrinsic factor-vermittelten Absorption führen zu Vitamin B₁₂ Mangelerscheinungen, wie z.B. der perniziösen Anämie. Des Weiteren können Genmutationen der am Vitamin B₁₂ Metabolismus beteiligten Enzyme, Niereninsuffizienz (z.B. durch periphere Resistenz oder Malabsorption, Obeid et al. 2005, Stein et al. 1985) oder die dauerhafte Einnahme von Medikamenten, die den Magen-pH beeinflussen (Protonenpumpeninhibitoren und H₂-Rezeptorantagonisten), einen erhöhten Vitaminbedarf verursachen.

Hauptspeicherort von Vitamin B₁₂ ist die Leber, die etwa die Hälfte des Körper-Vitamin B₁₂ (2-5mg) beinhaltet. Geringer Tagesbedarf, Körperreserve und eine lange biologische Halbwertszeit von 450-750 Tagen lassen Mangelerscheinungen in der Regel erst nach Jahren manifest werden (Rickes et al. 1948, Quadros et al. 1978, Hick et al. Physiologie, Green et al. 1995, Sullivan et al. 1965, Croft et al. 2005). Zu beachten ist, dass ein (niedrig) normaler Vit B₁₂- Spiegel einen intrazellulären Vit B₁₂-Mangel nicht ausschließt

(Stanger et al. 2004, Kumar et al. 2007, Cohen et al. 2000, Croft et al. 2005, Ruscin et al. 2002).

8.3.2 Vitamin B₆/ Vitamin B₁₂ – Historie

AGNES Fay Morgan und andere Ernährungsforscher wie Okey, Evans und Olcott et al. (um nur einige zu nennen) trugen maßgeblich zur Charakterisierung von Vitamin B₆, Vitamin E, Pantothensäure und Vitamin K bei. Birch und György entschlüsselten 1936 die chemische Natur von Vitamin B₆, während die Isolation des reinen, kristallinen Vitamin B₆ erst 1938 durch Lepkovsky gelang. Innerhalb eines Jahres konnten Harris, Folkers und Kuhn et al. Vit B₆ als Pyridinderivat, im Speziellen als 3-hydroxy-4,5-dihydroxymethyl-2-methyl-pyridin, identifizieren. Snell et al. wiesen später weitere Derivate von Pyridoxin nach (Emerson 1977, Gyorgy 1956, Birch et al. 1936).

Cobalamin wurde erstmals 1926 beschrieben. Die erste Reindarstellung erfolgte unabhängig voneinander durch FOLKERS bzw. SMITH. Seine chemische Struktur wurde mittels Röntgenstrukturanalyse in den 50er des letzten Jahrhunderts von DOROTHY C. HODGKIN charakterisiert, die hierfür 1964 den Nobelpreis für Chemie erhielt (From Nobel Lectures 1972, Hodgkin 1965).

8.3.3 Vitamin B₆/ Vitamin B₁₂ - Biochemie

VITAMIN B₆ ist ein Derivat des Pyridins. Unter dem Terminus Vitamin B₆ werden die Derivate des 5-Hydroximethyl-2-methyl-3-pyridinols, namentlich Pyridoxol (ein Alkohol), Pyridoxamin (ein Amin) und Pyridoxal (ein Aldehyd), die sich lediglich durch ihre Substituenten in der 4-Position unterscheiden, subsummiert. Biologisch aktive Formen des Vitamins entstehen durch Phosphorylierungen zu Pyridoxal-5-phosphat (PLP oder PALP) und Pyridoxaminphosphat (PMP), die als Coenzyme an etwa 100 enzymatischen Reaktionen im Körper beteiligt sind. PALP wirkt z.B. als Cofaktor in der Synthese der δ-Aminolävulinsäure, einem Zwischenprodukt der Hämoglobinsynthese, oder beim Abbau von Glykogen, sowie als Coenzym einer Vielzahl von Enzymen, die in den gesamten nicht-oxidativen Stoffwechsel der Aminosäuren eingreifen. Daneben ist Vitamin B₆ in den Lipidmetabolismus, die Neurotransmitterproduktion, die Modulation der Aktivität von Steroidhormonrezeptoren und Transkriptionsfaktoren sowie der DNA/RNA-Synthese involviert. Durch Vitamin B₆-abhängige Transsulfurierung greift es in die Elimination von

Hcy ein (➔ Abschnitt 3.1.2). Darüber hinaus bestehen direkte biochemische Verknüpfungen mit anderen Vitaminen der B-Gruppe (Spinneker et al. 2007, Jeker et al. Swiss Forum For Sport, DGE, Huq et al. 2007).

Vitamin B₁₂, eine lichtempfindliche, metallorganische Kobalt-Ion-Verbindung, komplexiert in einem Corrin-Ringsystem, spielt eine Schlüsselrolle in der DNA-Synthese.

Intrazellulär liegt Vitamin B₁₂ in der Coenzymform (5`-Desoxyadenosyl-Cobalamin in den Mitochondrien / zytosolisch als Methyl-Cobalamin) vor. Therapeutisch wird Vitamin B₁₂ dem Körper jedoch in Form von Hydroxy- oder Cyanocobalamin zugeführt, welche dementsprechend zunächst in die aktiven Derivate umgebaut werden müssen. Cobalamin ist essenzieller Cofaktor von Methioninsynthetase und L-Methylmalonyl-CoA(Coenzym A)-Mutase.

Im Einzelnen: Adenosyl-Cobalamin katalysiert Umlagerungsreaktionen, bei denen Wasserstoff und organische Gruppen ihren Platz wechseln. Die wichtigste Reaktion dieser Art ist die Isomerisierung von Propionyl-CoA zu Methyl-CoA und letztlich zu Succinyl-CoA. Außerdem dient Adenosyl-Cobalamin manchen Mikroorganismen als Cofaktor für die Ribonucleotid-Reduktase. Das Enzym verwandelt Ribonucleotid-triphosphate in Desoxyribonucleotid-Triphosphate, die für die Biosynthese der DNA benötigt werden.

Methyl-Cobalamin ist am Methylgruppentransfer zwischen Methyltetrahydrofolsäure (Methyl-THF) und Hcy (Methionin-Synthase-vermittelt), und damit ebenfalls an der Elimination von Hcy, beteiligt (➔ Abschnitt 3.1.2). Methionin wird gebildet und der wichtige Methylgruppenträgers S-Adenosylmethionin (SAM) regeneriert. Demethyliertes THF steht nun als Substrat der Purin-Biosynthese (Adenin, Guanin und Thymidin) zur Verfügung (Karlson et al. Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler, Tefferi et al. 1994, Allen et al. 1993).

8.3.4 Vitamin B₆/ Vitamin B₁₂ – empfohlene Dosis

DIE empfohlene Tageszufuhr von Vitamin B₆ und B₁₂ kann aus den folgenden Tabellen 3 und 4 (➔ Tab. 23 und 24) entnommen werden.

Alter	Vitamin B ₆ (mg/d)
0 – 4 Monate	0,1
4 – 12 Monate	0,2
1 – 4 Jahre	0,4
4- 7 Jahre	0,5
7 – 10 Jahre	0,7
Jugendliche und Erwachsene	1,0-1,6
Schwangere	1,9
Stillende	1,9
Dialysepatienten	10

Tabelle 23: Tägliche Zufuhrempfehlungen für Vitamin B₆

Alter	Vitamin B ₁₂ (µg/d)
0 – 4 Monate	0,4
4 – 12 Monate	0,8
1 – 4 Jahre	1,0
4 – 7 Jahre	1,5
7 – 10 Jahre	1,8
Jugendliche und Erwachsene	3,0
Schwangere	3,5
Stillende	4,0
Dialysepatienten	12

Quelle: DGE 2000

Tabelle 24: Tägliche Zufuhrempfehlungen für Vitamin B₁₂

8.3.5 Vitamin B₆/ Vitamin B₁₂ – Mangel und Überdosierung

HYPOVITAMINOSEN der B-Vitamine sind selten, da sie bei ausgewogener Ernährung in ausreichenden Mengen aufgenommen werden. Klinisch präsentiert sich der Mangel an Vitamin B₆ in Form von Allgemeinsymptomen wie Appetitverlust, Diarrhoe und Emesis. Der Vitamin B₁₂-Mangel äußert sich hauptsächlich durch den sekundären Mangel an THF in Organen mit hoher Zellteilungsaktivität wie z.B. dem Knochenmark (durch Block der N⁵-Methyl-THF-Spaltung zu THF, welches für die Synthese der Nukleobasen verantwortlich ist). Es kann zur Perniziösen Anämie (hyperchrome makrozytäre Anämie), funikulären Myelose (Folge der fehlenden Methylmalonyl-CoA-Mutase-Aktivität → Adenosylcobalaminmangel) und diversen scheinbaren „Altersdemenzen“ (durch Anstieg von Methylmalonsäure) kommen. Als Folge einer angeborenen Störung des Vitamin B₁₂-Metabolismus (cbfC type, Chromosomregion 1p, MMACHC Gen) kommen Methylmalonat-Acidurie und Homocystinurie vor. Die betroffenen Patienten weisen neben

dem oben genannten klinischen Bild der Hypovitaminose auch dermatologische und ophthalmologische Symptome auf.

Allgemein findet man bei Hypovitaminosen der B-Reihe klinisch gehäuft CVD, periphere Neuropathien, Vitamin B-Mangel-Dermatosen in Form von Entzündungen von Lippen/Mundschleimhaut sowie ekzemähnlichen Hautveränderungen im Gesicht und Genitalbereich (Spinneker et al. 2007, Kumar et al. 2007, Cohen et al. 2000, Croft et al. 2005, Lerner-Ellis et al. 2005, Morel et al. 2006).

Inwiefern nun die B-Hypovitaminosen, oder aber die hierdurch bedingte Hyperhomocysteinämie bei der Entstehung von Erkrankungen wie zum Beispiel CVD eine Rolle spielen, ist umstritten. Während SIRI ET AL. sowie VERHOF ET AL. Vitamin B-Mangel als einen unabhängigen Risikofaktor für die Entstehung für kardiovaskuläre Erkrankungen beschreiben, postulieren andere Autoren wie z.B. PANCHARUNITI ET AL. (um nur einen zu nennen), dass nicht der Mangel an B-Vitaminen, sondern die daraus resultierende Hyperhomocysteinämie den eigentlichen Risikofaktor darstellen (Siri et al. 1998, Pancharuniti et al. 1994, Verhoef et al. 1997).

Hypervitaminosen der B-Vitamine kommen so gut wie nie vor, da sie zum einen aufgrund ihrer Wasserlöslichkeit gut ausgeschieden werden können, zum anderen hohe Dosen (z.B. Vitamin B₆ mehr als 500mg/Tag) aufgenommen werden müssten. Kommt es jedoch zu einer Hypervitaminose können Neurotoxizität, Akne medicamentosa und Photosensibilität auftreten (Braun-Falco et al. 1976).

9. Literaturverzeichnis

Abel J, Rowntree LG, Turner B. On the removal of diffusable substances from the circulating blood by means of dialysis. transactions of the association of american physicians, 1913. Transfus Sci 1990; 11: 164-165

Al-Hunayan A, Thalib L, Kehinde EO, Asfar S. Hyperhomocysteinemia is a risk factor for erectile dysfunction in men with adult-onset diabetes mellitus. Urology 2008; 71: 897-900

Allen RH, Stabler SP, Savage DG, Lindenbaum J. Metabolic abnormalities in cobalamin (vitamin B12) and folate deficiency. FASEB J 1993; 7: 1344-1353

Alwall N. On the artificial kidney. I. apparatus for dialysis of the blood in vivo. Acta Med Scand 1947; 128: 317-325

Anavekar NS, McMurray JJ, Velazquez EJ, Solomon SD, Kober L, Rouleau JL. Relation between renal dysfunction and cardiovascular outcomes after myocardial infarction. N Engl J Med 2004; 351: 1285-1295

Anderson JL, Muhlestein JB, Horne BD, Carlquist JF, Bair TL, Madsen TE. Plasma homocysteine predicts mortality independently of traditional risk factors and C-reactive protein in patients with angiographically defined coronary artery disease. Circulation. 2000; 102: 1227-1232

Arnadottir M, Hultberg B, Nilsson-Ehle P, Thysel H. The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. Scand J Clin Lab Invest 1996; 56: 41-46

Asadi-Pooya AA, Ghetmiri E. Folic acid supplementation reduces the development of some blood cell abnormalities in children receiving carbamazepine. Epilepsy Behav 2006; 8: 228-231

Bachmann J, Tepel M, Raidt H, Riezler R, Graefe U, Langer K. Hyperhomocysteinemia and the risk for vascular disease in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1995; 6: 121-125

Baigent C, Burbury K, Wheeler D. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 2000; 356: 147-152

Barbe F, Abdelmouttaleb I, Chango A, Gerard P, Quilliot D, Klein M. Detection of moderate hyperhomocysteinemia: Comparison of the abbott fluorescence polarization immunoassay with the bio-rad and SBD-F high-performance liquid chromatographic assays. *Amino Acids* 2001; 20: 435-440

Beddhu S, Allen-Brady K, Cheung AK, Horne BD, Bair T, Muhlestein JB. Impact of renal failure on the risk of myocardial infarction and death. *Kidney Int* 2002; 62: 1776-1783

Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P. Acute Dialysis Quality Initiative workgroup. Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: The second international consensus conference of the acute dialysis quality initiative (ADQI) group. *Crit Care* 2004; 8: 204-212

Bergström J, Lindholm B, Lacson E, Owen W, Lowrie EG, Glassock RJ, Ikizler TA, Wessels FJ, Moldawer LL, Wanner C, Zimmermann J. What are the causes and consequences of the chronic inflammatory state in chronic dialysis patients? *Semin Dial* 2000; 13: 163-175

Billion S, Tribout B, Cadet E, Queinnec C, Rochette J, Wheatley P. Hyperhomocysteinaemia, folate and vitamin B12 in unsupplemented haemodialysis patients: Effect of oral therapy with folic acid and vitamin B12. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 455-461

Birch TW, Gyorgy P. A study of the chemical nature of vitamin B(6) and methods for its preparation in a concentrated state. *Biochem J* 1936; 30: 304-315

Birchem JA, Fraley MA, Senkottaiyan N, Alpert MA. Influence of hypertension on cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Semin Dial* 2005; 18: 391-395

Bleie O, Refsum H, Ueland PM, Vollset SE, Guttormsen AB, Nexø E. Changes in basal and postmethionine load concentrations of total homocysteine and cystathionine after B vitamin intervention. *Am J Clin Nutr* 2004; 80: 641-648

Blom HJ. Consequences of homocysteine export and oxidation in the vascular system. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26: 227-232

Bostom AG, Lathrop L. Hyperhomocysteinemia in end-stage renal disease: Prevalence, etiology, and potential relationship to arteriosclerotic outcomes. *Kidney Int* 1997; 52: 10-20

Bostom AG, Shemin D, Verhoef P, Nadeau MR, Jacques PF, Selhub J. Elevated fasting total plasma homocysteine levels and cardiovascular disease outcomes in maintenance dialysis patients. A prospective study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 2554-2558

Bots ML, Launer LJ, Lindemans J, Hoes AW, Hofman A, Witteman JC. Homocysteine and short-term risk of myocardial infarction and stroke in the elderly: The rotterdam study. *Arch Intern Med* 1999; 159: 38-44

Boushey CJ, Beresford SA, Omenn GS, Motulsky AG. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease. probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; 274: 1049-1057

Bower C, Stanley FJ. Dietary folate and nonneural midline birth defects: No evidence of an association from a case-control study in western australia. *Am J Med Genet* 1992; 44: 647-650

Braun-Falco O, Lincke H. The problem of vitamin B6/B12 acne. A contribution on acne medicamentosa (author's transl). *MMW Munch Med Wochenschr* 1976; 118: 155-160

Brescia MJ, Cimino JE, Appel K, Hurwich BJ. Chronic hemodialysis using venipuncture and a surgically created arteriovenous fistula. *N Engl J Med* 1966; 275: 1089-1092

Buccianti G, Baragetti I, Bamonti F, Furiani S, Dorighet V, Patrosso C. Plasma homocysteine levels and cardiovascular mortality in patients with end-stage renal disease. *J Nephrol* 2004; 17: 405-410

Budy B, O'Neill R, DiBello PM, Sengupta S, Jacobsen DW. Homocysteine transport by human aortic endothelial cells: Identification and properties of import systems. *Arch Biochem Biophys* 2006; 446: 119-130

Burke SK. Phosphate is a uremic toxin. *J Ren Nutr* 2008; 18: 27-32

Busch M, Franke S, Muller A, Wolf M, Gerth J, Ott U. Potential cardiovascular risk factors in chronic kidney disease: AGEs, total homocysteine and metabolites, and the C-reactive protein. *Kidney Int* 2004; 66: 338-347

Cianciolo G, La Manna G, Coli L, Donati G, D'Addio F, Persici E. 5-methyltetrahydrofolate administration is associated with prolonged survival and reduced inflammation in ESRD patients. *Am J Nephrol* 2008; 28: 941-948

Canaud B, Morena M, Leray-Moragues H, Chalabi L, Cristol JP. Overview of clinical studies in hemodiafiltration: What do we need now? *Hemodial Int* 2006; 10: 5-12

Canaud B, Garred LJ, Argiles A, Flavier JL, Bouloux C, Mion C. Creatinine kinetic modelling: A simple and reliable tool for the assessment of protein nutritional status in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 1995; 10: 1405-1410

Carson NA, Neill DW. Metabolic abnormalities detected in a survey of mentally backward individuals in northern ireland. *Arch Dis Child* 1962; 37: 505-513

Caso V, Paciaroni M. MTHFR 677 TT genotype and hyperhomocysteinaemia: An underestimated risk TANDEM for patients with stroke. *J Neurol Neurosurg Psychiatry* 2006; 77: 1103

Chauveau P, Chadeaux B, Coude M, Aupetit J, Hannedouche T, Kamoun P. Hyperhomocysteinemia, a risk factor for atherosclerosis in chronic uremic patients. *Kidney Int Suppl* 1993; 41: 72-77

Chavers BM, Li S, Collins AJ, Herzog CA. Cardiovascular disease in pediatric chronic dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 648-653

Cheung AK, Levin NW, Greene T, Agodoa L, Bailey J, Beck G. Effects of high-flux hemodialysis on clinical outcomes: Results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 3251-3263

Chiang PK, Gordon RK, Tal J, Zeng GC, Doctor BP, Pardhasaradhi K. S-adenosylmethionine and methylation. *FASEB J* 1996; 10: 471-480

Clark WR. Hemodialyzer membranes and configurations: A historical perspective. *Semin Dial* 2000; 13: 309-311

Clark WR, Gao D. Properties of membranes used for hemodialysis therapy. *Semin Dial* 2002; 15: 191-195

Clarke R. B-vitamins and prevention of dementia. *Proc Nutr Soc* 2008; 67: 75-81

Clarke R, Daly L, Robinson K, Naughten E, Cahalane S, Fowler B. Hyperhomocysteinemia: An independent risk factor for vascular disease. *N Engl J Med* 1991; 324: 1149-1155

Cohen H, Weinstein WM, Carmel R. Heterogeneity of gastric histology and function in food cobalamin malabsorption: Absence of atrophic gastritis and achlorhydria in some patients with severe malabsorption. *Gut* 2000; 47: 638-645

Collins AJ. Influence of target hemoglobin in dialysis patients on morbidity and mortality. *Kidney Int Suppl* 2002; 80: 44-48

Croft MT, Lawrence AD, Raux-Deery E, Warren MJ, Smith AG. Algae acquire vitamin B12 through a symbiotic relationship with bacteria. *Nature* 2005; 438: 90-93

Dandliker WB, De Saussure VA. Fluorescence polarization in immunochemistry. *Immunochemistry* 1970; 7: 799-828

Dandliker WB, Feigen GA. Quantification of the antigen-antibody reaction by the polarization of fluorescence. *Biochem Biophys Res Commun* 1961; 5: 299-304

Deb S. Effect of folate metabolism on the psychopathology of adults with mental retardation and epilepsy. *Am J Ment Retard* 1994; 98: 717-723

Demirjian SG, Nurko S. Anemia of chronic kidney disease: When normalcy becomes undesirable. *Cleve Clin J Med* 2008; 75: 353-356

DGE Deutsche Gesellschaft für Ernährung, 2007: Referenzwerte für die Nährstoffzufuhr D-A-CH Referenzwerte der DGE, ÖGE, SGE/SVE. www.dge.de (26.11.2007)

DSO Deutsche Stiftung Organtransplantation, 2005: Jahresbericht 2005. <http://www.dso.de> (16.11.2007)

Du Vigneaud V, Ressler C, Rachele JR. The biological synthesis of "labile methyl group". *Science* 1950; 112: 267-271

Ducloux D, Klein A, Kazory A, Devillard N, Chalopin JM. Impact of malnutrition-inflammation on the association between homocysteine and mortality. *Kidney Int* 2006; 69: 331-335

Ducloux D, Bresson-Vautrin C, Kribs M, Abdelfatah A, Chalopin JM. C-reactive protein and cardiovascular disease in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 1417-1422

Eichholzer M, Luthy J, Moser U, Stahelin HB, Gutzwiller F. Safety aspects of folic acid for the general population. *Praxis* 2002; 91: 7-16

Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, Daugirdas JT, Greene T, Kusek JW. Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 2002; 347: 2010-2019

Emerson GA. Agnes fay morgan and early nutrition discoveries in california. Fed Proc 1977; 36: 1911-1914

EBPG European Best Practise Guidelines. Nephrol Dial Transplant 1999, 1 European Renal Association/European Dialysis and Transplant Association. Best Practice Guidelines 4: 11–13

Eurotransplant International Foundation, 2005: Jahresbericht 2005. http://www.eurotransplant.nl/files/annual_report/AR2005_3.pdf (12.11.2007)

European Renal Association-European Dialysis and Transplant Association. Nephrol Dial Transplant 2002; 17: 455-461

Fiore M, Mitchell J, Doan T, Nelson R, Winter G, Grandone C. The abbott IMx automated benchtop immunochemistry analyzer system. Clin Chem 1988; 34: 1726-132

Fodinger M, Mannhalter C, Wolfi G, Pabinger I, Muller E, Schmid R. Mutation (677 C to T) in the methylenetetrahydrofolate reductase gene aggravates hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. Kidney Int 1997; 52: 517-23

Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. J Am Soc Nephrol 1998; 9: 16-23

Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. Am J Kidney Dis 1998; 32: 112-119

Frankel A. Temporary access and central venous catheters. Eur J Vasc Endovasc Surg. 2006; 31: 417-422

Frei U, Schober-Halstenberg HJ, 1995/2006: Nierenersatztherapie in Deutschland. QuaSi-Niere Jahresberichte 1995 bis 2005/2006. http://www.quasi-niere.de/world_d.htm (25.11.2007)

Frei U, Schober-Halstenberg HJ, 2005/2006: Jahresbericht QuaSi-Niere 2004/2005 und 2006-2007. http://www.quasi-niere.de/world_d.htm. (12.11.2007)

Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, Hulbert-Shearon T, Port FK: Association of elevated serum PO(4), Ca x PO(4) product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2131-2138

Gerritsen T, Vaughn JG, Waisman HA. The identification of homocystine in the urine. *Biochem Biophys Res Commun* 1962; 9: 493-496

Gibson JB, Carson NA, Neill DW. Pathological findings in homocystinuria. *J Clin Pathol* 1964; 17: 427-437

Graham T. Liquid diffusion applied to analysis. *Philos Trans R Soc Lond* 1868; 151: 183-224

Graham T. Osmotic force. *Philos Trans R Soc Lond* 1854; 144: 177-228

Green R, Kinsella LJ. Current concepts in the diagnosis of cobalamin deficiency. *Neurology* 1995; 45: 1435-1440

Green TJ, Skeaff CM, Whiting SJ, Gibson RS. Effect of folic acid supplementation on plasma zinc concentrations of young women. *Nutrition* 2003; 19: 522-523

Guttormsen AB, Ueland PM, Svarstad E, Refsum H. Kinetic basis of hyperhomocysteinemia in patients with chronic renal failure. *Kidney Int* 1997; 52: 495-502

Gyorgy P. The history of vitamin B6. *Am J Clin Nutr* 1956; 4: 313-317

Haas G. Über versuche der blutauswaschung am lebenden mit hilfe der dialyse. *Arch Exp Pathol Pharmacol* 1926; 116: 158-172

Halwachs-Baumann G, Proteindiagnostik. In: Halwachs-Baumann G, Hrsg, *Labormedizin*. Wien NewYork: Springer, 2006: 231-246

Hatch FT, Larrabee AR, Cathou RE, Buchanan JM. Enzymatic synthesis of the methyl group of methionine. I. identification of the enzymes and cofactors involved in the system isolated from escherichia coli. *J Biol Chem* 1961; 236: 1095-1101

Henry RM, Kostense PJ, Bos G, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ. Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular mortality: The hoorn study. *Kidney Int* 2002; 62: 1402-1407

Hick C, Hick A. In Hick C, Hick A, Hrsg. *Kurzlehrbuch der Physiologie*. München: Urban und Fischer, 2000: 1-3, 183

Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: Oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int* 2002; 62: 1524-1538

Historical review. the history of folic acid. *British Journal of Haematology* 2001; 113: 579-589

Hodgkin DC. The x-ray analysis of complicated molecules. *Science*. 1965; 150: 979-988

Hoffbrand AV, Weir DG. The history of folic acid. *Br J Haematol*. 2001; 113: 579-589

Homocysteine Studies Collaboration. Homocysteine and risk of ischemic heart disease and stroke: a meta-analysis. *JAMA* 2002; 288: 2015-2022

Hotoleanu C, Porojan-luga M, Rusu ML, Andercou A. Hyperhomocysteinemia: Clinical and therapeutical involvement in venous thrombosis. *Rom J Intern Med* 2007; 45: 159-164

Huang T, Yuan G, Zhang Z, Zou Z, Li D. Cardiovascular pathogenesis in hyperhomocysteinemia. *Asia Pac J Clin Nutr* 2008; 17: 8-16

Hultberg B, Andersson A, Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40: 230-235

Huq MD, Tsai NP, Lin YP, Higgins L, Wei LN. Vitamin B6 conjugation to nuclear corepressor RIP140 and its role in gene regulation. *Nat Chem Biol* 2007; 3: 161-165

Iseki K, Shinzato T, Nagura Y, Akiba T. Factors influencing long-term survival in patients on chronic dialysis. *Clin Exp Nephrol* 2004; 8: 89-97

Jeker B, Colombani. Infoblatt Vitamin B6

Jin L, Caldwell RB, Li-Masters T, Caldwell RW. Homocysteine induces endothelial dysfunction via inhibition of arginine transport. *J Physiol Pharmacol* 2007; 58: 191-206

Joseph J, Joseph L. Hyperhomocysteinemia and cardiovascular disease: New mechanisms beyond atherosclerosis. *Metab Syndr Relat Disord* 2003; 1: 97-104

Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int* 2003; 63: 793-808

Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, McAllister CJ, Kopple JD. A low, rather than a high, total plasma homocysteine is an indicator of poor outcome in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 442-453

Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G, Avram MM, Kopple JD. Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: Causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 864-881

Kamien M. The repeating history of objections to the fortification of bread and alcohol: From iron filings to folic acid. *Med J Aust* 2006; 184: 638-640

Kang SS, Wong PW, Malinow MR. Hyperhomocyst(e)inemia as a risk factor for occlusive vascular disease. *Annu Rev Nutr* 1992; 12: 279-298

Karlson P, Doenecke D, Koolman J. Stoffwechsel der Proteine und Aminosäuren. In: Karlson P, Doenecke D, Koolman J, Hrsg, *Biochemie für Mediziner und Naturwissenschaftler*. Stuttgart, New York: Georg Thieme Verlag, 1994: 187-188, 410-412

KDOQI clinical practice guideline and clinical practice recommendations for anemia in chronic kidney disease: 2007 update of hemoglobin target. *Am J Kidney Dis* 2007; 50: 471–530

Kellum JA, Mehta RL, Angus DC, Palevsky P, Ronco C, ADQI Workgroup. The first international consensus conference on continuous renal replacement therapy. *Kidney Int* 2002; 62: 1855-1863

Kerkeni M, Addad F, Chauffert M, Myara A, Gerhardt M, Chevenne D. Hyperhomocysteinaemia, methylenetetrahydrofolate reductase polymorphism and risk of coronary artery disease. *Ann Clin Biochem* 2006; 43: 200-206

Kiil F. Development of a parallel-flow artificial kidney in plastics. *Acta Chir Scand Suppl* 1960; 253: 142-150

Kloosterman J, de Jong N, Rompelberg CJ, van Kranen HJ, Kampman E, Ocke MC. Folic acid fortification: Prevention as well as promotion of cancer. *Ned Tijdschr Geneesk* 2006; 150: 1443-1448

Kolff WJ, Berk HT, ter Welle M, van der LEY AJ, van Dijk EC, van Noordwijk J. The artificial kidney: A dialyser with a great area. 1944. *J Am Soc Nephrol* 1997; 8: 1959-1965

Kumar V. Pernicious anemia. *MLO Med Lab Obs* 2007; 39: 28, 30-31

Ledebo I. Principles and practice of hemofiltration and hemodiafiltration. *Artif Organs*. 1998; 22: 20-25

Lerner-Ellis JP, Tirone JC, Pawelek PD, Dore C, Atkinson JL, Watkins D. Identification of the gene responsible for methylmalonic aciduria and homocystinuria, cblC type. *Nat Genet* 2006; 38: 93-100

Lipps B, Stewart R, Perkins H, Holmes G, McLain E, Rolfs, M, Oja P. The hollow fiber artificial kidney. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1967; 13: 200–207

Locatelli F, Hannedouche T, Jacobson S, La Greca G, Loureiro A, Martin-Malo A. The effect of membrane permeability on ESRD: Design of a prospective randomised multicentre trial. *J Nephrol* 1999; 12: 85-88

Lovcic V, Kes P, Zeljko R, Kusec V. The treatment of hyperhomocysteinemia in patients on dialysis: Folic acid or the high-flow polysulphonic membrane? *Acta Med Croatica* 2006; 60: 201-218

Lovcic V, Kes P, Reiner Z. Characteristics of hyperhomocysteinemia in dialysis patients. *Acta Med Croatica* 2006; 60: 21-26

Maduell F. Hemodiafiltration. *Hemodial Int* 2005; 9: 47-55

Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Fermo I, Benedetto FA, Cataliotti A. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 61: 609-614

Massry SG, Smogorzewski M. Mechanisms through which parathyroid hormone mediates its deleterious effects on organ function in uremia. *Semin Nephrol* 1994; 14: 219-231

McCully KS. Hyperhomocysteinemia and arteriosclerosis: Historical perspectives. *Clin Chem Lab Med* 2005; 43: 980-986

McCully KS. Vascular pathology of homocysteinemia: Implications for the pathogenesis of arteriosclerosis. *Am J Pathol* 1969; 56: 111-128

Melo SS, Persuhn DC, Meirelles MS, Jordao AA, Vannucchi H. G1793A polymorphisms in the methylene-tetrahydrofolate gene: Effect of folic acid on homocysteine levels. *Mol Nutr Food Res* 2006; 50: 769-774

Merrill JP, Thorn GW, Walter CW, Callahan EJ, Hollingsworth Smith L. The use of an artificial kidney. I. technique. *J Clin Invest* 1950; 29: 412-424

Mitchell HK, Snell EE, Williams RJ. Journal of the american chemical society, vol. 63, 1941: The concentration of "folic acid" by herschel K. mitchell, esmond E. snell, and roger J. williams. Nutr Rev 1988; 46: 324-325

Morel CF, Lerner-Ellis JP, Rosenblatt DS. Combined methylmalonic aciduria and homocystinuria (cblC): Phenotype-genotype correlations and ethnic-specific observations. Mol Genet Metab 2006; 88: 315-321

Morris MS, Fava M, Jacques PF, Selhub J, Rosenberg IH. Depression and folate status in the US population. Psychother Psychosom 2003; 72: 80-87

Moustapha A, Gupta A, Robinson K, Arheart K, Jacobsen DW, Schreiber MJ. Prevalence and determinants of hyperhomocysteinemia in hemodialysis and peritoneal dialysis. Kidney Int 1999; 55: 1470-1475

Moustapha A, Naso A, Nahlawi M, Gupta A, Arheart KL, Jacobsen DW. Prospective study of hyperhomocysteinemia as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. Circulation 1998; 97: 138-141

MRC vitamin study research group. Prevention of neural tube defects: Results of the medical research council vitamin study. Lancet 1991; 338: 131-137

I. **NKF-K/DOQI** clinical practice guidelines for hemodialysis adequacy: Update 2000. Am J Kidney Dis 2001; 37: 7-64

II. **NKF-K/DOQI** clinical practice guidelines for peritoneal dialysis adequacy: Update 2000. Am J Kidney Dis 2001; 37: 65-136

III. **NKF-K/DOQI** clinical practice guidelines for vascular access: Update 2000. Am J Kidney Dis 2001; 37: 137-181

K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: Evaluation, classification, and stratification. American Journal of Kidney Diseases 2002; 39

Nobel lectures. Manuskript ihres Festvortrages anlässlich der Verleihung des Nobelpreises/ from nobel lectures, chemistry 1963-1970. Amsterdam: Elsevier Publishing Company, 1972

Nygaard O, Nordrehaug JE, Refsum H, Ueland PM, Farstad M, Vollset SE. Plasma homocysteine levels and mortality in patients with coronary artery disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 230-236

Nzila A. The past, present and future of antifolates in the treatment of plasmodium falciparum infection. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 1043-1054

Obeid R, Kuhlmann M, Kirsch CM, Herrmann W. Cellular uptake of vitamin B12 in patients with chronic renal failure. *Nephron Clin Pract* 2005; 99: 42-48

Ohkuma T, Minagawa T, Takada N, Ohno M, Oda H, Ohashi H. C-reactive protein, lipoprotein(a), homocysteine, and male sex contribute to carotid atherosclerosis in peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 355-361

Pachaly MA, do Nascimento MM, Suliman ME, Hayashi SY, Riella MC, Manfro RC. Interleukin-6 is a better predictor of mortality as compared to C-reactive protein, homocysteine, pentosidine and advanced oxidation protein products in hemodialysis patients. *Blood Purif* 2008; 26: 204-210

Palomares Bayo M, Oliveras Lopez MJ, Osuna Ortega A, Asensio Peinado C, Quesada Granados JJ, Lopez Garcia de la Serrana H. Resistance of hyperhomocysteinemia in renal patients to treatment with supra-physiological doses of parenteral folic acid. *Nutr Hosp* 2008; 23: 268-276

Pancharuniti N, Lewis CA, Sauberlich HE, Perkins LL, Go RC, Alvarez JO. Plasma homocyst(e)ine, folate, and vitamin B-12 concentrations and risk for early-onset coronary artery disease. *Am J Clin Nutr* 1994; 59: 940-948

Pedrini LA. On-line hemodiafiltration: Technique and efficiency. *J Nephrol* 2003; 16: 57-63

Perez RA, Blake PG, Spanner E, Patel M, McMurray S, Heidenheim P. High creatinine excretion ratio predicts a good outcome in peritoneal dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 36: 362-367

Pernod G, Bosson JL, Golshayan D, Barro C, Forneris G, Martina G, Bonfant G, Hurot JM, Turc-Baron C, Jouet C, Theytaz J, Jeantet A, Wauters JP, Cordonnier D; Diamant Alpin Collaborative Dialysis Study Group. Phenotypic and genotypic risk factors for cardiovascular events in an incident dialysis cohort. *Kidney Int* 2006; 69: 1424-1430

Perry IJ, Refsum H, Morris RW, Ebrahim SB, Ueland PM, Shaper AG. Prospective study of serum total homocysteine concentration and risk of stroke in middle-aged british men. *Lancet* 1995; 346: 1395-1398

Quadros EV, Hamilton A, Matthews DM, Linnell JC. Isolation of ⁵⁷Co-cobalamin coenzymes at high specific activity from streptomyces griseus. *J Chromatogr* 1978; 160: 101-108

Quinton W, Dillard D, Scribner BH. Cannulation of blood vessels for prolonged hemodialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1960; 6: 104-113

Refsum H, Ueland PM, Nygard O, Vollset SE. Homocysteine and cardiovascular disease. *Annu Rev Med* 1998; 49: 31-62

Rickes EL, Brink NG, Koniuszy FR, Wood TR, Folkers K. Comparative data on vitamin B12 from liver and from a new source, streptomyces griseus. *Science* 1948; 108: 634-635

Ridker PM, Manson JE, Buring JE, Shih J, Matias M, Hennekens CH. Homocysteine and risk of cardiovascular disease among postmenopausal women. *JAMA* 1999; 281: 1817-1821

Righetti M, Serbelloni P, Milani S, Ferrario G. Homocysteine-lowering vitamin B treatment decreases cardiovascular events in hemodialysis patients. *Blood Purif* 2006; 24: 379-386

Rindi P, Pilone N, Ricco V, Cioni L. Clinical experience with a new hemodiafiltration (HDF) system. *ASAIO Trans* 1988; 34: 765-768

Robins AJ, Milewczyk BK, Booth EM, Mallick NP. Plasma amino acid abnormalities in chronic renal failure. *Clin Chim Acta* 1972; 42: 215-217

Robinson K, Gupta A, Dennis V, Arheart K, Chaudhary D, Green R. Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation* 1996; 94: 2743-2748

Rosenberg IH, Streiff RR, Godwin HA, Castle WB. Absorption of polyglutamic folate: Participation of deconjugating enzymes of the intestinal mucosa. *N Engl J Med* 1969; 280: 985-988

Roy-Chaudhury P, Kelly BS, Melhem M, Zhang J, Li J, Desai P. Vascular access in hemodialysis: Issues, management, and emerging concepts. *Cardiol Clin* 2005; 23: 249-273

Ruscini JM, Page RL, Valuck RJ. Vitamin B(12) deficiency associated with histamine(2)-receptor antagonists and a proton-pump inhibitor. *Ann Pharmacother* 2002; 36: 812-816

Salim A, Tan E, Ilchyshyn A, Berth-Jones J. Folic acid supplementation during treatment of psoriasis with methotrexate: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Br J Dermatol* 2006; 154: 1169-1174

Sam R, Vaseemuddin M, Leong WH, Rogers BE, Kjellstrand CM, Ing TS. Composition and clinical use of hemodialysates. *Hemodial Int* 2006; 10: 15-28

Savica V, Calo L, Santoro D, Monardo P, Granata A, Bellinghieri G. Salivary phosphate secretion in chronic kidney disease. *J Ren Nutr* 2008; 18: 87-90

Scribner BH, Burir, Caner JE, Heegstrom R, Burnell JM. The treatment of chronic uremia by means of intermittent hemodialysis: A preliminary report. *Trans Am Soc Artif Intern Organs* 1960; 6: 114-122

Selim G, Stojceva-Taneva O, Sikole A, Amitov V, Trajcevska L, Asani A. Association between haemoglobin level and all-cause mortality in haemodialysis patients: The link with inflammation and malnutrition. *Prilozi* 2007; 28: 81-95

Shipchandler MT, Moore EG. Rapid, fully automated measurement of plasma homocyst(e)ine with the abbott IMx analyzer. *Clin Chem* 1995; 41: 991-994

Simic-Ogrizovic S, Stosovic M, Novakovic I, Pejanovic S, Jemcov T, Radovic M, Djukanovic L. Fuzzy role of hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients' mortality. *Biomed Pharmacother* 2006; 60: 200-207

Siri PW, Verhoef P, Kok FJ. Vitamins B6, B12, and folate: Association with plasma total homocysteine and risk of coronary atherosclerosis. *J Am Coll Nutr* 1998; 17: 435-441

Spinneker A, Sola R, Lemmen V, Castillo MJ, Pietrzik K, Gonzalez-Gross M. Vitamin B6 status, deficiency and its consequences--an overview. *Nutr Hosp* 2007; 22: 7-24

Stampfer MJ, Malinow MR. Can lowering homocysteine levels reduce cardiovascular risk? *N Engl J Med* 1995; 332: 328-329

Stampfer MJ, Malinow MR, Willett WC, Newcomer LM, Upson B, Ullmann D. A prospective study of plasma homocyst(e)ine and risk of myocardial infarction in US physicians. *JAMA* 1992; 268: 877-881

Stanger O, Herrmann W, Pietrzik K, Fowler B, Geisel J, Dierkes J. DACH-LIGA homocystein (german, austrian and swiss homocysteine society): Consensus paper on the rational clinical use of homocysteine, folic acid and B-vitamins in cardiovascular and thrombotic diseases: Guidelines and recommendations. *Clin Chem Lab Med* 2003; 41: 1392-1403

Stein G, Sperschneider H, Koppe S. Vitamin levels in chronic renal failure and need for supplementation. *Blood Purif* 1985; 3: 52-62

Stenvinkel P, Heimbürger O, Paulsen F, Diczfalussy U, Wang T, Berglund L. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-1911

Suliman M, Stenvinkel P, Qureshi AR, Kalantar-Zadeh K, Barany P, Heimbürger O. The reverse epidemiology of plasma total homocysteine as a mortality risk factor is related to the impact of wasting and inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 209-217

Suliman ME, Lindholm B, Barany P, Qureshi AR, Stenvinkel P. Homocysteine-lowering is not a primary target for cardiovascular disease prevention in chronic kidney disease patients. *Semin Dial* 2007; 20: 523-529

Suliman ME, Divino Filho JC, Barany P, Anderstam B, Lindholm B, Bergström J. Effects of high-dose folic acid and pyridoxine on plasma and erythrocyte sulfur amino acids in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1287-1296

Suliman ME, Qureshi AR, Barany P, Stenvinkel P, Filho JC, Anderstam B. Hyperhomocysteinemia, nutritional status, and cardiovascular disease in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2000; 57: 1727-1735

Suliman ME, Stenvinkel P, Qureshi AR, Barany P, Heimbürger O, Anderstam B. Hyperhomocysteinemia in relation to plasma free amino acids, biomarkers of inflammation and mortality in patients with chronic kidney disease starting dialysis therapy. *Am J Kidney Dis* 2004; 44: 455-465

Sullivan LW, Herbert V. Studies on the minimum daily requirement for vitamin B12. hematopoietic responses to 0.1 microgm. of cyanocobalamin or coenzyme B12, and comparison of their relative potency. *N Engl J Med* 1965; 272: 340-346

Teehan GS, Liangos O, Jaber BL. Update on dialytic management of acute renal failure. *J Intensive Care Med* 2003; 18: 130-138

Tefferi A, Pruthi RK. The biochemical basis of cobalamin deficiency. *Mayo Clin Proc* 1994; 69: 181-186

Tentori F, Blayney MJ, Albert JM, Gillespie BW, Kerr PG, Bommer J, Young EW, Akizawa T, Akiba T, Pisoni RL, Robinson BM, Port FK. Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* 2008; 52: 519-530

Thalheimer W. Experimental exchange transfusions for reducing azotemia: Use of artificial kidney for this purpose. *Proc Soc Exp Biol Med* 1937; 37: 641-643

Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, House A, Rabbat C, Fok M. Chronic kidney disease and mortality risk: A systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2006;17: 2034-2047

Ueland PM. Homocysteine species as components of plasma redox thiol status. *Clin Chem* 1995; 41: 340-342

The **USRDS** dialysis morbidity and mortality study: Wave 2. united states renal data system. *Am J Kidney Dis* 1997; 30: 67-85

Valette P, Thomas M, Dejardin P. Adsorption of low molecular weight proteins to hemodialysis membranes: Experimental results and simulations. *Biomaterials* 1999; 20: 1621-1634

Van Dam F, Van Gool WA. Hyperhomocysteinemia and alzheimer's disease: A systematic review. *Arch Gerontol Geriatr* 2008

Vianna AC, Mocelin AJ, Matsuo T, Morais-Filho D, Largura A, Delfino VA, Soares AE, Matni AM. Uremic hyperhomocysteinemia: a randomized trial of folate treatment for the prevention of cardiovascular events. *Hemodial Int* 2007; 1: 210-216

Verhoef P, Kok FJ, Kruyssen DA, Schouten EG, Witteman JC, Grobbee DE. Plasma total homocysteine, B vitamins, and risk of coronary atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1997; 17: 989-995

Wahba IM, Mak RH. Obesity and obesity-initiated metabolic syndrome: Mechanistic links to chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 550-562

Wald DS, Law M, Morris JK. Homocysteine and cardiovascular disease: Evidence on causality from a meta-analysis. *BMJ* 2002; 325: 1202

Wannamethee SG, Shaper AG, Perry IJ. Serum creatinine concentration and risk of cardiovascular disease: A possible marker for increased risk of stroke. *Stroke* 1997; 28: 557-563

Welch AD, Nichol CA. Water-soluble vitamins concerned with one and two-carbon intermediates. *Annu Rev Biochem* 1952; 21: 633-686

Welch GN, Loscalzo J. Homocysteine and atherothrombosis. *N Engl J Med* 1998; 338: 1042-1050

Whincup PH, Refsum H, Perry IJ, Morris R, Walker M, Lennon L. Serum total homocysteine and coronary heart disease: Prospective study in middle aged men. *Heart* 1999; 82: 448-454

Wills L. Treatment of "pernicious anaemia of pregnancy" and "tropical anaemia" with special reference to yeast extract as a curative agent. by Lucy Wills. *Nutr Rev* 1978; 3: 149-151

Wollesen F, Brattstrom L, Refsum H, Ueland PM, Berglund L, Berne C. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to glomerular filtration rate in diabetes mellitus. *Kidney Int* 1999; 55: 1028-1035

Wrone EM, Zehnder JL, Hornberger JM, McCann LM, Coplion NS, Fortmann SP. An MTHFR variant, homocysteine, and cardiovascular comorbidity in renal disease. *Kidney Int*. 2001; 60: 1106-1113

Yavuz A, Tetta C, Ersoy FF, D'intini V, Ratanarat R, De Cal M. Uremic toxins: A new focus on an old subject. *Semin Dial* 2005; 18: 203-211

Young EW, Albert JM, Satayathum S, Goodkin DA, Pisoni RL, Akiba T, Akizawa T, Kurokawa K, Bommer J, Piera L, Port FK. Predictors and consequences of altered

mineral metabolism: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study. *Kidney Int* 2005; 67: 1179-1187

Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 648-658

Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. It is important to lower homocysteine in dialysis patients. *Semin Dial* 2007; 20: 530-533

10. Danksagung

Herrn Prof. Dr. med. Rainer Woitas möchte ich an dieser Stelle sehr herzlich für die Vergabe des Themas danken.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. med. Thomas Gerhardt für die hervorragende und stets fördernde Betreuung. Durch seine großzügige Unterstützung, stete Geduld und seine ständige Diskussionsbereitschaft konnte diese Studie in dieser Form durchgeführt werden.

Weiterhin möchte ich Herrn Heinz Reuter ganz herzlich für seine mühevollen und vor allem kompetente sprachliche Durchsicht der Arbeit danken.

Mein größter Dank gilt Herrn Dr. med. Stefan Reuter für die hilfreiche fachliche Durchsicht und Korrektur des Manuskriptes, die vielen aufmunternden Worte, seine Geduld und Unterstützung.