

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik I
der Universität Würzburg
Direktor: Professor Dr. med. Georg Ertl

Die Untersuchung von Asymmetrischem und Symmetrischem Dimethylarginin, Homocystein und C-reaktivem Protein als kardiovaskuläre Biomarker mit besonderer Berücksichtigung des Schlaganfalls bei terminal niereninsuffizienten Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 an der Hämodialyse

Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Medizinischen Fakultät
der
Julius-Maximilians-Universität Würzburg
vorgelegt von
Daniela Margot Kerstin Link
aus Würzburg
Würzburg, Juli 2015

Referent: Priv.-Doz. Dr. med. Vera Krane

Koreferent: Prof. Dr. med. Christoph Kleinschnitz

Dekan: Prof. Dr. med. Matthias Frosch

Tag der mündlichen Prüfung: 18.12.2015

Die Promovendin ist Ärztin

Inhaltsverzeichnis

I	Einleitung	1
I.1	Allgemeines	1
I.2	Kardiovaskuläre Erkrankungen	1
I.2.1	Epidemiologie, Prävalenz bei chronischer Niereninsuffizienz	1
I.2.2	Pathogenese	3
I.2.3	Endotheliale Dysfunktion – Inflammation	5
I.3	Schlaganfall	6
I.4	Asymmetrisches Dimethylarginin, Symmetrisches Dimethylarginin, Homoarginin	7
I.4.1	Allgemeines	7
I.4.2	Produktion – Metabolisierung – Elimination	8
I.4.3	Pathophysiologische Rolle	9
I.4.4	Normalwerte	12
I.5	C-reaktives Protein	13
I.5.1	Allgemeines	13
I.5.2	Produktion	13
I.5.3	Pathophysiologische Rolle in Hinblick auf vaskuläre Erkrankungen	13
I.5.4	Normalwerte	15
I.6	Zielsetzungen	16
II	Material und Methoden	16
II.1	Die Deutsche Diabetes Dialyse Studie	16
II.1.1	Studiendesign und Patientenkollektiv	16
	<i>Studiendesign</i>	16
	<i>Patienten</i>	17
II.1.2	Endpunkte	18
	<i>Primärer Endpunkt</i>	18
	<i>Sekundärer Endpunkt</i>	18
II.2	Weg der Blutproben	19
II.3	Messverfahren der Biomarker	20
II.3.1	Asymmetrisches Dimethylarginin, Symmetrisches Dimethylarginin, Homoarginin	20
II.3.2	Sensitives C-reaktives Protein	21

II.4 Statistik	22
III Ergebnisse	24
III.1 Patientenkollektiv	24
III.2 Biomarker	25
III.2.1. Baseline Asymmetrisches Dimethylarginin	26
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	26
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	26
III.2.2 Baseline Symmetrisches Dimethylarginin	28
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	28
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	28
III.2.3 Baseline Homoarginin	30
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	30
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	30
III.2.4 Baseline Sensitives C-reaktives Protein	32
<i>Cox-Regressionsanalyse</i>	32
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	33
III.2.5 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - mittleres Sensitives C-reaktives Protein	35
<i>Cox-Regressionsanalyse</i>	35
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	36
III.2.6 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - Post-Baseline/Baseline Rate des Sensitiven C-reaktiven Proteins.....	37
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	37
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	38
III.2.7 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - Post-Baseline/Baseline Rate des Sensitiven C-reaktiven Proteins, Baseline \leq Median	40
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	40
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	41
III.2.8 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - Post-Baseline/Baseline Rate des Sensitiven C-reaktiven Proteins, Baseline $>$ Median	42
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	42
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	43
III.2.9 Sensitives C-reaktives Protein und LDL-Cholesterin bei Baseline.....	44
<i>Multivariate Cox-Regressionsanalyse</i>	44
<i>Kaplan-Meier Schätzer</i>	45
III.2.10 Atorvastatin-Einfluss.....	46

<i>Allgemeines</i>	46
<i>Parameter (Asymmetrisches und Symmetrisches Dimethylarginin, Homoarginin, Sensitives C-reaktives Protein)</i>	46
IV Diskussion	52
IV.1 Allgemeines	52
IV.2 Einordnung der untersuchten Parameter	53
IV.2.1 Asymmetrisches Dimethylarginin.....	53
IV.2.2 Symmetrisches Dimethylarginin.....	54
IV.2.3 Asymmetrisches- und Symmetrisches Dimethylarginin im Vergleich.....	55
IV.2.4 Homoarginin	55
IV.2.5 Korrelation der Biomarker für endotheliale Dysfunktion mit Nierenfunktion/Hämodialyse.....	56
IV.2.6 Korrelation der Biomarker für endotheliale Dysfunktion mit Diabetes mellitus.....	57
IV.2.7 Sensitives C-reaktives Protein.....	57
IV.2.8 Korrelation von sensitivem C-reaktiven Protein mit Nierenfunktion/Hämodialyse..	58
IV.2.9 Korrelation von sensitivem C-reaktiven Protein mit Diabetes mellitus.....	59
IV.3 Assoziation von Asymmetrischem Dimethylarginin mit klinischen Ereignissen	59
IV.4 Assoziation von Symmetrischem Dimethylarginin mit klinischen Ereignissen	64
IV.5 Assoziation von Homoarginin mit klinischen Ereignissen	67
IV.6 Assoziation von sensitivem C-reaktiven Protein mit klinischen Ereignissen	70
IV.7 Atorvastatin-Einfluss	78
IV.8 Limitationen und Stärken dieser Arbeit	80
V Zusammenfassung	81
VI Ausblick	83
VII Literaturverzeichnis	84

I Einleitung

I.1 Allgemeines

Die Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen bei Hämodialyse-Patienten ist mit 80% sehr hoch.^[1] Die häufigsten ursächlichen Erkrankungen für eine neu aufgetretene terminale Niereninsuffizienz sind Diabetes mellitus und arterielle Hypertonie. Obwohl die Inzidenz der terminalen Niereninsuffizienz, die Rate an neuen Fällen terminaler Niereninsuffizienz aufgrund von Diabetes mellitus und auch die Gesamtmortalität 2011 leicht fielen, liegt die Gesamtmortalität dieser Patienten wesentlich (6,5 bis 7,9 mal) über der der Allgemeinbevölkerung. Die Inzidenz von Schlaganfällen übersteigt die der Normalbevölkerung deutlich (8-10 mal) und der akute Schlaganfall ist bei diesem Patientenkollektiv mit einem schlechteren Überleben assoziiert.^[2, 3] Da sich mit abnehmender Nierenfunktion der Prozess der Atherosklerose beschleunigt, scheint sich das kardiovaskuläre Risikofaktorprofil für Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz von dem der Allgemeinbevölkerung zu unterscheiden. Eine große Rolle bei der Genese und dem Progress der Atherosklerose spielen unter anderem endotheliale Dysfunktion und Inflammation.^[4]

Im Folgenden soll daher der prädiktive Wert einiger Marker für endotheliale Dysfunktion und Inflammation in Bezug auf das Auftreten eines Schlaganfalles bei hämodialysepflichtigen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 untersucht werden.

I.2 Kardiovaskuläre Erkrankungen

I.2.1 Epidemiologie, Prävalenz bei chronischer Niereninsuffizienz

Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz haben ein höheres Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen und ein schlechteres kardiovaskuläres Outcome bei Interventionen und Operationen.^[5, 6] Zudem ist die chronische Niereninsuffizienz (selbst geringeren Stadiums) unabhängig assoziiert mit kardiovaskulären Erkrankungen und Gesamtmortalität.^[7] Mit fallender Nierenfunktion steigt das kardiovaskuläre Risiko (siehe Tabelle 1).^[8, 9] Die führenden Ursachen für eine neu aufgetretene terminale Niereninsuffizienz stellten 2011 Diabetes

mellitus (45%) und arterielle Hypertonie (28%) dar. Die Inzidenz der terminalen Niereninsuffizienz, der Rate neuer Fälle aufgrund von Diabetes mellitus als Grunderkrankung und die Gesamtmortalität dieser Patienten sowie die Krankenhausaufenthalte sinken mittlerweile langsam, was für ein besseres Verständnis der chronischen Niereninsuffizienz zeugt. Dennoch lebten beispielsweise 2006 nach drei Jahren Nierenersatztherapie nur noch 52% der Hämodialyse-Patienten und 61% der Peritonealdialyse-Patienten. Nach Alter, Geschlecht und Rasse adjustierte Raten für die Gesamtmortalität der Dialysepatienten liegen im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung circa achtmal höher. Unter den Dialysepatienten haben diejenigen mit Diabetes die ungünstigste Prognose.^[3] Bereits seit 1979 ist bekannt, dass Diabetiker ein zwei- bis dreifach erhöhtes Risiko für klinisch evidente Atherosklerose haben.^[10]

Die kardiovaskuläre Mortalität bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz ist zehn bis 20 mal höher als in der Normalbevölkerung - mehr als 50 % der terminal niereninsuffizienten Patienten sterben aufgrund von kardiovaskulären Erkrankungen, die somit die Haupttodesursache darstellen.^[3, 7, 11, 12] Die Mehrheit der Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz Stadium 3 und 4 sterben aufgrund einer kardiovaskulären Erkrankung bevor sie eine terminale Niereninsuffizienz erreichen.^[8] Während in der Allgemeinheit das kardiovaskuläre Risiko sich hauptsächlich über die Inzidenz der Myokardinfarkten definiert, variiert dies bei fortgeschritten und terminal niereninsuffizienten Patienten deutlich. Zum Beispiel litten 2011 43% der chronisch niereninsuffizienten Patienten mit kardiovaskulärer Erkrankung an Herzinsuffizienz, 15,1% an stattgehabtem Myokardinfarkt und 26,7% an Schlaganfall. Im Vergleich zu Patienten mit kardiovaskulärer Erkrankung ohne chronische Niereninsuffizienz war der Anteil derer, die mehr als eine dieser Erkrankungen hatte, deutlich höher.^[3]

Tabelle 1 Adjustierte Hazard Ratio für Gesamtmortalität, kardiovaskuläres Ereignis und Krankenhausaufenthalt nach geschätzter GFR an der amerikanischen Allgemeinbevölkerung (The Kaiser Permanent Renal Registry);

geschätzte GFR [ml/min/1.73 m ²]	Gesamtmortalität [adjustierte HR (95% KI)]	kardiovaskuläres Ereignis [adjustierte HR (95% KI)]	jeglicher Krankenhausaufenthalt [adjustierte HR (95% KI)]
≥ 60*	1.00	1.00	1.00
45-59	1.2 (1.1-1.2)	1.4 (1.4-1.5)	1.1 (1.1-1.1)
30-44	1.8 (1.7-1.9)	2.0 (1.9-2.1)	1.5 (1.5-1.5)
15-29	3.2 (3.1-3.4)	2.8 (2.6-2.9)	2.1 (2.0-2.2)
<15	5.9 (5.4-6.5)	3.4 (3.1-3.8)	3.1 (3.0-3.3)

Die GFR wurde nach vereinfachter MDRD-Formel geschätzt;^[13] *) diese Gruppe diente als Referenzgruppe; adjustiert wurde nach Alter, Geschlecht, Einkommen, Erziehung, Notwendigkeit von Hämodialyse, Vorhandensein von koronarer Herzerkrankung, chronischer Herzinsuffizienz, ischämischem Schlaganfall oder transitorisch ischämischer Attacke, peripherer arterieller Verschlusskrankheit, Diabetes mellitus, arterieller Hypertonie, Dyslipidämie, Malignom, Albumin ≥3,5 g/dL, Demenz, Leberzirrhose oder chronische Lebererkrankung, chronische Lungenerkrankung, dokumentierter Proteinurie und frühere Krankenhausaufenthalte.^[9]

I.2.2 Pathogenese

Die Pathogenese von Herz- und Nierenerkrankungen ist eng miteinander verflochten und bei diesem Patientenkollektiv nicht allein durch traditionelle Risikofaktoren (Alter, Dyslipidämie, Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Nikotinkonsum, Adipositas, Bewegungsmangel, männliches Geschlecht) erklärlich.^[11, 14, 15] So ist neben dem unterschiedlichen Verteilungsmuster der kardiovaskulären Erkrankungen auch ein geringerer Effekt etablierter Therapien zu verzeichnen (z.B. Statintherapie, AURORA, 4D, SHARP).^[16, 17, 18] In der Klinik spricht man häufig vom kardiorenenalen Syndrom (siehe Tabelle 2), dessen Definition sich über eine kombinierte Störung von Herz und Nieren ergibt, wobei eine akute oder chronische Dysfunktion in einem Organ eine akute oder chronische Dysfunktion in dem anderen Organ bedingt.^[19] Die pathophysiologischen Mechanismen sind komplex und noch nicht vollends verstanden. Zusätzlich zu den klassischen Risikofaktoren spielen Risikofaktoren eine Rolle, welche aufgrund der chronischen Niereninsuffizienz entstanden sind: Anämie, sekundärer Hyperparathyreoidismus, chronische Volumen- und Druckbelastung, bioinkompatible Dialysemembranen, gesteigerte Sympathikus-Aktivität, urämische Toxine, Hyperhomocysteinämie, oxidativer Stress, Inflammation und endotheliale Dys-

funktion.^[6, 20, 21, 22, 23] Diese Risikofaktoren (siehe Abbildung 1) führen unter anderem zu einer Aktivierung und Potenzierung der inflammatorischen Antwort des arteriellen Gefäßsystems und damit zu Atherosklerose, welche sich bei terminal niereninsuffizienten Patienten mit hoher Prävalenz präsentiert.^[3, 23]

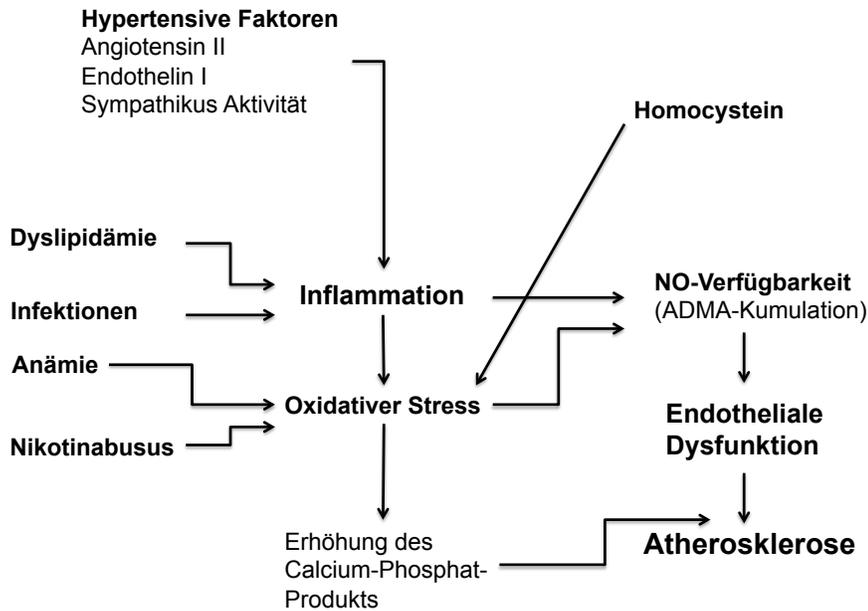


Abbildung 1 An Inflammation und Atherosklerose beteiligte Faktoren^[23]

Tabelle 2 Fünf Subtypen des Kardiorenenalen Syndroms nach der Konsensus Konferenz der Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI);^[19]

Kardiorenales Syndrom Typ I – akutes kardiorenales Syndrom
plötzliche Verschlechterung der Herzfunktion (beispielsweise durch akut dekompensierte Herzinsuffizienz), welche zu einem akuten Nierenschaden führt
Kardiorenales Syndrom Typ II – chronisches kardiorenales Syndrom
chronische Abnormalität der Herzfunktion (beispielsweise durch chronische Herzinsuffizienz), welche eine progressive und permanente chronische Nierenschädigung verursacht
Kardiorenales Syndrom Typ III – akutes renokardiales Syndrom
plötzliche Verschlechterung der Nierenfunktion (beispielsweise akute Niereninsuffizienz), welche eine akute Störung des Herzens mit sich bringt (akute Herzinsuffizienz)
Kardiorenales Syndrom Typ IV – chronisches renokardiales Syndrom
chronische Nierenerkrankung (diabetische Nephropathie), welche beiträgt zu einer sich verschlechternden Herzfunktion, kardialen Hypertrophie, Fibrose und/oder einem erhöhten Risiko ungünstiger kardiovaskulärer Ereignisse
Kardiorenales Syndrom Typ V – sekundär erworbenes kardiorenales Syndrom
systemische Umstände (beispielsweise Sepsis), welche zu akutem Herz- und Nierenschaden und –Dysfunktion führen

I.2.3 Endotheliale Dysfunktion – Inflammation

Der Gefäßtonus wird unter anderem kontrolliert durch vom Endothel stammende Substanzen wie beispielsweise Stickstoffmonoxid (NO), einem starken endogenen Vasodilatator, und Prostacyclin. Eine reduzierte Bioverfügbarkeit von NO stellt den entscheidenden Mechanismus für endotheliale Dysfunktion dar.^[24, 25] Verschiedene Faktoren können die initiale Störung der Endothelfunktion verursachen (siehe Abbildung 1).

Inflammation beeinträchtigt die reguläre Funktion des Endothels zum Beispiel durch Erhöhung der Konzentrationen von zirkulierenden Gerinnungsfaktoren wie Fibrinogen. Unter normalen Umständen übt das Endothel (z.B. mittels NO) einen antikoagulatorischen und vasodilatierenden Einfluss auf das kardiovaskuläre System aus. Eine Exposition gegenüber proinflammatorischen Cytokinen z.B. im Rahmen von Infektionen führt zur Expression von Gewebefaktor, Adhäsionsmolekülen und somit erhöhter Koagulabilität. In der Akutphase kommt es zur Vasodilatation durch gesteigerte NO-Produktion. In der Anwesenheit von Superoxid Anion werden Peroxynitrite gebildet, die durch Nitrosierung von Proteinen und

Enzymen oder irreversible Inhibierung der mitochondrialen Funktion zu Schaden an der Gefäßwand führen können. Nach Konsolidierung der Infektion kommt es zu einer „Starre“ des Endothels aufgrund einer vorübergehenden Reduktion der NO- und Prostanoid-Produktion. Jede persistierende endotheliale Dysfunktion stört wiederum das Gleichgewicht der Mediatoren und begünstigt Thrombembolien und Vasokonstriktion.^[26] Bei Fortschreiten des inflammatorischen Prozesses kommt es durch Stimulation der Proliferation glatter Muskelzellen zur Verdickung der Gefäßwand, was zunächst durch arterielles Remodelling (kompensatorische) Dilatation ausgeglichen wird. Makrophagen und Lymphozyten, welche als Mediatoren fungieren, kumulieren, hydrolytische Enzyme, Cytokine und Wachstumsfaktoren werden freigesetzt und erzeugen lokale Nekrosen. An diese Nekrosen organisieren sich Lipide und eine fibröse Kapsel, was über einen Circulus vitiosus zu einem fibrotischen Umbau der Gefäßwand und schließlich Bildung von Stenosen führt. Von Makrophagen produzierte Metalloproteinasen können die fibröse Kapsel zerstören, woraus eine Plaqueinstabilität und lokale prokoagulatorische Prozesse resultieren.^[4, 23, 26]

I.3 Schlaganfall

Zunächst muss - obwohl der Anteil der ischämischen Schlaganfälle der größte ist - beachtet werden, dass es unterschiedliche Schlaganfallssubtypen (nach TOAST Kriterien) gibt: makrovaskulär, kardioembolisch, mikrovaskulär bedingte, Schlaganfall aufgrund bestimmter Ätiologie und Schlaganfall aufgrund unbestimmter Ätiologie.^[27] Die Ursachen und Risikofaktoren sind folglich vielfältig und reichen - um nur einige zu nennen - von genetischen Prädispositionen, subkortikaler arteriosklerotischer Enzephalopathie, arterieller Hypertonie, Nikotinkonsum, Diabetes mellitus, erhöhtem Alkoholkonsum, Adipositas, Diät, physischem Stress und Depressionen bis hin zu fehlender regelmäßiger körperlicher Aktivität.^[28] Die Verteilung dieser Risikofaktoren scheint im Vergleich von ischämischen zu hämorrhagischen Infarkten etwas unterschiedlich gewichtet zu sein.^[29] Insgesamt ist die arterielle Hypertonie vermutlich dennoch der Hauptverursacher von Schlaganfällen jeglicher Art.^[30] Inflammation und endotheliale Dysfunktion wurden an vielen Stellen als auslösende pathophysiologische Mechanismen vermutet.^[31, 32]

Die Inzidenzen für transitorisch ischämische Attacken (TIA), stumme zerebrale Infarkte und Schlaganfall sind bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, vor allem bei prä-existenter Atherosklerose, deutlich höher als in der Normalbevölkerung.^[21, 33, 34, 35, 36] Der relative Anteil hämorrhagischer Schlaganfälle scheint im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung erhöht und der Krankenhausaufenthalt prolongiert zu sein.^[36] Die Diagnose des Schlaganfalls wird bei Dialysepatienten häufig spät gestellt (CHOICE Studie: mediane Dauer von 8,5 Stunden vom Beginn der Symptome bis zur Krankenhausaufnahme) und geht einher mit einer gesteigerten Morbidität und Mortalität sowie einer schlechten Prognose.^[2, 27, 37] Die Pathophysiologie erklärt sich durch beschleunigte vaskuläre Kalzifikation und Atherosklerose der Carotiden, Herzinsuffizienz und gestörte cerebrale Autoregulation.^[37, 38] Weiterhin sind unter anderem die reduzierte Nierenfunktion^[27] und auch die Hämodialyse (z.B. durch lokale cerebrale Minderdurchblutung) zu nennen.^[2, 38, 39, 40] Der im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung erhöhte Anteil an hämorrhagischen Schlaganfällen bei Dialysepatienten^[37, 41] könnte durch arterielle Hypertonie, zeitweiser intravasaler Hypervolämie und die Notwendigkeit der Antikoagulation im Rahmen der Dialyse erklärt sein. Allerdings scheint die Inzidenz für hämorrhagische Schlaganfälle auch mit der Nationalität zusammenzuhängen.^[27, 37] Wie sich das gehäufte Auftreten von Vorhofflimmern auswirkt, wird gegenwärtig erörtert.^[38, 41] Ob neben den traditionellen Risikofaktoren^[42] endotheliale Dysfunktion und Inflammation eine Rolle spielen, wird noch kontrovers diskutiert.^[31, 32, 43, 44, 45]

I.4 Asymmetrisches Dimethylarginin, Symmetrisches Dimethylarginin, Homoarginin

I.4.1 Allgemeines

Vallance et al. erkannten, dass der NO-Synthase-Inhibitor ADMA bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz akkumuliert.^[46] Sie spekulierten, dass es in seiner Rolle als Mediator des Gefäßtonus bzw. Vasokonstriktors einen entscheidenden Anteil an der Pathogenese von arterieller Hypertonie innehaben würde.^[46, 47] Vermutlich da bei Vallance et al. ADMA, aber nicht SDMA, die NO-Synthese in vitro und in vivo inhibierte, wurde zunächst

ersterem mehr Beachtung geschenkt. Fleck et al. und Bode-Böger et al. fanden schließlich einen Zusammenhang zwischen SDMA und arterieller Hypertonie bei niereninsuffizienten Patienten, sodass diese postulierten, dass auch SDMA als Marker für kardiovaskuläre Erkrankungen bei diesem Patientenkollektiv fungiert.^[48, 49] Homoarginin wurde lange Zeit als interner Standard bei der Analyse der Dimethylarginine verwendet, seine Rolle als Gefäßmediator und kardiovaskulärer Biomarker wurde erst kürzlich entdeckt.^[50, 51]

I.4.2 Produktion – Metabolisierung – Elimination

Die beiden endogenen Dimethylarginine Asymmetrisches DimethylArginin/ADMA und Symmetrisches DimethylArginin/SDMA sind Strukturanaloga der Aminosäure L-Arginin. Beide stammen von Proteinen aus dem Nucleolus, welche posttranslational methyliert und hydrolysiert wurden. Typ I Enzyme katalysieren die Bildung von ADMA und L-NMMA, Typ II Enzyme (PRMT 5 und 7) die von SDMA.^[52, 53, 54] Diese Proteine sind in die RNA-Prozessierung und transkriptionale Kontrolle involviert.^[52, 55] Als Substrat dient diesen Enzymen L-Arginin.^[47]

Homoarginin/H-Arginin ist eine kationische Aminosäure, welche vermutlich durch Transamidisierung von Lysin vor allem in der Niere synthetisiert wird.^[56, 57] Hinweise hierfür wurden auch in der LURIC Studie gewonnen, in der eine signifikante Korrelation von Homoarginin mit Lysin gefunden wurde.^[50] Die Bildung von H-Arginin wird enzymatisch durch die L-Arginin:Glycin Amidinotransferase (AGAT oder GATM), welche hauptsächlich in den Nieren exprimiert wird^[58], gesteuert. Als Homolog von L-Arginin unterscheidet H-Arginin sich durch Anfügen einer Methylgruppe.

Neben der renalen Exkretion findet der Hauptmetabolisierungsweg von ADMA über das Enzym Dimethylarginin-Dimethylaminohydrolase (DDAH) statt, welches das Substrat zu Dimethylamin und L-Citrullin hydrolysiert.^[52, 59, 60] Die verschiedenen Isoformen (I, II) finden sich in unterschiedlichen Geweben und werden beispielsweise in der Niere exprimiert.^[52, 61] Aus diesen Gründen führt eine Niereninsuffizienz bereits vor Abfall der GFR zu einem Anstieg von ADMA.^[62] SDMA wird im Gegensatz zu ADMA, welches über die DDAH abgebaut wird, vermutlich ausschließlich via renale Exkretion ausgeschieden.^[62] Einige Studien fanden eine enge Korrelation zwischen Serum Kreatinin, GFR und SDMA,

so dass SDMA als sensitiver Marker für die Nierenfunktion, schon in frühen Stadien der Niereninsuffizienz, fungieren kann.^[48, 49] H-Arginin wird über die Nieren ausgeschieden, welche zu einem Großteil zur Bildung von H-Arginin durch Transamidisierung von L-Lysin beitragen.^[56, 57]

I.4.3 Pathophysiologische Rolle

Wie bereits erläutert, führt die reduzierte Bioverfügbarkeit von NO zu endothelialer Dysfunktion - einem Schlüsselprozess der Atherogenese. Als endogener Inhibitor der NO-Synthese kann ADMA die vaskuläre Compliance reduzieren, den Gefäßwiderstand erhöhen und somit den Blutfluss vermindern. Durch ein Entgegenwirken vasoprotektiver Effekte von NO begünstigt ADMA zusätzlich die Atherosklerose.^[47]

Eine Familie von NO-Synthasen (endotheliale, neuronale und Makrophagen-Isoformen) konvertieren L-Arginin zu NO und Citrullin.^[63] Dieser Schritt kann durch kompetitive Blockade von L-NMMA (N^G-Monomethyl-L-Arginin) und ADMA, nicht aber von SDMA, inhibiert werden.^[64]

Zudem konkurrieren ADMA und L-Arginin um den gleichen Transporter auf dem Weg in die Zelle, was letztlich in einer Erschöpfung der L-Arginin-Speicher resultiert.^[65] Da die Konzentrationen von ADMA in etwa zehnmal so hoch sind wie die von L-NMMA^[46], spielt ersteres vermutlich eine wesentlich größere Rolle. ADMA führt auch zu einer erhöhten Freisetzung von Sauerstoffradikalen in der Gefäßwand sowie zu einem konzentrationsabhängigen Anstieg mononukleärer Leukozyten am Endothel (reversibel durch L-Arginin).^[66] SDMA inhibiert zwar nicht direkt die NOS, könnte aber dennoch einen indirekt inhibierenden Effekt durch Limitierung der Substratbereitstellung (L-Arginin) des Enzyms haben (Konkurrenz mit L-Arginin-Transport und Behinderung der renalen L-Arginin-Rückresorption).^[65, 67] Die physiologische Rolle von H-Arginin ist nicht bekannt, aber aufgrund seiner strukturellen Ähnlichkeit zu L-Arginin liegt die Vermutung nahe, dass es als Alternativsubstrat für die Nitrit-Oxid-Synthase (NOS) dient.^[68, 69, 70] H-Arginin erhöht die Verfügbarkeit von NO (enzymatisch, kalziumabhängig: Alternativsubstrat für die NOS)^[24, 71] und moduliert somit ebenso die endotheliale Funktion.^[51, 72, 73]

Ein Inhibieren der Aktivität der DDAH in vitro führt zu einer Akkumulation von ADMA und einer dosisabhängigen Vasokonstriktion (welche durch Zugabe von L-Arginin wieder rückgängig gemacht werden kann).^[74] Die DDAH kann durch viele Faktoren in ihrer Aktivität abgeschwächt werden: Hyperlipidämie (bzw. Insulinresistenz), Hyperglykämie, Hyperhomocysteinämie, Rauchen, inflammatorische Zytokine und hohe Dosen an Erythropoetin.^[75, 76, 77, 78, 79, 80, 81]

Abbildung 2 gibt einen Überblick über die Metabolisierung von ADMA und über einige seiner Effekte.

Sowohl durch in vitro- als auch in vivo-Versuche mit ADMA-Infusionen (lokal und systemisch) konnte gezeigt werden, dass dieses zu einer Zunahme des arteriellen Gefäßtonus führt^[46, 82] und somit den systemvaskulären Widerstand und Blutdruck erhöht und die Herzfrequenz, den kardialen Auswurf und die cerebrale und renale Perfusion vermindert.^[83, 84] An verschiedenen Patientenpopulationen wurde bereits demonstriert, dass ADMA sich als Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität eignet.^[85, 86, 87, 88, 89] Aus beschriebenen Gründen sind ADMA und SDMA bei chronischer Niereninsuffizienz erhöht. Erhöhtes ADMA ist mit einem Progress der Niereninsuffizienz assoziiert.^[62, 90, 91] ADMA wurde als Risikofaktor für Atherosklerose, linksventrikuläre Hypertrophie, kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität bei Dialysepatienten beschrieben.^[91, 92, 93, 94, 95] Bei der Allgemeinbevölkerung^[96, 97, 98, 99, 100, 101] und auch bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz^[102, 103, 104] sah man Assoziationen von erhöhtem ADMA mit cerebraler Minderdurchblutung, Intima-Media-Dicke der Carotiden und Schlaganfällen (hauptsächlich ischämisch). In einzelnen Studien konnte nachgewiesen werden, dass ADMA und SDMA mit dem funktionellen Outcome nach Schlaganfall sowie dem Langzeit-Überleben nach dem Ereignis korrelieren.^[105, 106]

SDMA scheint ein Marker für die Nierenfunktion zu sein, es korreliert aber auch mit dem Ausmaß der Koronarsklerose sowie der kardiovaskulären und Gesamtmortalität.^[48, 107] Ebenso ist das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse mit erhöhtem SDMA assoziiert.^[108] Dies konnte zwar auch für chronisch niereninsuffiziente Patienten nachgewiesen werden^[109], allerdings stellen terminal niereninsuffiziente Patienten aufgrund des exponentiellen Anstiegs von SDMA mit sistierender Diurese möglicherweise eine Ausnahme dar.^[92] Bezüglich Intima-Media-Dicke der Carotiden und Schlaganfällen ist die Studienlage nicht

ganz eindeutig. Einige Arbeitsgruppen können bei ischämischen und kardioembolischen Schlaganfällen sowie TIAs erhöhte Werte für SDMA nachweisen.^[100, 110] Der Wert der SDMA-Bestimmung bei niereninsuffizienten Patienten liegt aber vor allen Dingen in seiner Aussagekraft in Hinblick auf das Langzeitüberleben nach Schlaganfall.^[105, 106]

H-Arginin als Biomarker weckt erst seit Kurzem allgemeines Interesse. Wenige Studien beschrieben eine Assoziation mit Herzfunktion, kardiovaskulärer und Gesamtmortalität bei Patienten mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko und bei chronisch niereninsuffizienten Patienten.^[50] Niedriges H-Arginin ist auch mit systolischer und diastolischer Dysfunktion^[111, 112] sowie mit plötzlichem Herztod und Tod aufgrund von Herzinsuffizienz verbunden.^[111, 113] H-Arginin korreliert offensichtlich mit der Nierenfunktion^[114] - fallen beide, wirkt der negative Effekt synergistisch.^[115] Niedrige H-Arginin-Spiegel sind des Weiteren mit einem erhöhten Risiko für Schlaganfälle und mit stattgehabten Schlaganfällen verbunden.^[111] Das Ausmaß eines Schlaganfalls und Überleben nach dem Ereignis wird durch H-Arginin beeinflusst.^[68]

Die Datenlage bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz ist schlecht untersucht.

Zusammenhänge von ADMA, SDMA und H-Arginin mit Diabetes mellitus sind noch nicht ausreichend erforscht. Teils werden bei Patienten mit Diabetes mellitus, auch bei Patienten mit diabetischer Nephropathie, erhöhte ADMA-Werte gefunden,^[75, 116, 117] teils ist SDMA erniedrigt oder es wird keine Korrelation gesehen.^[49] Tanhäuserová et al. sahen einen Zusammenhang der Dimethylarginine mit dem Progress der diabetischen Nephropathie.^[118] Offensichtlich scheint zu sein, dass endotheliale Dysfunktion und Insulin-Resistenz assoziiert sind.^[119, 120, 121]

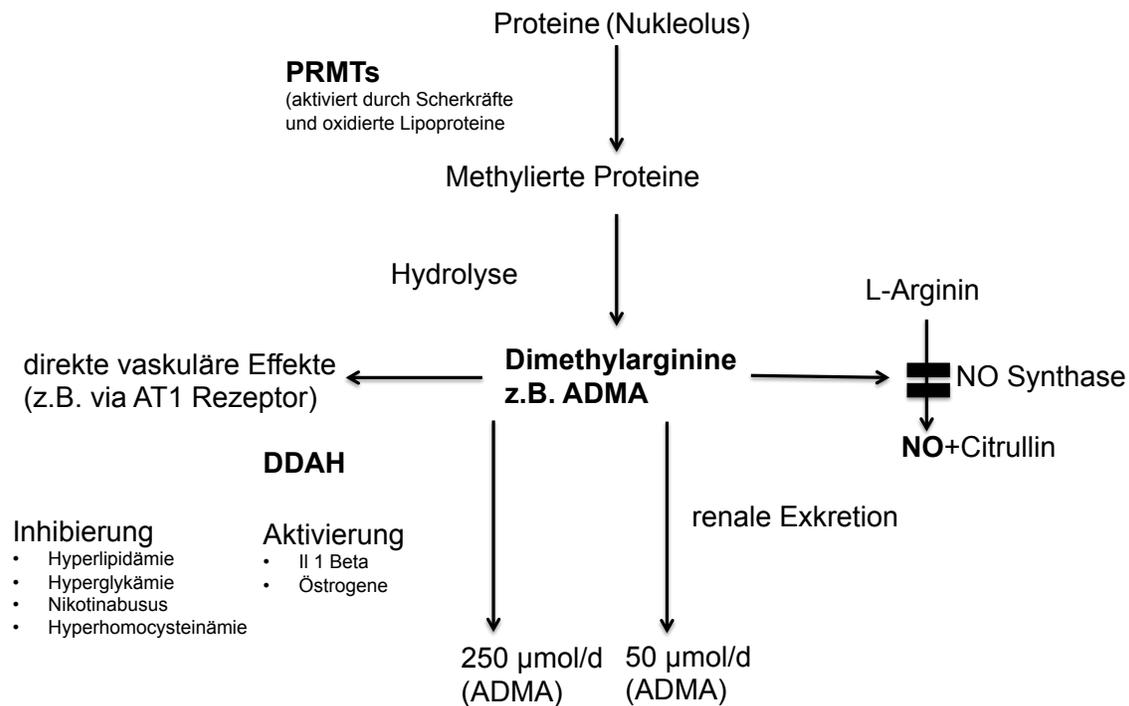


Abbildung 2 Haupteffekte und Metabolisierung von ADMA - vereinfachte Darstellung^[20]

I.4.4 Normalwerte

Ebenso wie Alter, Geschlecht und Bestimmungsmethode beeinflussen verschiedene Krankheitsbilder die Konzentration der Dimethylarginine und der von H-Arginin.^[66, 122] Zum Beispiel bei Atzler et al. wurde eine derartige Referenz-Werte Tabelle erstellt (Kollektiv aus der Normalbevölkerung). Die 2.5%- und 97.5%-Perzentile für Frauen und Männer wurde errechnet: H-Arginin: 1,20 und 5,53 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Frauen) bzw. 1,41 und 5,00 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Männer), ADMA: 0,43 und 0,96 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Frauen) bzw. 0,41 und 0,95 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Männer), SDMA: 0,27 und 0,63 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Frauen) bzw. 0,30 und 0,67 $\mu\text{mol L}^{-1}$ (Männer).^[123] Lu et al identifizierten einen ADMA-Wert von 0,47 $\mu\text{mol L}^{-1}$ als Cutoff für ein schlechtes Outcome (Tod jeglicher Ursache und kombinierter Endpunkt aus Tod jeglicher Ursache, nicht-tödlicher Myokardinfarkt und Schlaganfall).^[93]

I.5 C-reaktives Protein

I.5.1 Allgemeines

CRP besteht aus fünf identischen Polypeptidketten mit jeweils einem Molekulargewicht von 25106 Da (je nach Messmethode etwas differierende Werte) und gehört damit zu den Pentraxinen.^[22, 124, 125, 126] Erhöhte CRP-Werte finden sich unter anderem bei Rauchern, im Rahmen von Atherosklerose, bei psychischem Stress, bei Diabetikern, Schwangeren, metabolischem Syndrom, Insulinresistenz, endothelialer Dysfunktion, erhöhten systolischen Blutdrücken und chronischer Niereninsuffizienz/Hämodialyse.^[127, 128, 129, 130, 131, 132]

I.5.2 Produktion

Das Akute-Phase-Protein CRP wird hauptsächlich in Hepatozyten gebildet. Zusätzlich wird es in atherosklerotischen Läsionen (vor allen Dingen durch glatte Muskelzellen und Makrophagen), in Niere, Neuronen und Alveolarmakrophagen produziert.^[129] CRP wird im Rahmen eines Entzündungsgeschehens (Inflammation, infektiös oder nicht-infektiös) oder eines ausgeprägten Gewebeschadens innerhalb von sechs bis zehn Stunden ausgeschüttet als Antwort auf zirkulierende Zytokine wie Il-6 und Il-1 sowie TNF- α .^[133, 134]

CRP bindet Calcium-abhängig an den Phosphorylcholin-Rest von Zellmembranen und vieler bakterieller und Pilz-Polysaccharide. Weitere Beispiele sind Endothelzellen, glatte Muskelzellen, Kernkomponenten, zerstörte Membranen und apoptotische Zellen, sogar oxidiertes LDL-Cholesterin. Auf diese Weise ligandengebunden aktiviert (und unterhält) es unspezifisch das Komplementsystem.^[129, 135, 136, 137, 138]

Da die Ausschüttung von CRP schnell und die Halbwertszeit mit circa 19 Stunden lang genug ist und es keine Tagesrhythmik des CRP- Spiegels zu geben scheint, eignet es sich gut für Messungen.^[129, 139, 140]

I.5.3 Pathophysiologische Rolle in Hinblick auf vaskuläre Erkrankungen

CRP spielt eine entscheidende Rolle in der Genese vaskulärer Erkrankungen im Sinne eines proinflammatorischen und proatherogenen Effekts. Durch Aktivierung des Komplement-

systems sorgt es für eine Verstärkung inflammatorischer, ischämischer Schäden der Zellwände und durch Reduktion der NO-Synthese für endotheliale Dysfunktion. Dies geschieht durch direkte Minderung der Expression der eNOS und deren Bioaktivität in humanen Endothelzellen der Aorta und eine Hemmung der Angiogenese.^[134, 141] Bei erhöhten CRP-Konzentrationen steigen die Konzentrationen des vaskulären Zell-Adhäsionsmoleküls 1 (VCAM-1) und des intrazellulären Adhäsionsmoleküls 1 (ICAM-1) an.^[142] CRP erleichtert die Thrombogenese durch Stimulation der Synthese von Thromboplastin durch Makrophagen.^[139, 143] Es stimuliert den Lektin-ähnlichen oxidierten LDL-Rezeptor 1 (LOX-1), infolgedessen kommt es zur Adhäsion von Monozyten an endotheliale Zellen. Die Aufnahme von oxidiertem LDL (ox-LDL) wird gesteigert.^[144] CRP induziert außerdem die Expression und Aktivität von Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1 (PAI-1), einem Marker für Atherothrombose, in humanen Endothelzellen der Aorta.^[145] Neben der Verminderung der eNOS, deren mRNA-Expression und -Stabilität, reduziert es auch die Produktion von cGMP. Vermutlich NO-abhängig kann es die Zelle schädigen und Apoptose verursachen.^[135, 141] Die Induktion eines prothrombotischen Status entsteht durch Freisetzung von Gewebefaktor (TF) aus mononuklearen Zellen, Endothelzellen und glatten Muskelzellen.^[146] In Studien kam es nach einer CRP-Infusion zu erhöhter Thrombin-Produktion und gestörter Fibrinolyse.^[147] CRP ist außerdem in der Lage die Freisetzung von Prostaglandin F-1 α (PGF-1 α), dem stabilen Metabolit von Prostacyclin, in humanen Endothelzellen der Aorta und in humanen Endothelzellen von Koronarien zu reduzieren.^[148] Demnach scheint CRP nicht nur als Biomarker für Atherosklerose zu fungieren, sondern auch als deren Mediator.^[129, 135, 140] Die Mechanismen sind vielfältig und werden hier nur beispielhaft aufgezählt.

Hohes CRP und das Ausmaß seiner Ablagerung in atherosklerotischen Plaques korrelieren mit der Plaquevulnerabilität und dem Auftreten akuter thrombotischer Ereignisse.^[149] Erhöhte CRP-Konzentrationen sind assoziiert mit atherosklerotischen Gefäßveränderungen in Koronarien, Carotiden, Arterien der unteren Extremitäten und auch mit einem Fortschreiten der Atherosklerose.^[150] CRP ist ein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse,^[130, 151] ischämische Schlaganfälle und Transitorisch Ischämische Attacken bei verschiedenen Patientenpopulationen.^[152, 153] Erhöhte CRP-Werte sind verbunden mit erhöhter Intima-Media-Dicke, Bildung, Fortschreiten und Rupturieren atherosklerotischer (insbeson-

dere echoarmer, sehr vulnerabler) Plaques in den Carotiden und mit konsekutiven cerebrovaskulären Ereignissen.^[154, 155, 156, 157, 158] Die Höhe der CRP-Konzentration zeigte sich als unabhängiger Prädiktor für das Überleben, für künftige kardiovaskuläre Ereignisse und die Schwere des Schlaganfalls nach ischämischem Insult.^[159, 160] Das Hinzufügen von CRP zu einem Lipidscreening im Rahmen einer Risikofaktoranalyse führte bei Ridker et al. zu einem additiven prädiktiven Effekt, wobei CRP der stärkere kardiovaskuläre Prädiktor zu sein schien.^[161] Außerdem verbessern eventuell longitudinale CRP-Messungen die prädiktive Stärke.^[162]

Hämodialysepatienten sind permanenten inflammatorischen Stimuli ausgesetzt und weisen erhöhte CRP-Werte und erniedrigte antiatherogene Plasmaproteine (HDL-C, dessen Strukturpartikel Apolipoprotein A1, Albumin) auf.^[163]

Besonders bei diesem Patientenkollektiv sind erhöhte CRP-Werte verbunden mit einem erhöhten Grad an Mortalität und kardiovaskulären Komplikationen^[163, 164, 165] und werden als Prädiktoren für Mortalität bei Dialysepatienten gesehen.^[166] Einige Arbeitsgruppen sahen eine Assoziation von erhöhtem CRP bei Hämodialyse-Patienten und dem Auftreten stummer cerebraler Infarkte, ischämischer Schlaganfälle, lakunärer Infarkte und dem Überleben nach dem Ereignis.^[37, 45, 160, 167] Ebenso wie in der Allgemeinbevölkerung korreliert CRP hier mit der Intima-Media-Dicke der Carotiden^[43, 44, 168] - ein Zusammenhang von Inflammation und endothelialer Dysfunktion wurde postuliert.^[102, 168]

I.5.4 Normalwerte

Der Referenzbereich bei dem hier verwendeten Assay liegt bei $<5 \text{ mg L}^{-1}$.

2003 sprach die American Heart Association Richtlinien zum Gebrauch des hs-CRPs im klinischen Alltag und setzten für Erwachsene drei Risikoabstufungen, abhängig vom CRP-Wert fest: niedriges Risiko $<1 \text{ mg L}^{-1}$, mittleres $1-3 \text{ mg L}^{-1}$ und hohes $>3 \text{ mg L}^{-1}$.^[169] Empfohlen wird die zweimalige Bestimmung des hs-CRP-Spiegels (Klasse IIa, Evidenzlevel B). 2010 sprachen die ACCF/AHA Guidelines eine Empfehlung (Klasse IIb, Evidenzlevel B) für hs-CRP als zusätzlichen Marker für Patienten mit intermediärem Risiko nach dem Framingham Risk Score.^[134]

I.6 Zielsetzungen

In dieser Arbeit sollen die Biomarker ADMA, SDMA, H-Arginin und CRP insbesondere in Hinblick auf den Schlaganfall bei terminal niereninsuffizienten Hämodialysepatienten mit Diabetes mellitus Typ 2 untersucht werden. Zusätzlich wird die Assoziation mit dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, Myokardinfarkt, plötzlichem Herztod und der Gesamtmortalität erforscht. Ergänzend wird CRP als Verlaufsparemeter untersucht sowie die Kombination von CRP und LDL-Cholesterin.

Schließlich wird der Einfluss von Atorvastatin auf den Verlauf der Biomarker überprüft.

Als Patientenkollektiv dieser post-hoc Analyse dienten die Studienteilnehmer der Deutschen Diabetes Dialyse (4D) Studie.

II Material und Methoden

II.1 Die Deutsche Diabetes Dialyse Studie

II.1.1 Studiendesign und Patientenkollektiv

Studiendesign

Die Deutsche Diabetes-Dialyse Studie (4D)^[17] untersuchte zwischen März 1998 und März 2004 1255 Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, um den Einfluss des 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase (HMG-CoA-Reduktase-) Inhibitors Atorvastatin auf kardiovaskuläre und cerebrovaskuläre Krankheiten in diesem Patientenkollektiv zu erforschen.

Es wurde eine multizentrische, randomisierte, prospektive Doppel-Blind-Studie designt. Die Studienteilnehmer aus 178 Dialysezentren Deutschlands teilte man nach diesem Verfahren zu gleichem Verhältnis entweder der Gruppe, die 20 mg Atorvastatin pro Tag (n=619) oder der, die entsprechend ein Placebo (n=636) erhalten sollte, zu. Vor der Run-In Phase wurde jegliche lipidsenkende Therapie abgesetzt. Falls das LDL-Cholesterin unter 50 mg dL⁻¹ fiel, wurde die Dosis von Atorvastatin beziehungsweise Placebo auf die Hälfte reduziert. Im Falle einer notwendigen Dosisreduktion innerhalb einer Gruppe wurde bei einem zufällig ausgewählten Patienten der korrespondierenden Gruppe ebenso die Studien-

medikation reduziert. Nach Erreichen eines primären Endpunktes konnte die Studienmedikation durch ein aktives Statin ersetzt werden.

Nach einer Run-In Phase von vier Wochen, in der drei Visiten stattfanden (Woche -4, -2 und -1), erfolgte die Randomisierung. In regelmäßigen (nach vier Wochen, dann nach sechsmonatigen) Abständen fanden Studienvisiten statt. Die Begleitmedikation wurde kontrolliert, Körpergewicht, Blutdruck und Herzfrequenz wurden gemessen. Zusätzlich erfolgte eine Blutentnahme, klinische Untersuchung, ein 12-Kanal-EKG, die Dokumentation unerwünschter Nebenwirkungen und die Prüfung der Medikamentenadhärenz. Studienendpunkte und schwere unerwünschte Nebenwirkungen wurden kontinuierlich dokumentiert. (Ethikvotum der Kommission der Universität Würzburg, Studien-Nummer 104/97,10/97)

Patienten

Die Patienten waren zwischen 18 und 80 Jahren alt, litten an Diabetes mellitus Typ 2 und wurden weniger als zwei Jahre mit einer Hämodialyse-Therapie behandelt (im Durchschnitt seit 8,3 Monaten vor der ersten Studienvisite). Zum Studienausschluss führte Folgendes: LDL-Cholesterin-Spiegel <80 oder >190 mg dL⁻¹, Triglycerid-Konzentrationen >1000 mg dL⁻¹, Werte für Alanin-Aminotransferase (ALAT) und/oder Aspartat-Aminotransferase dreifach über der Norm, symptomatische hepatobiliäre Erkrankungen (mit Cholestase), Hepatitis B, C und HIV, hämatopoetische oder systemische Erkrankungen, die nicht in Zusammenhang mit terminaler Niereninsuffizienz stehen, Frauen im gebärfähigen Alter ohne wirksamen Kontrazeptionsschutz, vaskuläre Ereignisse/Interventionen (aortokoronare Bypassoperation/ACVB, perkutane transluminale Koronarangioplastie/PTCA, Carotis-Thrombendarteriektomie/-TEA), Herzinsuffizienz oder Myokardinfarkt innerhalb der letzten drei Monate vor Beginn der Rekrutierung oder sonstige geplante vaskuläre Intervention. Außerdem wurden als nicht akzeptabel für Studieneinschluss festgesetzt: nicht erfolgreiche Nierentransplantation, therapierefraktärer Hypertonus (systolischer Wert konstant >200 mmHg oder diastolischer Wert konstant >110 mmHg), Alkohol-Abusus, Überempfindlichkeit gegenüber HMG-CoA-Reduktase-Inhibitoren, relevante gastrointestinale Erkrankung oder -Operation, welche zu einer Malabsorption führen oder chronische Pankreatitis, Teilnahme an einer anderen Studie innerhalb von 30 Tagen bis zur Rekrutierung, Notwendigkeit antiepileptischer Medikation, bekannte Myopathie,

sonstige medizinische Gründe, die dem Patienten durch Studienteilnahme nicht zu einem Benefit reichen würden oder sonstige Umstände, die langfristig die Compliance beeinträchtigen könnten und fehlende Einwilligungsfähigkeit.

Eine detailliertere Beschreibung der 4D Studie ist an anderer Stelle zu finden.^[170]

II.1.2 Endpunkte

Primärer Endpunkt

Der primäre Endpunkt - im Folgenden auch kombinierter kardiovaskulärer Endpunkt genannt - setzte sich zusammen aus dem ersten Auftreten von kardiovaskulärem Tod, nicht-tödlichem Myokardinfarkt oder tödlichem/nicht-tödlichem Schlaganfall.

„Kardiovaskulärer Tod“ beinhaltete: fataler Myokardinfarkt (Tod innerhalb von 28 Tagen nach Myokardinfarkt), plötzlicher Herztod (unerwartet eingetretener Tod ohne Kaliumwerte $>7,5 \text{ mmol L}^{-1}$ vor Start der letzten drei Hämodialysesitzungen), Tod aufgrund von Herzinsuffizienz, Tod, welcher (innerhalb von 28 Tagen nach) einer diagnostischen oder therapeutischen Prozedur bezüglich koronarer Herzerkrankung zugeschrieben werden konnte und sonstiger koronar-bedingter Tod. Ebenso wurde das Auftreten „stummer“ Myokardinfarkte zum kombinierten kardiovaskulären Endpunkt gerechnet.

„Myokardinfarkt“ wurde diagnostiziert, wenn mindestens zwei der folgenden Kriterien zutraten. Typische Symptomatik, erhöhte Herzenzyme (prozentualer Kreatinkinase MB-Anteil (CK-MB) der Kreatinkinase (CK) $>5\%$, Laktatdehydrogenase (LDH) $>1,5\%$ der Norm und Troponin-T $>2 \text{ ng mL}^{-1}$) oder infarkttypische EKG-Veränderungen. Ein Ruhe-EKG wurde alle sechs Monate durchgeführt (s.o.) und von unabhängigen Kardiologen nach der Minnesota-Klassifikation ausgewertet.

„Schlaganfall“ wurde definiert als ein neurologisches Defizit, das länger als 24 Stunden andauerte. Mit Ausnahme von 16 Fällen waren für alle Schlaganfälle entsprechende craniale Computer- oder Magnetresonanz-Tomographiebilder vorhanden.

Sekundärer Endpunkt

Der sekundäre Endpunkt umfasste die Gesamtmortalität (kardiovaskular und nicht-kardiovaskular), alle kardiovaskulären Ereignisse kombiniert (kardiovaskulärer Tod, Myo-

kardinfarkt und/oder Interventionen wie ACVB oder PTCA, alle cerebrovaskulären Ereignisse kombiniert (Schlaganfall oder Transitorisch Ischämische Attacke/TIA), Schlaganfall eingeteilt nach dessen Ätiologie (ischämisch, hämorrhagisch, andere), konkurrierende tödliche Ereignisse (, die nicht im primären Endpunkt beinhaltet sind) klassifiziert nach deren Ursache (tödliche Krebserkrankung, tödlich endende Infekte, andere Tode) und Änderungen der Lipidwerte relativ zur Baseline.

Alle Endpunkte wurden vor Entblindung der Studie von einem unabhängigen „Endpunkt Komitee“ beurteilt und überprüft.

II.2 Weg der Blutproben

Die Blutentnahmen erfolgten vor Dialysebeginn und vor Gabe von Heparin. Die Patienten hatten bis dahin eine Nüchternperiode von sechs beziehungsweise 12 Stunden. Für 24 Stunden vor Blutentnahme war kein Alkoholkonsum gestattet.

Zur Bestimmung der hier untersuchten Parameter wurden die Serumproben der Teilnehmer der ersten Woche vor (Visite 3) Randomisierung und sechs Monate nach (Visite 6) Randomisierung ausgewählt. Im Idealfall existierte für jeden Studienteilnehmer ein Probenpaar aus diesen Visiten. Die Werte, welche durch Blutentnahmen der Visite 3 entstanden sind, wurden als Baseline, die der Visite 6 als Follow-up bezeichnet.

Falls nicht genügend Material vorhanden war oder die entsprechende Probe fehlte, entstanden Ausweichproben: Blutentnahmen von zwei oder vier Wochen vor Randomisierung und Blutentnahmen 12, 18 oder 24 Monate nach Randomisierung beziehungsweise vier Wochen nach Randomisierung dienten dann als Ersatz. Fehlte zum Beispiel Material von Visite 3, wurde als Ersatz als nächstes Visite 2 und bei Fehlen dieser dann Visite 1 herangezogen. Gründe für Fehlen waren nicht ausreichende Mengen der ursprünglichen - also noch nicht aliquotierten Serumproben - oder vorzeitiges Ausscheiden des Patienten aus der Studie.

2525 (Graz) bzw. 2526 (Freiburg) Proben konnten ausgewertet werden. Von den vorhandenen Proben existierte bei 1207 Patienten ein vollständiges Probenpaar, bei 46 (Graz)/43

(Freiburg) lediglich die Baseline. Bei 2 Patienten (Freiburg) konnten nur halbe Probenpaare, das heißt solche von nicht ausreichender Menge, gefunden werden.

Die Proben wurden bei -80°C gelagert, im Wasserbad aufgetaut und auf Eis in die Messröhrchen pipettiert. Im Fall von 25 Proben muss davon ausgegangen werden, dass der Inhalt von geringerer Qualität war, da diese nicht auf Eis pipettiert sondern bei Raumtemperatur pipettiert wurden.

ADMA/SDMA wurden im Zentrallabor der Universität Graz, CRP in Freiburg gemessen.

II.3 Messverfahren der Biomarker

II.3.1 Asymmetrisches Dimethylarginin, Symmetrisches Dimethylarginin, Homoarginin

Die gleichzeitige Messung von Arginin, Homoarginin, ADMA und SDMA funktioniert über High-Performance Liquid Chromatographie, HPLC. Die Besonderheiten hierbei sollen im Folgenden erläutert werden.^[122, 171]

Über Festphasen-Extraktion mit Hilfe polymerer Kationen-Austauscher-Säulen (hier: Oasis MCX SPE-Säulen) werden die Proben zunächst aufgereinigt; Monomethylarginin dient bei der ganzen Reaktion zur Eichung also als interner Standard. Im nächsten Arbeitsschritt werden die Einzelbestandteile (Arginin, Homoarginin, ADMA, SDMA) der Proben mit einem Orthophthaldialdehyd (OPA)- Reagenz derivatisiert, das zusätzlich zur Stabilisierung der Derivate 3-Mercaptopropionische Säure enthält und Kalium-Borat-Puffer, pH 9,5. In diesem alkalischen Milieu werden die Aminosäuren verestert; mittels OPA werden die zu bestimmenden Bestandteile in fluoreszierende Derivate verwandelt^[172], damit sie im Fluoreszenzdetektor gemessen werden können. Am Ende dieses Versuchsabschnitts transferiert man die Proben in einen Autosampler (hier Alliance 2690 XE Separationsmodul). Mit einem Injektionsvolumen von $20\ \mu\text{L}$ der Proben auf Symmetry C18 Säulen wird die Chromatographie durchgeführt und am Ende die Signale bei 340 und 455 nm gemessen.

Die beiden Regioisomere ADMA und SDMA können trotz ihrer sehr ähnlichen Struktur so unter monochromatischen Bedingungen zu fast 100% separiert werden.

Die Bestimmungsgrenzen (niedrigste Konzentration, die eine Antwort dreifach des Hintergrundrauschens produzierte) für Arginin, Homoarginin, ADMA und SDMA sind 0,11 μM , 0,17 μM , 0,05 μM und 0,05 μM . Die Ausbeute aller Mengen ist bei diesem Verfahren liegt bei >85% mit einem Variationskoeffizienten von 3,3-8,7%; die relativen Ausbeuten bezogen auf den internen Standard Monomethylarginin betragen annähernd 100% (mit einem Variationskoeffizienten von 0,1 bis 0,8%). Bei einer Messung von zehn Proben sind die Variationskoeffizienten für Arginin, ADMA und SDMA 0,4, 1,2 und 0,8%.

II.3.2 Sensitives C-reaktives Protein

Zur quantitativen Bestimmung des CRP-Wertes in Humanserum (und -plasma) wird hier der hoch sensitive immunologische Trübungstest Tina-quant [a] C-reaktives Protein (Latex) HS für Analyseautomaten von Roche/Hitachi verwendet. Dieser Immunoassay beruht auf dem Prinzip eines Agglutinationstests mit Reaktionsverstärkung durch Latexpartikel.

Zu der zu messenden Probe wird das als Puffer fungierende Reagenz Tris(hydroxymethyl)aminomethan (TRIS-Puffer, 16 mmol/L, pH 7,4) gegeben. Anschließend fügt man mit monoklonalen Anti-CRP-Antikörpern (von der Maus beschichtete Latexpartikel, 0,1 %, Glycinpuffer 50 mmol L⁻¹, pH 8,0). Danach startet man die Reaktion. Die an Latex-Mikropartikel gebundenen Anti-CRP-Antikörper reagieren mit dem Antigen aus der Probe unter Bildung eines Antigen/Antikörper-Komplexes. Das Ganze ist an einer Trübung (Agglutinate) der Probe erkennbar, welche turbidimetrisch als ein Absorptionsanstieg bei dem Wellenmaximum gemessen wird. Dieser ist proportional der Konzentration an CRP in der Probe. Der Analyseautomat berechnet automatisch die Konzentration der Probe. Der Messbereich für CRP reicht von 0,1-20 mg L⁻¹ bei Roche/Hitachi 902 Geräten. Es existiert ein erweiterter Bereich (mit automatischem Rerun) von 0,1-300 mg L⁻¹ bei Roche/Hitachi 904/911/912/917/MODULAR P Geräten.

Bezüglich der Präzision dieses Immunoassays werden hier weiterhin zwei verschiedene Größen angegeben, die in einem internen Protokoll mit einer Anzahl von 21 Stück folgende Werte ergeben. Als analytische Sensitivität beziehungsweise Bestimmungsgrenze (niedrigste messbare Analytkonzentration, die von Null unterschieden werden kann/Konzentration drei Standardabweichungen oberhalb des niedrigsten Standards) gibt der Hersteller 0,03 mg

L⁻¹ an. Die funktionale Sensitivität (kleinste CRP-Konzentration, die reproduzierbar mit einem Variationskoeffizienten <10% gemessen werden kann) liegt hier bei 0,11 mg L⁻¹.^[173, 174, 175]

II.4 Statistik

Die Daten der Baseline-Charakteristika sind angegeben als Mittelwerte mit Standardabweichung. P-Werte zum Vergleich der Gruppen untereinander stammen von einem allgemeinen linearen Modell für die stetigen Variablen beziehungsweise einer logistischen Regression für die kategorisierten Variablen - jeweils entsprechend adjustiert für Alter und Geschlecht.

Stetige Variablen werden dargestellt als Mittelwerte mit Standardabweichung oder Mediane mit Interquartilsabständen, kategorisierte Variablen in Prozent.

Die Assoziation der jeweiligen erklärenden Variablen mit den Endpunkten wurde mittels Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Inzidenzen) und Cox-Regressionsanalysen (relative Risiken/Hazard Rate (HR) und 95% Konfidenzintervalle (95% KI) geprüft. Adjustiert wurden Letztere für die Behandlung mit Atorvastatin, Alter, Geschlecht, systolischen und diastolischen Blutdruck [mm Hg⁻¹], stattgehabten Nikotinabusus, Body Mass Index (BMI) [kg m⁻²], Anamnese für koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie (PTCA), aortokoronare Bypassoperation (ACVB), Myokardinfarkt oder angiographisch festgestellte Koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK), stattgehabter Schlaganfall oder Transitorische Ischämische Attacke (TIA), Herzinsuffizienz (hauptsächlich NYHA II), Phosphat [mmol L⁻¹], glykogenisiertes Hämoglobin (HbA1c [%]), LDL-Cholesterin [mg dL⁻¹], Hämoglobin [g dL⁻¹], Ultrafiltrationsvolumen [kg], Dialysedauer [h w⁻¹] und Shunt gegenüber Vorhofkatheter. Ein fortlaufendes schrittweises Auswahlverfahren wurde verwendet um die Variablen festzusetzen, die am Ende schließlich im Modell integriert sein sollten. Dieses Verfahren beginnt mit der Untersuchung der Variable mit der größten adjustierten Chi-Quadrat-Kenngröße, fügt weitere Variablen zum Modell hinzu, wenn P≤0,25 und behält diese bei, wenn in den folgenden Schritten P≤0,15.

In der schlussendlichen Analyse wurde ein P-Wert kleiner 0,05 als signifikant betrachtet.

Zuerst wurde die Assoziation des Baseline-Parameters als kontinuierliche Variable mit dem Endpunkt analysiert. Im Anschluss fand diese Analyse für den Baseline-Parameter als kategorisierte Variable (Einteilung in Quartilen - die erste diente jeweils als Referenz für die übrigen) statt. Bei fehlender Normalverteilung wurde für SCRP logarithmisch transformiert.

Für CRP im Speziellen wurden die Analysen erweitert:

Analog wurde entsprechend die Assoziation des mittleren SCRPs - resultierend aus zwei aufeinanderfolgenden Messungen (Baseline und Post-Baseline als Verlaufswert) mit dem Endpunkt errechnet. Die Änderung vom Baseline-SCRP (als Rate Post-Baseline/Baseline) in Hinblick auf den Endpunkt wurde als stetige Variable (logarithmisch transformierte Rate Post-Baseline/Baseline SCRP) und als kategorisierte Variable (Quartilen in prozentualer Änderung des SCRP - die erste diente jeweils als Referenz für die übrigen). Analog wurde dies dann für Baseline-SCRP-Werte größer und kleiner des Medians (5 mg L^{-1}) berechnet. Schließlich wurde der kombinierte Parameter aus SCRP und LDL als Risikofaktor analysiert. Nach einer Einteilung in Gruppen (niedriges SCRP/niedriges LDL, niedriges SCRP/hohes LDL, hohes SCRP/niedriges LDL, hohes SCRP/hohes LDL) entsprechend der Mediane von SCRP (5 mg L^{-1}) und LDL (123 mg dL^{-1}) wurde dieser Parameter wieder als kategorisierte Variable untersucht.

Zum Vergleich der Baseline-Werte mit den Post-Baseline-Werten wurde der Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test angewandt. Mit dem Wilcoxon-Rangsummen Test wurde die Atorvastatin- mit der Placebogruppe verglichen (Baseline, Post-Baseline und Änderung von der Baseline). Der Effekt von Atorvastatin auf die Endpunkte wurde nochmals analysiert in Patientengruppen eingeteilt nach deren Baseline-CRP-Wert. Alle P-Werte wurden zweiseitig berechnet.

Für die Analysen wurde das Statistikprogramm SAS, Version 8.2 verwendet.

III Ergebnisse

III.1 Patientenkollektiv

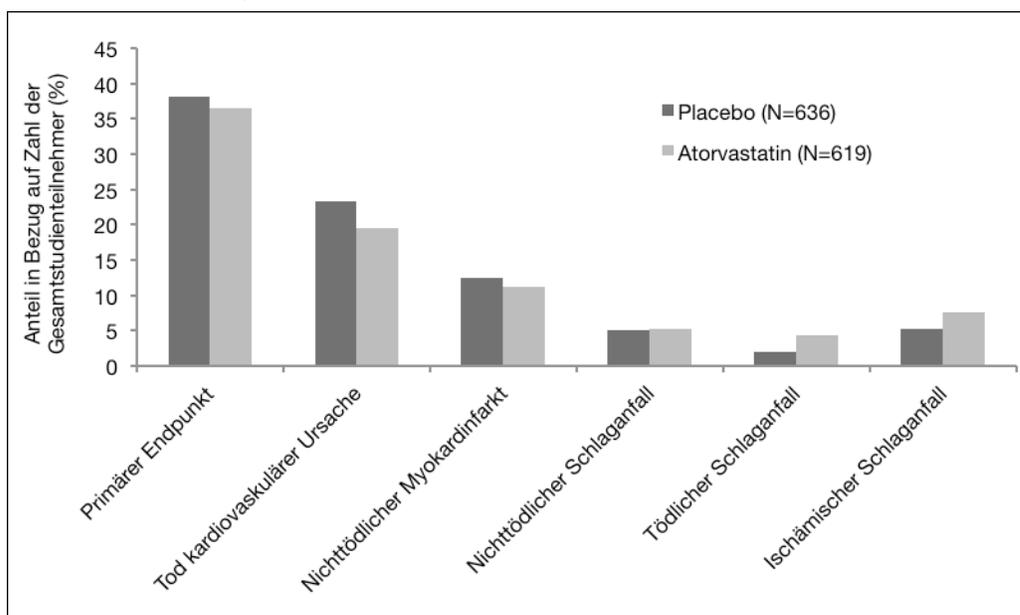
Die Randomisierung erbrachte zwei Patientengruppen - Atorvastatin (N=619) oder Placebo (N=636) - mit ähnlichen Charakteristika, welche im Einzelnen der Originalarbeit zu entnehmen sind.^[17, 170] Das mittlere Alter betrug 65,7 ($\pm 8,3$) Jahre und weniger als die Hälfte der Studienteilnehmer waren weiblichen Geschlechts (Placebo 45,9%, Atorvastatin 46,2%). Seit mehr als 17 Jahren war bereits ein Diabetes mellitus Typ 2 bekannt (Placebo 18,7 \pm 8,8, Atorvastatin 17,5 \pm 8,7 Jahre), die Dauer der Dialyse betrug gut acht Monate (Placebo 8,4 \pm 6,9, Atorvastatin 8,2 \pm 6,9 Monate). Der Durchschnitt der Patienten war übergewichtig (Body Mass Index Placebo 27,5 \pm 5,0, Atorvastatin 27,6 \pm 4,6 kg m⁻²) und hatte eine Dyslipidämie (Placebo/Atorvastatin: Gesamtcholesterin 220 \pm 42/218 \pm 43, LDL Cholesterin 127 \pm 30/125 \pm 29, HDL Cholesterin 36 \pm 14/36 \pm 13, Triglyceride 267 \pm 168/261 \pm 165 mg dL⁻¹). Praktisch jeder Studienteilnehmer der 4D Studie (98%) litt bereits unter einer cerebro- oder kardiovaskulären Erkrankung, darunter arterielle Hypertonie (89%), koronare Herzerkrankung (21%), periphere arterielle Verschlusskrankheit (45%) und Schlaganfall oder TIA (18%).

Die mittlere Beobachtungsdauer betrug 3,96 Jahre (Median 4,0 Jahre) in der Atorvastatin-Gruppe und 3,91 Jahre (Median 4,08 Jahre) in der Placebo-Gruppe.

Im Verlauf starben 617 Studienteilnehmer davon erlitten 270 Personen einen Tod kardialer Ursachen, 40 starben aufgrund eines Schlaganfalls. Insgesamt trat der Schlaganfall in 103 Fällen auf (44 in der Placebo- und 59 in der Atorvastatin-Gruppe) 80 Schlaganfälle waren ischämische (Placebo 5%, Atorvastatin 8%) und 13 hämorrhagische (Placebo, Atorvastatin jeweils 1%).

Auffällig war ein signifikant häufigeres Auftreten des tödlichen Schlaganfalls in der Atorvastatin-Gruppe (27 versus 13, HR 2.03, 95% KI 1.05-3.93, P=0.04). Die Raten an primären und sekundären Endpunkten der 4D Studienteilnehmer im Einzelnen können der Originalarbeit entnommen werden.^[17] Abbildung 3 zeigt hierzu eine Gegenüberstellung der beiden Gruppen.

Abbildung 3 Prozentualer Anteil einiger Endpunkte im Vergleich der Gruppen (Placebo, Atorvastatin) untereinander in Bezug auf das Gesamtkollektiv;



III.2 Biomarker

Von den 1255 Patienten der 4D-Studie gab es bei 1245 Patienten eine ADMA- und eine SDMA-Messung bei Baseline (also dem letzten Wert vor Studienbeginn) (davon 632 in der Placebo- und 613 in der Atorvastatin-Gruppe), bei 1196 eine Post-Baseline-Messung (davon 603 in der Placebo- und 593 in der Atorvastatin-Gruppe) und bei 1188 Patienten gab es beide Messungen (davon 601 in der Placebo- und 587 in der Atorvastatin-Gruppe).

Bei 1244 Patienten gab es eine H-Arginin-Messung bei Baseline (davon 632 in der Placebo- und 612 in der Atorvastatin-Gruppe), bei 1196 eine Post-Baseline-Messung (davon 603 in der Placebo- und 593 in der Atorvastatin-Gruppe) und bei 1187 (601 Placebo, 586 Atorvastatin) gab es beide Werte.

Von 1255 Patienten gab es bei 1249 Patienten eine Messung des sensitiven CRPs bei Baseline (633 Placebo, 616 Atorvastatin), bei 1204 eine Post-Baseline-Messung (605 Placebo, 599 Atorvastatin) und bei 1202 beide Messungen (605 Placebo, 597 Atorvastatin).

Die Post-Baseline-Werte entstammen Blutentnahmen nach sechs Monaten (Median von 182 Tagen).

III.2.1. Baseline Asymmetrisches Dimethylarginin

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

In der multivariaten Cox-Regressionsanalyse wurde kein signifikanter Einfluss des Baseline ADMA pro Einheit Anstieg ($\mu\text{mol L}^{-1}$) als stetige Variable in Hinblick auf den Schlaganfall gesehen (HR 1.58, 95% KI 0.44-5.64, $P=0.478$) (siehe Tabelle 3). Ebenso wurde kein signifikanter Einfluss des ADMA bei Baseline auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, die Gesamtmortalität, den plötzlichen Herztod oder den Myokardinfarkt gefunden.

Zur kategorisierten Betrachtung fand eine Einteilung in vier Quartilen nach steigenden ADMA-Werten ($\mu\text{mol L}^{-1}$) statt: Quartile 1: ≤ 0.77 , Quartile 2: >0.77 bis ≤ 0.86 , Quartile 3: >0.86 bis ≤ 0.954 , Quartile 4: >0.954 (siehe Abbildung 4). In keiner der Quartilen (jeweils in Referenz zur ersten Quartile) war eine signifikante Assoziation mit dem Endpunkt Schlaganfall zu verzeichnen. Das gleiche trifft auf die Gesamtmortalität und den plötzlichen Herztod zu. Allerdings sah man eine signifikante Risikoerhöhung von 36% in der zweiten Quartile in Hinblick auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt (HR 1.36, 95% KI 1.05-1.77, $P=0.020$) und eine von 66% den Myokardinfarkt betreffend (HR 1.66, 95% KI 1.12-2.46, $P=0.011$).

Kaplan-Meier Schätzer

Die Ereignisrate der Schlaganfälle stieg pro Studienjahr und war nach einem Jahr in der vierten Quartilen - also der, mit dem höchsten ADMA-Wert - am höchsten. Über die gesamte Studiendauer konnte keine klare Tendenz der erhöhten Inzidenz mit steigendem ADMA erkannt werden. Nach vierjähriger Dauer beispielsweise betrug die kumulative Rate an Schlaganfällen 0.081 in Quartile 1, 0.101 in Quartile 2, 0.095 in Quartile 3 und 0.133 in Quartile 4. Ähnlich verhielt es sich in Bezug auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, plötzlichen Herztod und Myokardinfarkt. Lediglich bei der Gesamtmortalität war die kumulative Inzidenz höher mit steigendem ADMA-Wert: Quartile 1: 0.432, Quartile 2: 0.508, Quartile 3: 0.512, Quartile 4: 0.530 jeweils in Jahr 4.

Tabelle 3 Schlaganfallrisiko in Quartilen des Baseline ADMA ($\mu\text{mol L}^{-1}$);

ADMA	Quartile 1 ≤ 0.77 (n=327)	Quartile 2 $>0.77-\leq 0.86$ (n=318)	Quartile 3 $>0.86-\leq 0.954$ (n=289)	Quartile 4 >0.954 (n=311)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	23	29	22	28
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.08 (0.05-0.12)	0.10 (0.06-0.14)	0.10 (0.05-0.14)	0.13 (0.08-0.19)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	1.17 (0.67-2.04) P=0.572	0.86 (0.48-1.56) P=0.619	1.01 (0.57-1.77) P=0.979

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für ADMA als kontinuierliche Variable 1.58 (0.44-5.64), P=0.478

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, body mass index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1 diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

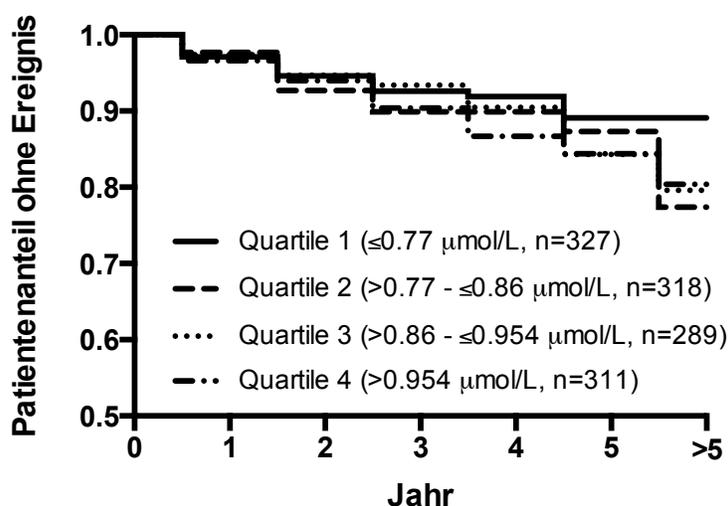


Abbildung 4 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen des ADMA bei Baseline;

III.2.2 Baseline Symmetrisches Dimethylarginin

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Es zeigte sich kein signifikanter Einfluss des SDMA bei Baseline pro Einheit Anstieg ($\mu\text{mol L}^{-1}$) als stetige Variable auf den Schlaganfall (HR 1.19, 95% KI 0.94-1.49, $P=0.149$) (siehe Tabelle 4). Ebenso scheint hier kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem Baseline SDMA und dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, der Gesamtmortalität, dem plötzlichen Herztod und Myokardinfarkt zu bestehen.

Eine multivariate Cox-Regressionsanalyse wurde auch für SDMA als kategorisierte Variable durchgeführt. Hierzu fand eine Einteilung in Quartilen nach steigendem SDMA-Wert ($[\mu\text{mol L}^{-1}]$) statt: Quartile 1: ≤ 1.97 , Quartile 2: >1.97 bis ≤ 2.45 , Quartile 3: >2.45 bis ≤ 2.96 und Quartile 4: >2.96 (vergleiche Abbildung 5). Patienten aus Quartile 3 hatten ein Risiko von 125% (HR 2.25, 95% KI 1.24-4.11, $P=0.008$), die aus Quartile 4 von 90% (HR 1.89, 95% KI 1.02-3.53, $P=0.044$) einen Schlaganfall zu erleiden (jeweils in Referenz zur ersten Quartilen). Bei dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, der Gesamtmortalität, dem plötzlichen Herztod und dem Myokardinfarkt sah man keinen signifikanten Einfluss von SDMA.

Kaplan-Meier Schätzer

Bis zum vierten Jahr stieg die kumulative Rate an Schlaganfällen mit steigendem SDMA bis zu einem Wert von $\leq 2.96 \mu\text{mol L}^{-1}$. Für höhere Werte traf dies nicht zu. Beispielhaft wird wieder die kumulative Inzidenz nach dem vierten Jahr betrachtet: 0.090 in Quartile 1, 0.100 in Quartile 2, 0.116 in Quartile 3 und 0.103 in Quartile 4. Ab dem fünften Studienjahr zeigte sich ein höheres Schlaganfallrisiko mit steigendem SDMA-Wert. Diese Aussage kann nicht für die anderen Endpunkte getroffen werden.

Tabelle 4 Schlaganfallrisiko in Quartilen des Baseline SDMA ($\mu\text{mol L}^{-1}$);

SDMA	Quartile 1 ≤ 1.97 (n=315)	Quartile 2 $>1.97-\leq 2.45$ (n=310)	Quartile 3 $>2.45-\leq 2.96$ (n=309)	Quartile 4 >2.96 (n=311)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	18	25	31	28
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.09 (0.05-0.14)	0.10 (0.06-0.14)	0.12 (0.07-0.16)	0.10 (0.06-0.15)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	1.46 (0.79-2.69) P=0.231	2.25 (1.24-4.11) P=0.008	1.893 (1.017-3.526) P=0.044

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für SDMA als kontinuierliche Variable 1.19 (0.94-1.49), P=0.149

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, body mass index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1 diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

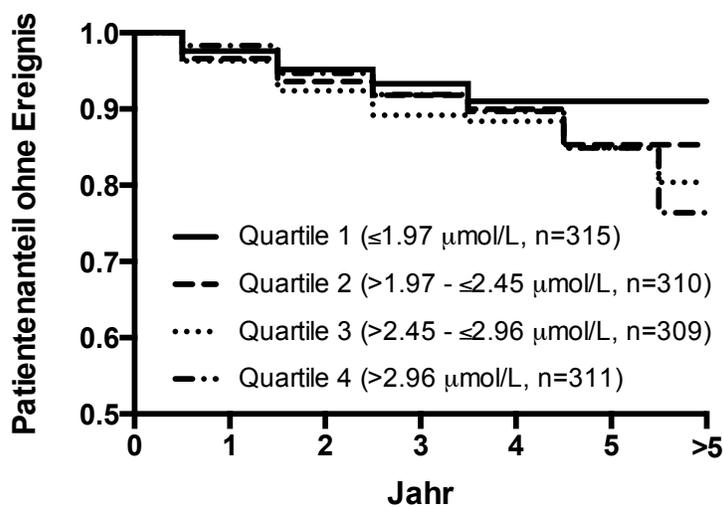


Abbildung 5 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen des SDMA bei Baseline;

III.2.3 Baseline Homoarginin

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Während in der univariaten Cox-Regressionsanalyse eine signifikante Risikoerniedrigung des Schlaganfalls für H-Arginin bei Baseline als kontinuierliche Variable pro Einheit Anstieg ($\mu\text{mol L}^{-1}$) (HR 0.54, 95% KI 0.33-0.89, $P=0.015$) zu sehen war, konnte dies in der multivariaten Analyse, also bei der Untersuchung des H-Arginins in Abhängigkeit der anderen erklärenden Variablen, nicht bestätigt werden (HR 0.84, 95% KI 0.52-1.36, $P=0.476$) (siehe Tabelle 5). Ebenso verhielt es sich bei dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt. Das Risiko der Gesamtmortalität war in Abhängigkeit des Alters, des Baseline BMI (kg m^{-2}), koronarer Herzerkrankung, pAVK, Herzinsuffizienz, Baseline Phosphats (mmol L^{-1}), HbA1c (%), Baseline Albumins (g L^{-1}), Ultrafiltrationsvolumens (kg), Dialysedauer (Wochenstunden) und der Verwendung eines Shunts (vs. Vorhofkatheter) signifikant niedriger in der multivariaten Analyse pro Einheit Anstieg des H-Arginin bei Baseline (HR 0.73, 95% KI 0.59-0.91, $P=0.005$). Auch der plötzliche Herztod war signifikant mit H-Arginin bei Baseline verbunden (HR 0.40, 95% KI 0.26-0.62, $P<0.0001$) (Störfaktoren Baseline BMI, koronare Herzerkrankung, pAVK, Baseline HbA1c und Albumin). Baseline H-Arginin und Myokardinfarkt zeigten keinen signifikanten Zusammenhang.

Für die Analysen des Baseline H-Arginins als kategorisierte Variable wurde erneut eine Einteilung in Quartilen ($\mu\text{mol L}^{-1}$) vorgenommen. Quartile 1: ≤ 0.87 , Quartile 2: >0.87 bis ≤ 1.1 , Quartile 3: >1.1 bis ≤ 1.4 und Quartile 4: >1.4 (vergleiche Abbildung 6). Keine Quartile (jeweils in Referenz zu ersten) zeigte eine signifikante Assoziation mit dem Endpunkt Schlaganfall. Ebenso verhielt es sich in Bezug auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und den Myokardinfarkt. Das Risiko zu versterben war in Quartile 3 und in Quartile 4 (HR 0.78, 0.65, 95% KI 0.62-0.99, 0.50-0.84, $P=0.042$, 0.0008) am niedrigsten. Patienten in Quartile 4 hatten ein um 51% niedrigeres Risiko an plötzlichem Herztod zu versterben als Patienten in Quartile 1 (HR 0.49, 95% KI 0.29-0.85, $P=0.011$).

Kaplan-Meier Schätzer

Die Schlaganfallrate stieg mit jedem Studienjahr und war in der Quartile mit dem höchsten H-Arginin-Wert am niedrigsten. Tendentiell sank mit steigendem H-Arginin die kumulative

Rate an Ereignissen (Jahr 2, Jahr 3, Jahr 5). In Jahr 4 war die kumulative Rate an Ereignissen in Quartile 1 0.119, in Quartile 2 0.113, in Quartile 3 0.120 und in Quartile 4 0.059. Ähnlich verhielt es sich mit dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, der Gesamtmortalität, dem plötzlichen Herztod und dem Myokardinfarkt.

Tabelle 5 Schlaganfallrisiko in Quartilen des Baseline H-Arginin ($\mu\text{mol L}^{-1}$);

H-Arginin	Quartile 1 ≤ 0.87 (n=326)	Quartile 2 $>0.87-\leq 1.1$ (n=308)	Quartile 3 $>1.1-\leq 1.4$ (n=304)	Quartile 4 >1.4 (n=306)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	34	28	23	17
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.12 (0.08-0.16)	0.11 (0.07-0.16)	0.12 (0.07-0.17)	0.06 (0.03-0.09)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	1.08 (0.65-1.80) P=0.771	0.87 (0.50-1.49) P=0.603	0.71 (0.39-1.32) P=0.282

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für H-Arginin als kontinuierliche Variable 0.84 (0.52-1.36), P=0.476

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, body mass index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1 diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

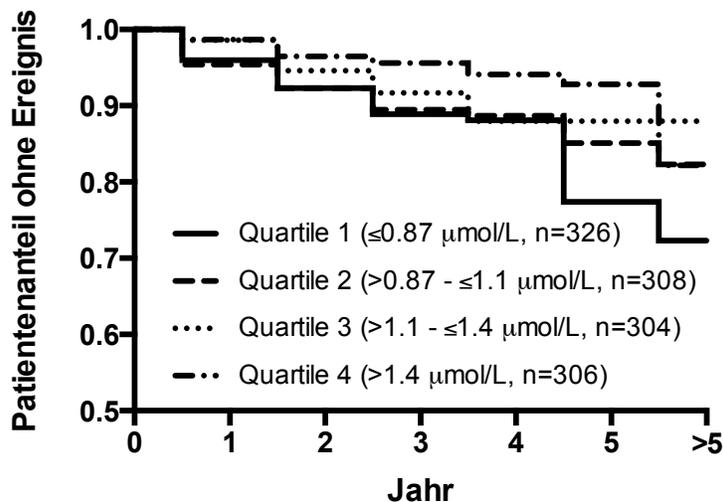


Abbildung 6 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen des H-Arginin bei Baseline;

III.2.4 Baseline Sensitives C-reaktives Protein

Cox-Regressionsanalyse

Zunächst wurde das Baseline Sensitive CRP/SCRP als kontinuierliche Variable betrachtet. Es konnte kein signifikanter Einfluss auf den Endpunkt Schlaganfall festgestellt werden (HR 1.11, 95% KI 0.94-1.32, P=0.233) (siehe Tabelle 6).

Im Gegensatz dazu sah man eine signifikante Risikoerhöhung von 10% pro Einheit Anstieg (mg L^{-1} , logarithmisch transformiert) des SCRPs für den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt (HR 1.10, 95% KI 1.01-1.18, P=0.023) (Adjustoren: Alter, Geschlecht, diastolischer Blutdruck, Body Mass Index, koronare Herzerkrankung, pAVK, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c und Shunt (vs. Vorhofkatheter). Baseline SCRPs war hochsignifikant mit der Gesamtmortalität assoziiert (HR 1.25, 95% KI 1.17-1.33, P<0.0001). Sowohl der plötzliche Herztod, als auch der Myokardinfarkt ließen in der univariaten Analyse einen signifikanten Zusammenhang mit Baseline SCRPs vermuten (HR 1.15/1.13, 95% KI 1.01-1.31/1.01-1.27, P=0.034/0.038), in der multivariaten Analyse jedoch zeigte sich hierfür keine Signifikanz (HR 1.13/1.12, 95% KI 1.00-1.29/1.00-1.26, P=0.060/0.056).

Zur Betrachtung des Baseline CRP als kategorisierte Variable fand eine Einteilung in Quartilen nach steigendem SCRPs-Wert (mg L^{-1}) statt: Quartile 1: ≤ 2.3 , Quartile 2: >2.3 bis ≤ 5 , Quartile 3: >5 bis ≤ 12.4 und Quartile 4: >12.4 (siehe Abbildung 7). Die zweite, dritte und

vierte Quartile zeigten eine nicht-signifikante Risikoerhöhung für Schlaganfall jeweils in Referenz zur ersten Quartilen (HR 1.32, 1.61, 1.41, 95% KI 0.75-2.34, 0.92-2.79, 0.78-2.56, P=0.339, 0.093, 0.256). Ebenso war Baseline SCRP als kategorisierte Variable nicht signifikant mit dem plötzlichen Herztod oder dem Myokardinfarkt verbunden. (Lediglich in Quartile 3 war in Referenz zu Quartile 1 eine signifikante Risikoerhöhung von 66% in Hinblick auf den Myokardinfarkt zu verzeichnen: HR 1.66, 95% KI 1.12-2.46, P=0.012.) Das Risiko den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt zu erleiden war in Quartile 3 und 4 signifikant erhöht (HR 1.41, 1.32, 95% KI 1.09-1.83, 1.00-1.73, P=0.009, 0.047), das Risiko zu versterben war in Quartile 2, 3 und 4 (HR 1.34, 1.55, 2.04, 95% KI 1.05-1.72, 1.21-1.97, 1.60-2.59, P=0.019, 0.0004, < 0.0001) deutlich erhöht. Als Referenz diente jeweils Quartile 1.

Kaplan-Meier Schätzer

Zunächst schien die Schlaganfallrate mit steigendem SCRP zu steigen, allerdings galt dies nicht für Quartile 4. Ebenso verhielt es sich mit den kumulativen Inzidenzen in Jahr 4: Quartile 1 mit 0.081, Quartile 2 mit 0.105, Quartile 3 mit 0.127, Quartile 4 mit 0.085. Erst nach dem fünften Studienjahr stieg die Rate kontinuierlich mit steigendem SCRP (Quartile 1: 0.121, Quartile 2: 0.134, Quartile 3: 0.201, Quartile 4: 0.306). Siehe hierzu Tabelle 6 und Abbildung 7. Im Falle des kombinierten kardiovaskulären Endpunktes und des Myokardinfarktes sah man eine ähnliche Verteilung, für den plötzlichen Herztod fand sich kein derartiger Zusammenhang. Lediglich bei der Gesamtmortalität konnte ein Anstieg der Inzidenzen mit steigendem SCRP beobachtet werden.

Tabelle 6 Schlaganfallrisiko in Quartilen des Baseline SCRP (mg L⁻¹) (log-trans.);

	Quartile 1	Quartile 2	Quartile 3	Quartile 4
SCRP	≤2,3 (n=316)	>2,3-≤5 (n=310)	>5-≤12.4 (n=312)	>12.4 (n=311)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	23	25	29	22
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.08 (0.05-0.12)	0.11 (0.06-0.15)	0.13 (0.08-0.18)	0.09 (0.05-0.12)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	1.32 (0.75-2.34) P=0.339	1.61 (0.92 -2.79) P=0.093	1.41 (0.78-2.56) P=0.256

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für SCRP als kontinuierliche Variable (log-trans.) 1.11 (0.94-1.32), P=0.233;

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, body mass index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1 diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen

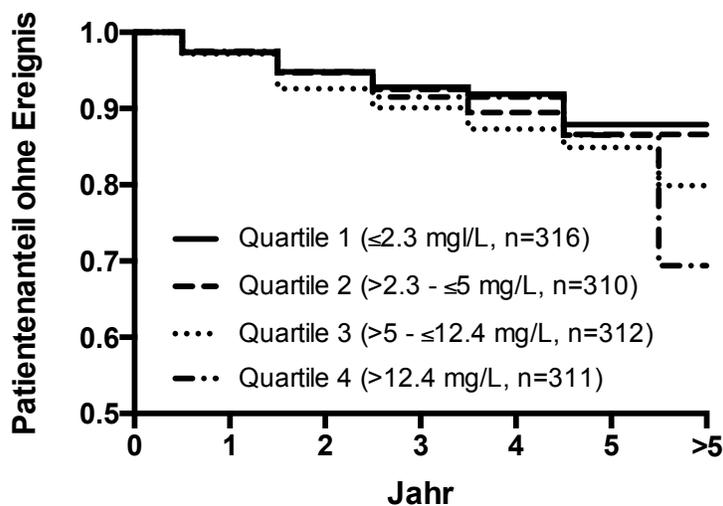


Abbildung 7 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen des SCRP bei Baseline;

III.2.5 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - mittleres Sensitives C-reaktives Protein

Cox-Regressionsanalyse

In den folgenden Analysen wurde nun das Mittel zweier Messungen untersucht, zunächst erneut für SCRP als kontinuierliche, dann als kategorisierte Variable.

Das Risiko für Schlaganfall erhöhte sich pro Einheit Anstieg des SCRP (logarithmisch-transformiert) signifikant um 20% (HR 1.20, 95% KI 1.01-1.42, P=0.042) (Störfaktoren Alter, Geschlecht, stattgehabter Schlaganfall/TIA und Shunt (vs. Vorhofkatheter)) (vergleiche Tabelle 7). In Hinblick auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, die Gesamtmortalität und den plötzlichen Herztod sah man jeweils eine hochsignifikante Risikoerhöhung (HR 1.10, 95 % KI 1.02-1.20, P=0.018; HR 1.30, 95% KI 1.21-1.39, P<0.0001; HR 1.20, 95% KI 1.05-1.37, P=0.007). Das mittlere SCRP zeigte keinen signifikanten Zusammenhang mit Myokardinfarkt.

Für die Betrachtung des SCRP als kategorisierte Variable fand eine Einteilung in Quartilen nach steigendem SCRP-Wert statt (mg L^{-1}): Quartile 1: $\leq 2,8$, Quartile 2: $>2,8$ bis $\leq 5,95$, Quartile 3: $>5,95$ bis $\leq 14,05$ und Quartile 4: $>14,05$ (siehe Abbildung 8).

Quartile 2, 3 und 4 des mittleren SCRP erbrachten keinen signifikanten Zusammenhang mit dem Schlaganfall jeweils in Referenz zu Quartile 1. Für den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt hatten Patienten der vierten Quartile ein Risiko um 41% höheres Risiko (pro Einheit Anstieg des mittleren SCRP (log-trans.)) (HR 1.41, 95% KI 1.07-1.85, P=0.015). Ebenso hatten Patienten dieser Quartilen ein um mehr als 100% höheres Risiko am plötzlichen Herztod zu versterben (HR 2.06, 95% KI 1.31-3.24, P=0.002). In Hinblick auf den Myokardinfarkt konnte in der zweiten Quartile des mittleren SCRP ein signifikanter Zusammenhang gefunden werden (HR 1.51, 95% KI 1.01-2.24, P=0.043). Im Gegensatz dazu war bei der Gesamtmortalität in jeder Quartilen eine hochsignifikante Risikoerhöhung pro Einheit Anstieg zu sehen (Q2: HR 1.58, 95% KI 1.23-2.04, P=0.0003, Q3: HR 1.69, 95% KI 1.31-2.16, P<0.0001, Q4: HR 2.32, 95% KI 1.81-2.97, P<0.0001). Auffällig war hier, dass die Risikoerhöhung kontinuierlich mit höherer Quartile stieg. In jedem Fall diente die erste Quartile als Referenz.

Kaplan-Meier Schätzer

Auch hier schien sich die Inzidenz des Schlaganfalls mit steigendem mittleren SCRP zu erhöhen. Allerdings fiel die vierte Quartile, also die mit dem höchsten Wert aus dieser Abfolge heraus. Die kumulativen Raten im vierten Studienjahr waren in Quartile 1 0.081, Quartile 2 0.077, Quartile 3 0.152 und Quartile 4 0.091. Abbildung 8 stellt die entsprechende Kaplan-Meier Kurve dar.

Ebenso verhielt es sich beim Myokardinfarkt. Die Gesamtzahlen an Ereignissen waren bei den übrigen Endpunkten steigend mit jedem Studienjahr, die kumulativen Raten im vierten Jahr waren in Bezug auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und die Gesamtmortalität mit jedem Jahr steigend.

Tabelle 7 Schlaganfallrisiko in Quartilen des mittleren SCRP (mg L^{-1}) (log-trans.); das Mittel zweier Messungen wurde verwendet, falls diese vor dem Ereignis abgenommen wurden, ansonsten wurde nur die Baseline-Messung herangezogen;

	Quartile 1	Quartile 2	Quartile 3	Quartile 4
SCRP	≤ 2.8	$>2.8-\leq 5.95$	$>5.95-\leq 14.05$	>14.05
	(n=315)	(n=311)	(n=313)	(n=312)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	23	22	36	19
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.08 (0.05-0.12)	0.08 (0.04-0.12)	0.15 (0.10-0.20)	0.09 (0.05-0.14)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	1.03 (0.58-1.83) P=0.929	1.50 (0.90 -2.51) P=0.125	0.96 (0.52-1.78) P=0.908

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für das mittlere SCRP als kontinuierliche Variable (log-trans.) 1.20 (1.01-1.42), P=0.042;

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, body mass index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* der Patientenanteil mit mittleren Werten in der ersten Quartilen diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

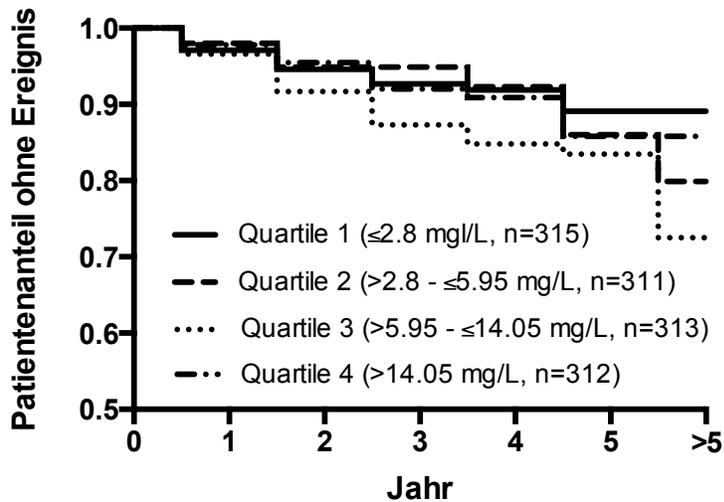


Abbildung 8 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen des gemittelten SCRP;

III.2.6 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - Post-Baseline/Baseline Rate des Sensitiven C-reaktiven Proteins

Nun wurde der Unterschied zweier Messungen untersucht. Zuerst erneut als kontinuierliche Variable, dann als kategorisierte.

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Die multivariate Analyse zeigte eine gerade nicht mehr signifikante Risikoerhöhung für die Rate des Postbaseline/Baseline SCRP von 17% (HR 1.17, 95% KI 0.99-1.37, P=0.059) pro Einheit Anstieg (logarithmisch-transformiert) (vergleiche Tabelle 8). Bei den anderen Endpunkten zeigte sich kein signifikanter Einfluss.

Zur Untersuchung als kategorisierte Variable fand eine Einteilung in Quartilen statt; hierzu wurde die Änderung von der Baseline in Prozent angegeben: Quartile 1: $\leq 47,3\%$, Quartile 2: $>47,3\%$ bis $\leq 3,6\%$, Quartile 3: $>3,6\%$ bis $\leq 100\%$ und Quartile 4: $>100\%$ (vergleiche Abbildung 9). Die zweite, dritte und vierte Quartile wurden nun wieder in Referenz zur ersten untersucht. Pro Einheit Anstieg (% Änderung von der Baseline) schienen nun Patienten der Quartile 2 ein geringeres Schlaganfallrisiko zu haben (HR 0.83, 95% KI 0.43-1.60, P=0.574), Patienten der Quartile 3 und 4 jeweils ein höheres (HR 1.65, 1.44, 95% KI 0.92-2.96, 0.80-2.61, P=0.093, 0.227). Hierfür ließ sich jedoch keine Signifikanz nachweisen.

Ebenso konnten in Hinblick auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, die Gesamtmortalität und den Myokardinfarkt keine signifikanten Zusammenhänge gefunden werden. Beim plötzlichen Herztod hingegen sah man das geringste Risiko in der Patientengruppe mit einem Abfall von mehr als 47,3%, das Risiko stieg in jeder Quartile verglichen mit der ersten - allerdings nicht linear (Quartile 2, 3 und 4 zu Quartile 1: HR 1.80, 1.86, 1.67, 95% KI 1.1-2.97, 1.14-3.04, 1.02-2.75, P=0.021, 0.013, 0.042).

Kaplan-Meier Schätzer

Die Inzidenz des Schlaganfalls stieg mit jeder Quartile. Ergänzend sei nochmals erwähnt: in der ersten Quartilen waren die Patienten mit einem Abfall des SCRP von mehr als 47,3%, in der zweiten die mit einem Abfall von weniger als 47,3% bis zu einem Anstieg bis 3,6%, in der dritten die mit einem Anstieg von mehr als 3,6% bis zu 100% und in der vierten die mit einem Anstieg von mehr als 100%. Der Anstieg der Inzidenz des Schlaganfalls im vierten Jahr war nicht ganz linear: Quartile 1 0.058, Quartile 2 0.069, Quartile 3 0.130, Quartile 4 0.127. Ein linearer Anstieg der kumulativen Anzahl der Patienten mit Ereignis war über den Studienverlauf nicht gegeben. Abbildung 9 stellt die entsprechende Kaplan-Meier Kurve dar. Ein Anstieg der Inzidenzen mit steigender Quartilen war gegeben in Bezug auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und die Gesamtmortalität, angedeutet auch beim plötzlichen Herztod, nicht jedoch beim Myokardinfarkt.

Tabelle 8 Schlaganfallrisiko in Prozent Änderung von der Baseline des SCRP;

SCRP	Quartile 1 ≤-47,3% (n=301)	Quartile 2 >-47,3-≤3,6% (n=300)	Quartile 3 >3,6-≤100% (n=303)	Quartile 4 >100% (n=298)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	20	16	27	25
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.06 (0.03-0.09)	0.07 (0.03-0.10)	0.13 (0.08-0.18)	0.13 (0.07-0.18)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	0.83 (0.43-1.60) P=0.574	1.65 (0.92-2.96) P=0.093	1.44 (0.80-2.61) P=0.227

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für Rate des Postbaseline/Baseline SCRP (jeweils logarithmisch transformiert) 1.17 (0.99-1.37), P=0.059

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, Body Mass Index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1, also der Patientenanteil mit einem Abfall des SCRP ≥ 47,3%, diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

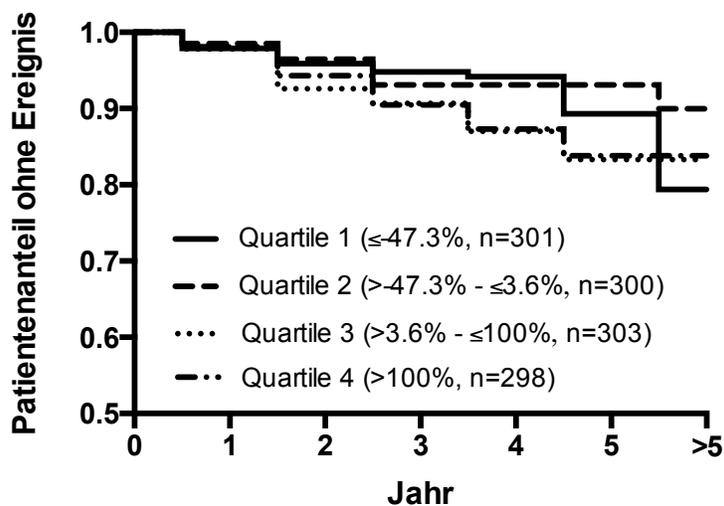


Abbildung 9 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen in Prozent Änderung von der Baseline des SCRP;

Der gerade nicht mehr signifikante Einfluss des Unterschiedes zweier SCRP-Messungen als kontinuierliche Variable auf den Endpunkt Schlaganfall gab Anlass zu differenzierteren Untersuchungen. Die Rate des Post-Baseline/Baseline SCRP wurde nun unterteilt in zwei Gruppen: Patientenanteil mit SCRP kleiner des Medians des Baseline-Wertes ($\leq 5 \text{ mg L}^{-1}$) und größer des Medians ($> 5 \text{ mg L}^{-1}$).

III.2.7 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - Post-Baseline/Baseline Rate des Sensitiven C-reaktiven Proteins, Baseline \leq Median

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Sowohl in der univariaten als auch in der multivariaten Analyse zeigte die Rate des Post-Baseline/Baseline SCRP (Baseline $\leq 5 \text{ mg L}^{-1}$) als kontinuierlicher Parameter eine hochsignifikante Risikoerhöhung von fast 40% pro Einheit Anstieg (logarithmisch transformiert) in Hinblick auf den Schlaganfall (HR 1.39, 95% KI 1.12-1.74, $P=0.004$) (vergleiche Tabelle 9). Parameter, die einen Einfluss auf diesen Biomarker und den Endpunkt hatten, waren Alter, Geschlecht und diastolischer Blutdruck. Ebenso war dieser Parameter signifikant mit einer Risikoerhöhung des kombinierten kardiovaskulären Endpunktes (HR 1.13, 95% KI 1.01-1.26, $P=0.038$), der Gesamtmortalität (HR 1.15, 95% KI 1.04-1.27, $P=0.007$) und des plötzlichen Herztodes (HR 1.22, 95% KI 1.01-1.46, $P=0.039$) verbunden. Der Myokardinfarkt wurde nicht signifikant beeinflusst.

Zur Betrachtung als kategorisierte Variable wurde wieder in Quartilen, in Änderung von der Baseline in Prozent, eingeteilt (siehe Abbildung 10). Patienten der Quartile 2 und 3 zeigten eine nicht signifikante (HR 1.81, 2.41, 95% KI 0.48-6.92, 0.67-8.69, $P=0.383$, 0.180), die der Quartile 4 eine signifikante Risikoerhöhung (HR 4.07, 95% KI 1.20-13.78, $P=0.024$) für Schlaganfall jeweils in Referenz zu Patienten der ersten Quartilen. Dies bedeutet, dass in der Gruppe, in der der Post-Baseline-Wert im Vergleich zum Baseline-Wert am meisten stieg, das höchste Risiko bestand. Gleiches traf zu für den Endpunkt Gesamtmortalität (Q4 zu Q1, HR 1.63, 95% KI 1.08-2.45, $P=0.019$).

Kaplan-Meier Schätzer

Mit jeder Quartilen stieg die kumulative Rate an Schlaganfällen; beispielhaft wird hier erneut das vierte Jahr angegeben: Quartile 1 0.029, Quartile 2 0.068, Quartile 3 0.085, Quartile 4 0.129. Ebenso stieg die Anzahl mit jedem Studienjahr.

Analog verhielt es sich beim kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, der Gesamtmortalität und dem plötzlichen Herztod, nicht jedoch beim Myokardinfarkt.

Tabelle 9 Schlaganfallrisiko in Prozent Änderung von der Baseline des SCRP für Baseline SCRP \leq Median;

SCRP	Quartile 1 $\leq -47,3\%$ (n=84)	Quartile 2 $> -47,3\%$ - $\leq 3,6\%$ (n=156)	Quartile 3 $> 3,6\%$ - $\leq 100\%$ (n=170)	Quartile 4 $> 100\%$ (n=199)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	3	8	11	20
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.03 (0.00-0.07)	0.07 (0.02-0.11)	0.09 (0.03-0.14)	0.13 (0.07-0.19)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	1.81 (0.48-6.92) P=0.383	2.41 (0.67-8.69) P=0.180	4.07 (1.20-13.78) P=0.024

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für Rate des Postbaseline/Baseline SCRP (jeweils logarithmisch transformiert) für Baseline SCRP \leq Median 1.39 (1.12-1.74), P=0.004;

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, Body Mass Index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1, also der Patientenanteil mit einem Abfall des SCRP $\geq 47,3\%$ diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

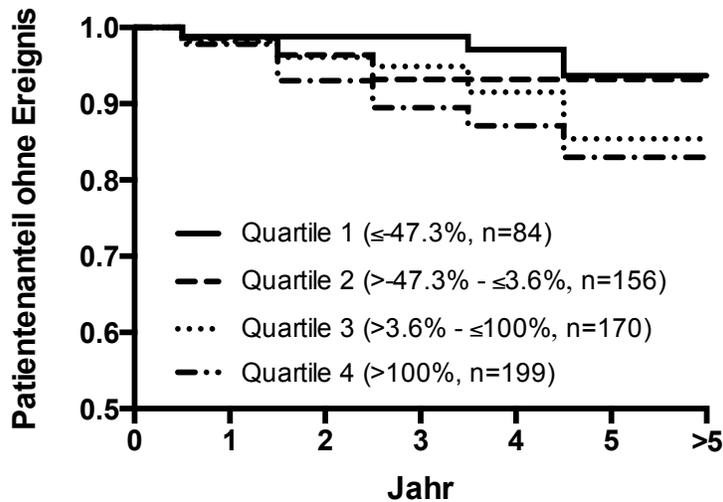


Abbildung 10 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen in Prozent Änderung von der Baseline des SCRP für Baseline-Werte \leq des Medians;

III.2.8 Sensitives C-reaktives Protein im Verlauf - Post-Baseline/Baseline Rate des Sensitiven C-reaktiven Proteins, Baseline > Median

Die zweite Gruppe, also der Patientenanteil mit einem SCRP größer des Medians des Baseline-Wertes ($>5 \text{ mg L}^{-1}$) wurde im nächsten Schritt untersucht.

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Die Cox-Regressionsanalyse für die Post-Baseline/Baseline Rate des SCRP als kontinuierliche Variable erbrachte eine nicht-signifikante Assoziation mit dem Risiko des Auftretens eines Schlaganfalls (HR 1.11, 95% KI 0.86-1.43, $P=0.429$) (siehe Tabelle 10). Ähnliches ergab sich in Bezug auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt (HR 1.08, 95% KI 0.97-1.20, $P=0.186$). Das Risiko zu versterben erhöhte sich signifikant um 11% (HR 1.11, 95% KI 1.01-1.21, $P=0.040$), das des plötzlichen Herztods um 20% (HR 1.20, 95% KI 1.00-1.43, $P=0.047$) pro Einheit Anstieg (logarithmisch transformiert). Biomarker und Myokardinfarkt waren nicht miteinander verbunden.

Für die Untersuchung als kategorisierte Variable fand die bereits beschriebene Einteilung in Quartilen in analoger Weise statt (siehe Abbildung 11). Ein signifikanter Risikoanstieg für den Endpunkt Schlaganfall um mehr als das Doppelte war in Quartile 3 (HR 2.12, 95% KI 1.03-4.33, $P=0.040$) zu sehen. Quartile 2 und 4 waren nicht mit einer Risikoerhöhung ver-

bunden (Q2 zu Q1: HR 0.77, 95% KI 0.33-1.81, P=0.553, Q4 zu Q1: HR 0.98, 95% KI 0.35-2.74, P=0.969). Der kombinierte kardiovaskuläre Endpunkt und der Myokardinfarkt waren nicht-signifikant mit dem Biomarker assoziiert. Um 40% erhöhte sich das Risiko der Gesamtmortalität pro Einheit Anstieg bei Quartile 4 (HR 1.41, 95% KI 1.02-1.94, P=0.037), das des plötzlichen Herztodes in Quartile 2 und 3 jeweils um mehr als das Doppelte (Q2 zu Q1: HR 2.62, 95% KI 1.47-4.65, P=0.001, Q3 zu Q1: HR 2.11, 95% KI 1.15-3.86, P=0.016). Als Referenz diente in jedem Fall die erste Quartile.

Kaplan-Meier Schätzer

Weder die kumulative Rate an Schlaganfällen über die Gesamtstudiendauer, noch die Inzidenzen im vierten Jahr zeigten einen Zusammenhang (Anstieg oder Abfall) mit steigenden Quartilen (vergleiche Abbildung 11).

Bezüglich der anderen Endpunkte stellte sich dies in analoger Weise dar.

Tabelle 10 Schlaganfallrisiko in Prozent Änderung von der Baseline des SCRP für Baseline SCRP > Median;

SCRP	Quartile 1 ≤-47,3% (n=217)	Quartile 2 >-47,3-≤3,6% (n=144)	Quartile 3 >3,6-≤100% (n=133)	Quartile 4 >100% (n=99)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	17	8	16	5
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.07 (0.03-0.11)	0.07 (0.02-0.12)	0.20 (0.11-0.30)	0.14 (0.00-0.29)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	0.77 (0.33-1.81) P=0.553	2.12 (1.03 -4.33) P=0.040	0.98 (0.35-2.74) P=0.969

Adjustierte Hazard Ratio (95% Konfidenzintervall) für Rate des Postbaseline/Baseline SCRP (jeweils logarithmisch transformiert), Baseline > Median 1.11 (0.86-1.43), P=0.429;

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, Body Mass Index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Quartile 1, also der Patientenanteil mit einem Abfall des SCRP ≥ 47,3% diente jeweils als Referenz für die anderen Quartilen;

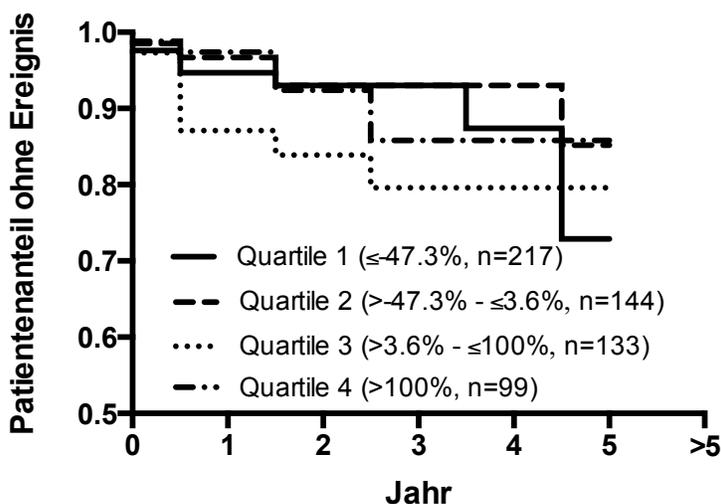


Abbildung 11 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen in Prozent Änderung von der Baseline des SCRP für Baseline-Werte > des Medians;

III.2.9 Sensitives C-reaktives Protein und LDL-Cholesterin bei Baseline

Multivariate Cox-Regressionsanalyse

Nun wurde ein zweiter Baseline Parameter hinzugezogen. Es fand eine Einteilung in Gruppen statt, die sich an den Medianen der SCRP- und LDL-Cholesterin-Werte orientierte: niedriges SCRP $\leq 5 \text{ mg L}^{-1}$, hohes SCRP $> 5 \text{ mg L}^{-1}$, niedriges LDL $\leq 123 \text{ mg dL}^{-1}$, hohes LDL $> 123 \text{ mg dL}^{-1}$ (siehe Tabelle 11). Die erste Gruppe an Patienten hatte sowohl ein niedriges SCRP als auch ein niedriges LDL, die zweite Gruppe ein niedriges SCRP und ein hohes LDL, die dritte Gruppe ein hohes SCRP und ein niedriges LDL, in der vierten Gruppe war der Patientenanteil mit jeweils hohem SCRP und LDL. Die zweite, dritte und vierte Gruppe wurden nun wieder in Referenz zur ersten Gruppe in Hinblick auf den Endpunkt untersucht. Weder unabhängig voneinander noch in Kombination war ein hoher Parameter prädiktiv für Schlaganfall. Ebenso wenig konnte ein Trend beim kombinierten kardiovaskulären Endpunkt gesehen werden. Im Gegensatz dazu stieg das Risiko der Gesamtmortalität und des plötzlichen Herztods signifikant mit hohem SCRP unabhängig vom LDL. Das Risiko für Myokardinfarkt stieg zwar signifikant mit hohem SCRP, waren allerdings beide

Parameter größer des Medians, konnte für die Risikoerhöhung keine Signifikanz verzeichnet werden.

Kaplan-Meier Schätzer

Die kumulative Rate an Ereignissen war in der Gruppe, in der beide Parameter größer des Medians waren, höher als in der Referenzgruppe (beide Parameter kleiner des Medians) (vergleiche Abbildung 12). Die Gruppen, in denen nur einer der Parameter hoch war, zeigten im vierten Jahr sogar eine niedrigere Inzidenz als die Referenzgruppe: niedriges SCRP/niedriges LDL 0.097, niedriges SCRP/hohes LDL 0.087, hohes SCRP/niedriges LDL 0.078, hohes SCRP/hohes LDL 0.142. Die Gesamtzahl an Schlaganfällen stieg über die Studiendauer innerhalb der einzelnen Gruppen.

Beim kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, der Gesamtmortalität und dem Myokardinfarkt stieg die Inzidenz, sobald ein Parameter hoch war, wobei ein hohes SCRP sich stärker auszuwirken schien. Dies traf nicht für den plötzlichen Herztod zu.

Tabelle 11 Schlaganfallrisiko in Gruppen niedriges/hohes SCRP, niedriges/hohes LDL;

	Low SCRP/low LDL (n=298)	Low SCRP/high LDL (n=328)	High SCRP/low LDL (n=339)	High SCRP/high LDL (n=284)
Anzahl an Ereignissen während der Studie (n)	23	25	20	31
Kaplan-Meier Schätzer ¹ (95% Konfidenzintervall)	0.10 (0.06-0.14)	0.09 (0.05-0.13)	0.08 (0.04-0.12)	0.14 (0.09-0.20)
Adjustierte Hazard Ratio ² (95% Konfidenzintervall)	*	0.65 (0.37-1.13) P=0.127	0.68 (0.38 -1.23) P=0.201	1.13 (0.66-1.93) P=0.657

* Die Gruppe mit low SCRP/low LDL diente als Referenz für die anderen Gruppen;

¹ nicht-adjustierter Kaplan-Meier Schätzer (kumulative Rate) am Ende des Jahres 4;

² erklärende Variablen wurden in einem schrittweisen Verfahren ausgewählt, adjustiert wurde für Atorvastatin-Behandlung, Alter, Geschlecht, systolischer/diastolischer Blutdruck, Body Mass Index, koronare Herzerkrankung (perkutane transluminale Koronarangioplastie, koronararterielle Bypassoperation, Myokardinfarkt und angiographisch dokumentierte koronare Herzerkrankung), periphere arterielle Verschlusskrankheit, stattgehabter Schlaganfall oder transitorisch ischämische Attacke, Herzinsuffizienz, Phosphat, HbA1c, Albumin, LDL, Hämoglobin, Ultrafiltrationsvolumen, Dialysedauer, Shunt (vs. Vorhofkatheter);

* Gruppe 1, also der Patientenanteil mit sowohl niedrigem SCRP als auch niedrigem LDL diente jeweils als Referenz für die anderen Gruppen;

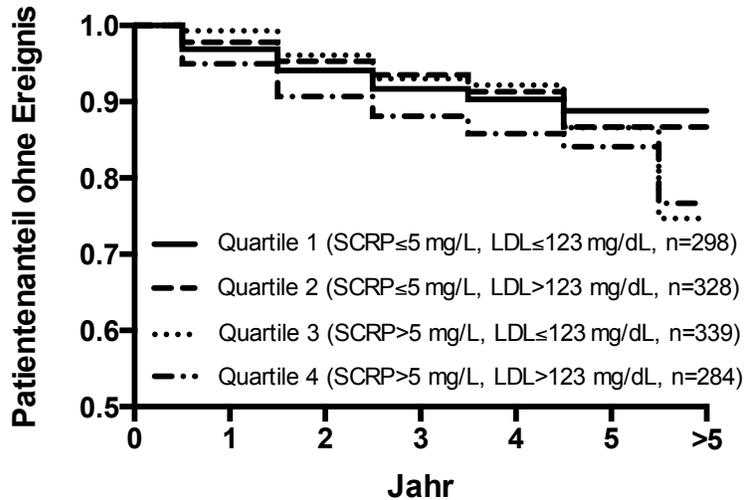


Abbildung 12 Kaplan-Meier Kurve für Schlaganfall anhand entsprechender Quartilen niedriges/hohes SCRP, niedriges/hohes LDL;

III.2.10 Atorvastatin-Einfluss

Allgemeines

Die 4D-Studie ergab, dass 20 mg Atorvastatin täglich den LDL-Spiegel um 42% reduzierte (auf 72 mg dL⁻¹).

Dennoch war die relative Risikoreduktion den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt betreffend, die durch Atorvastatin-Gabe erreicht werden konnte, lediglich acht Prozent (HR 0.92, 95% KI 0.77-1.10; P=0.37). Die einzelnen Komponenten des kombinierten kardiovaskulären Endpunktes waren in etwa gleichmäßig auf beide Gruppen verteilt.^[17] Das Risiko für alle kardialen Ereignisse kombiniert war bei den Atorvastatin-Patienten signifikant um 18% reduziert (HR 0,82; 95% Konfidenzintervall von 0,68 bis 0,99; P=0,03), sonst zeigte sich auch hier kein signifikanter Unterschied in den beiden Gruppen.

Parameter (Asymmetrisches und Symmetrisches Dimethylarginin, Homoarginin, Sensitives C-reaktives Protein)

Der Median des ADMA bei Baseline war in beiden Gruppen mit 0.86 µmol L⁻¹ gleich hoch (IQR Placebo 0.77-0.95 µmol L⁻¹, IQR Atorvastatin 0.76-0.96 µmol L⁻¹). Im Verlauf kam es jeweils zu keiner signifikanten (P=0.843 bzw. P=0.834) Änderung: Post-Baseline-

Median Placebo 0.86 (IQR 0.76-0.96) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Post-Baseline-Median Atorvastatin 0.85 (IQR 0.77-0.96) $\mu\text{mol L}^{-1}$ (nicht-signifikanter Unterschied zueinander $P=0.924$), Median Änderung von der Baseline Placebo 0.00 (IQR -0.07-0.08) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Median Änderung von der Baseline Atorvastatin 0.00 (IQR -0.09-0.08) $\mu\text{mol L}^{-1}$ (nicht-signifikanter Unterschied zueinander $P=0.988$) (siehe Tabelle 12). Abbildung 13 stellt dies graphisch dar: mittels Balken sind jeweils die Interquartilsabstände (Q25 bis Q75) abgebildet, darin enthalten sind die Mediane. Nach oben und unten wurden der niedrigste und höchste Wert geplottet. Die Mittelwerte werden hier nicht präsentiert.

SDMA war im Median der Baseline bei 2.40 (IQR 1.95-2.98) $\mu\text{mol L}^{-1}$ in der Placebo-Gruppe und bei 2.48 (IQR 2.02-2.96) $\mu\text{mol L}^{-1}$ in der Atorvastatin-Gruppe und damit nicht-signifikant ($P=0.411$) unterschiedlich. Während des Studienverlaufs kam es zu einer hoch-signifikanten ($P<0.001$) Erhöhung des SDMA in beiden Gruppen: Post-Baseline-Median Placebo 2.55 (IQR 2.02-3.14) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Post-Baseline-Median Atorvastatin 2.58 (IQR 2.09-3.13) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Median Änderung von der Baseline Placebo 0.06 (IQR -0.25-0.42) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Median Änderung von der Baseline Atorvastatin 0.11 (IQR -0.21-0.44) $\mu\text{mol L}^{-1}$. Einen signifikanten Unterschied im Verlauf zwischen den Gruppen konnte man nicht erkennen ($P=0.446$ bzw. $P=0.327$) (Tabelle 13). Abbildung 14 gibt einen graphischen Überblick über diese Zusammenhänge: mittels Balken sind jeweils die Interquartilsabstände (Q25 bis Q75) abgebildet, darin enthalten sind die Mediane. Nach oben und unten wurden der niedrigste und höchste Wert geplottet. Die Mittelwerte werden hier nicht präsentiert.

Der Median des H-Arginin lag bei 1.08 (IQR 0.87-1.37) $\mu\text{mol L}^{-1}$ in der Placebo- und bei 1.11 (IQR 0.87-1.43) $\mu\text{mol L}^{-1}$ in der Atorvastatin-Gruppe und unterschied sich damit nicht-signifikant ($P=0.411$). Nach sechs Monaten zeigte sich in beiden Gruppen ein signifikanter ($P<0.001$ bzw. $P=0.001$) Abfall: Post-Baseline-Median Placebo 1.03 (IQR 0.80-1.34) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Post-Baseline-Median Atorvastatin 1.08 (IQR 0.84-1.39) $\mu\text{mol L}^{-1}$ (nicht-signifikanter Unterschied zueinander $P=0.104$), Median Änderung von der Baseline Placebo -0.04 (IQR -0.26-0.13) $\mu\text{mol L}^{-1}$, Median Änderung von der Baseline Atorvastatin -0.02 (IQR -0.26-0.18) $\mu\text{mol L}^{-1}$ (nicht-signifikanter Unterschied zueinander $P=0.424$) (Tabelle 14). Hierfür liefert Abbildung 15 eine graphische Darstellung in analoger Weise zu den ADMA- und SDMA-Analysen.

Somit konnte sowohl für ADMA, SDMA als auch für H-Arginin kein signifikanter Unterschied zwischen der Atorvastatin- und Placebo-Gruppe festgestellt werden.

Der Median des SCRP war hoch mit 5.50 (IQR 2.50-12.40) mg L⁻¹ in der Placebo-Gruppe und 4.60 (IQR 2.20-12.45) mg L⁻¹ in der Atorvastatin-Gruppe. Es gab keinen signifikanten Unterschied der Werte zwischen beiden Gruppen (P=0.170). Im Verlauf kam es in der Placebo-Gruppe zu einer signifikanten (P=0.001) Erhöhung, in der Atorvastatin-Gruppe zu einem nicht-signifikanten (P=0.706) Abfall des Wertes: Post-Baseline-Median Placebo 6.00 (IQR 2.40-14.00) mg L⁻¹, Post-Baseline-Median Atorvastatin 4.40 (IQR 1.80-11.10) mg L⁻¹, Median Änderung von der Baseline Placebo 0.40 (IQR -2.70-4.90) mg L⁻¹, Median Änderung von der Baseline Atorvastatin -0.20 (IQR -3.10-2.90) mg L⁻¹. Beim Vergleich zwischen Placebo- und Atorvastatin-Gruppe waren im Verlauf die Werte des SCRP signifikant niedriger in der Atorvastatin-Gruppe (P=0.002 bzw. P=0.012) (siehe Tabelle 15 und Abbildung 16).

Bezüglich des Parameters SCRP bei Baseline als kategorisierte Variable wurden die einzelnen Quartilen nochmals untersucht in Hinblick auf einen Einfluss von Atorvastatin auf den jeweiligen Endpunkt. In Quartile 1 (N=316), also der mit dem niedrigsten Wert, sah man in der univariaten Cox-Regressionsanalyse eine signifikante Risikoerhöhung für Schlaganfall durch die Atorvastatin-Behandlung (HR 2.76, 95% KI 1.09-7.01, P=0.032), in der multivariaten Analyse fehlte hierfür jedoch die Signifikanz. In Quartile 2 (N=310) und 3 (N=312) war kein Einfluss von Atorvastatin zu verzeichnen. In der Quartile mit dem höchsten Baseline-Wert (Quartile 4 (N=311)) hatte die Atorvastatin-Behandlung eine Risikoerhöhung zur Folge (HR 3.54, 95% KI 1.28-9.77, P=0.015).

In den einzelnen Untergruppen nach niedrigem/hohem SCRP und niedrigem/hohem LDL Cholesterin (orientierend am Median der jeweiligen Werte) (siehe III.2.2.3.) hatte eine Atorvastatin-Behandlung keinen Einfluss auf den Endpunkt Schlaganfall.

Beim kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und dem plötzlichen Herztod sah man in keiner der Subgruppen einen Atorvastatin-Einfluss. Bei der Gesamtmortalität war in Quartile 2 in der univariaten Analyse eine Risikoerniedrigung von 28% zu sehen (HR 0.72, 95% KI 0.52-0.99, P=0.045), allerdings nicht in der multivariaten Untersuchung; dies traf ebenso zu in der Subgruppe niedriges SCRP/hohes LDL in der univariaten Analyse (HR 0.72, 95% KI 0.52-0.99, P=0.046). Der Endpunkt Myokardinfarkt wurde in der Subgruppe nied-

riges SCRP/hohes LDL in der multivariaten Cox-Regressionsanalyse signifikant durch eine Atorvastatin-Behandlung beeinflusst (HR 0.55, 95% KI 0.32-0.95, P=0.030).

Tabelle 12 Änderung des ADMA ($\mu\text{mol L}^{-1}$) in der Placebo- und Atorvastatin-Gruppe; Baseline = letzter Wert vor Behandlungsbeginn, (1) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test, welcher prüft, ob eine Änderung von der Baseline stattgefunden hat, (2) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Rangsummen Test, mit dem die Atorvastatin-Gruppe mit der Placebo-Gruppe verglichen wird.

Behandlungsgruppe	Zeitpunkt	N	Q25	Median	Q75	p-Wert (1)	p-Wert (2)
Placebo	Baseline	632	0.77	0.86	0.95		
	Post-Baseline	603	0.76	0.86	0.96		
	Änderung von der Baseline	601	-0.07	0.00	0.08	0.843	
Atorvastatin	Baseline	613	0.76	0.86	0.96		0.957
	Post-Baseline	593	0.77	0.85	0.96		0.924
	Änderung von der Baseline	587	-0.09	0.00	0.08	0.834	0.988

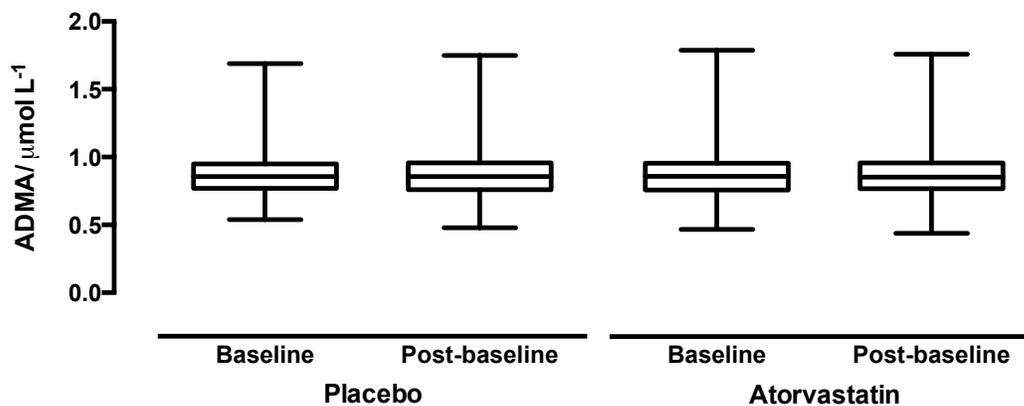


Abbildung 13 ADMA-Konzentrationen in den beiden Studiengruppen bei Baseline und nach einem mittleren Behandlungszeitraum von 167±66 Tagen mit Atorvastatin oder Placebo; Die Mediane bei Baseline (P=0.957) und bei Post-Baseline (P=0.924) unterschieden sich nicht in den Gruppen. In der Placebo-Gruppe (P=0.843) und in der Atorvastatin-Gruppe (P=0.834) blieben die Werte stabil.

Tabelle 13 Änderung des SDMA ($\mu\text{mol L}^{-1}$) in der Placebo- und Atorvastatin-Gruppe; Baseline = letzter Wert vor Behandlungsbeginn, (1) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test, welcher prüft ob eine Änderung von der Baseline stattgefunden hat, (2) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Rangsummen Test, mit dem die Atorvastatin-Gruppe mit der Placebo-Gruppe verglichen wird.

Behandlungsgruppe	Zeitpunkt	N	Q25	Median	Q75	p-Wert (1)	p-Wert (2)
Placebo	Baseline	632	1.95	2.40	2.98		
	Post-Baseline	603	2.02	2.55	3.14		
	Änderung von der Baseline	601	-0.25	0.06	0.42	<0.001	
Atorvastatin	Baseline	613	2.02	2.48	2.96		0.411
	Post-Baseline	593	2.09	2.58	3.13		0.446
	Änderung von der Baseline	587	-0.21	0.11	0.44	<0.001	0.327

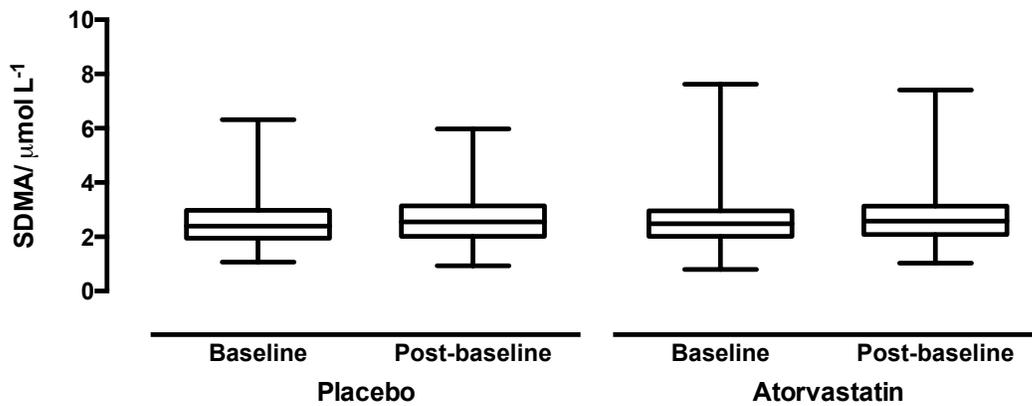


Abbildung 14 SDMA-Konzentrationen in den beiden Studiengruppen bei Baseline und nach einem mittleren Behandlungszeitraum von 167 ± 66 Tagen mit Atorvastatin oder Placebo; Die Mediane bei Baseline ($P=0.411$), Post-Baseline ($P=0.446$) und Änderung von der Baseline ($P=0.327$) unterschieden sich nicht in den Gruppen. In beiden Gruppen kam es zu einer hochsignifikanten Erhöhung der Werte ($P<0.001$).

Tabelle 14 Änderung des H-Arginin ($\mu\text{mol L}^{-1}$) in der Placebo- und Atorvastatin-Gruppe; Baseline = letzter Wert vor Behandlungsbeginn, (1) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test, welcher prüft, ob eine Änderung von der Baseline stattgefunden hat, (2) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Rangsummen Test, mit dem die Atorvastatin-Gruppe mit der Placebo-Gruppe verglichen wird.

Behandlungsgruppe	Zeitpunkt	N	Q25	Median	Q75	p-Wert (1)	p-Wert (2)
Placebo	Baseline	632	0.87	1.08	1.37		
	Post-Baseline	603	0.80	1.03	1.34		
	Änderung von der Baseline	601	-0.26	-0.04	0.13	<0.001	
Atorvastatin	Baseline	613	0.87	1.11	1.43		0.167
	Post-Baseline	593	0.84	1.08	1.39		0.104
	Änderung von der Baseline	587	-0.26	-0.02	0.18	0.011	0.424

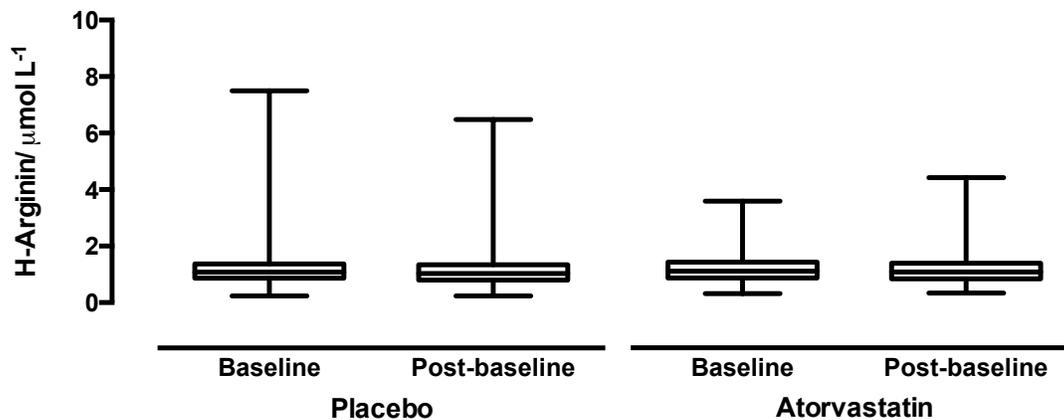


Abbildung 15 H-Arginin-Konzentrationen in den beiden Studiengruppen bei Baseline und nach einem mittleren Behandlungszeitraum von 167 ± 66 Tagen mit Atorvastatin oder Placebo; Die Mediane bei Baseline ($P=0.167$), Post-Baseline ($P=0.104$) und Änderung von der Baseline ($P=0.424$) unterschieden sich nicht in den Gruppen. In der Placebo-Gruppe kam es zu einem hochsignifikanten ($P<0.001$), in der Atorvastatin-Gruppe zu einem signifikanten Abfall ($P=0.011$) der Werte.

Tabelle 15 Änderung des SCRP (mg L^{-1}) in der Placebo- und der Atorvastatin-Gruppe; Baseline = letzter Wert vor Behandlungsbeginn; (1) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Vorzeichen-Rang Test, welcher prüft, ob eine Änderung von der Baseline stattgefunden hat, (2) dieser p-Wert leitet sich ab aus dem Wilcoxon-Rangsummen Test, mit dem die Atorvastatin-Gruppe mit der Placebo-Gruppe verglichen wird.

Behandlungsgruppe	Zeitpunkt	N	Q25	Median	Q75	p-Wert (1)	p-Wert (2)
Placebo	Baseline	633	2.50	5.50	12.40		
	Post-Baseline	605	2.40	6.00	14.00		
	Änderung von der Baseline	605	-2.70	0.40	4.90	0.001	
Atorvastatin	Baseline	616	2.20	4.60	12.45		0.170
	Post-Baseline	599	1.80	4.40	11.10		0.002
	Änderung von der Baseline	597	-3.10	-0.20	2.90	0.706	0.012

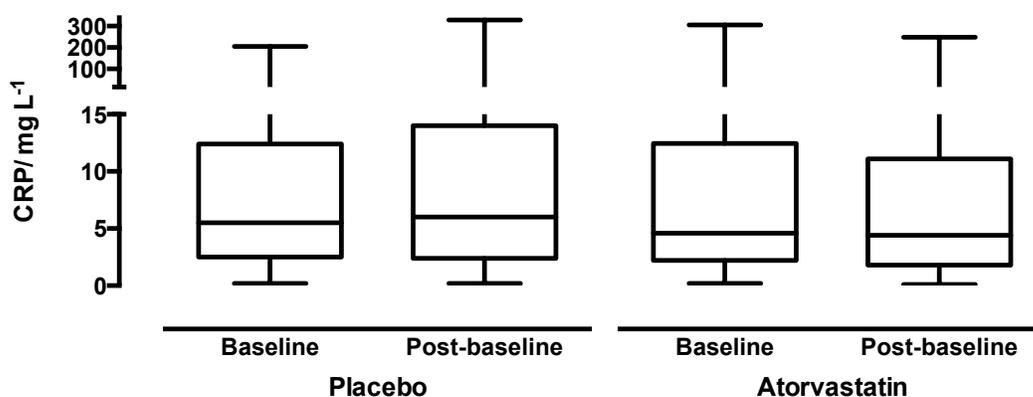


Abbildung 16 SCRP-Konzentrationen in den beiden Studiengruppen bei Baseline und nach einem mittleren Behandlungszeitraum von 167 ± 66 Tagen mit Atorvastatin oder Placebo; Die Mediane bei Baseline unterschieden sich nicht zwischen den beiden Gruppen ($P=0.170$). Im Verlauf unterschieden sich die Gruppen signifikant voneinander (Post-Baseline $P=0.002$, Änderung von der Baseline $P=0.012$). In der Placebo-Gruppe kam es zu einem signifikanten Anstieg ($P=0.001$), in der Atorvastatin-Gruppe zu einem nicht-signifikanten Abfall ($P=0.706$) der Werte.

IV Diskussion

IV.1 Allgemeines

Die Inzidenz des Schlaganfalls bei Hämodialysepatienten ist deutlich höher als in der Normalbevölkerung und bedingt teils die gesteigerte Morbidität und Mortalität. Welche Faktoren für die erhöhte Inzidenz und Prävalenz von Schlaganfällen verantwortlich sind, wird

gegenwärtig diskutiert.^[21, 27, 33, 34, 35, 36, 37] Untersucht wurden hier zum einen Marker für endotheliale Dysfunktion, die einen Schlüsselmechanismus bei der Entstehung von Atherosklerose darstellen: ADMA, SDMA und H-Arginin. Zum anderen wurde mit SCRP die Verbindung zu Inflammation und Atherosklerose hergestellt.

Der vorliegenden Arbeit lagen Daten der 4D Studie^[17] zugrunde, einer randomisierten, Placebo-kontrollierten Studie an 1255 hämodialysepflichtigen Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität des untersuchten Patientenkollektivs war hoch, die Mortalität entsprach mit über 50% den Daten der Literatur.^[7, 12, 176] Der Schlaganfall trat mit einer Häufigkeit von 8% auf. Der größere Anteil der Schlaganfälle war ischämisch (78%) - die Verteilung entspricht damit der Literaturlage.^[3]

SDMA und SCRP als Verlaufsp Parameter wurden als Prädiktoren für das Auftreten eines Schlaganfalles in diesem Kollektiv identifiziert, während ADMA überraschend nicht mit dem Schlaganfall assoziiert war. Weder ADMA, SDMA, H-Arginin noch SCRP wurden durch eine Atorvastatin-Behandlung beeinflusst. Eine Atorvastatin-Therapie konnte das Auftreten von Schlaganfällen nicht verhindern.

IV.2 Einordnung der untersuchten Parameter

IV.2.1 Asymmetrisches Dimethylarginin

Der Median des ADMA-Wertes lag bei unserem Patientenkollektiv bei $0,86 \mu\text{mol L}^{-1}$ (IQR Placebo $0,77\text{-}0,95 \mu\text{mol L}^{-1}$, IQR Atorvastatin $0,76\text{-}0,96 \mu\text{mol L}^{-1}$) und war damit vergleichsweise niedrig. Ähnlich niedrige Werte fanden auch andere Arbeitsgruppen^[177, 178] bei relativ kleinen Patientenkollektiven. Erstere stellten bei urämischen Patienten Werte von $0,9 \pm 0,08 \mu\text{mol L}^{-1}$ fest.^[178] Anderstam et al. detektierten für $0,59 \pm 0,22 \mu\text{mol L}^{-1}$ für Hämodialysepatienten und $0,7 \pm 0,27 \mu\text{mol L}^{-1}$ für Peritonealdialysepatienten.^[177] Diese niedrigen Konzentrationen stehen im Widerspruch zu bereits zuvor bestimmten Werten bei Dialysepatienten.^[46, 62, 92, 95] Die Publikation von Vallance et al., welche nachfolgend in der wissenschaftlichen Welt als Pionierarbeit bewertet wurde, präsentierte eine Gesamtkonzentration der Dimethylarginine von $8,7 \pm 0,7 \mu\text{mol L}^{-1}$ bei terminal Niereninsuffizienten.^[46] Bei Kielstein et al. wurden nicht diabetische Patienten mit unterschiedlichen Stadien von Niereninsuffizienz untersucht. Bei diesen waren im Vergleich zur Kontrollgruppe die AD-

MA-Werte wesentlich höher - in der Gruppe mit der schlechtesten Nierenfunktion waren sie am höchsten ($4,8 \pm 1,4 \mu\text{mol L}^{-1}$).^[62] Zoccali und Bode-Böger et al. fanden bei terminal niereninsuffizienten Hämodialyse-Patienten im Median eine ADMA-Konzentration von $2,52 \mu\text{mol L}^{-1}$.^[92] In einer anderen Arbeit um Zoccali wurden Zusammenhänge zwischen ADMA-Konzentrationen, linksventrikulärer Hypertrophie und systolischer Dysfunktion bei Dialysepatienten erforscht. Auch hier sah man mit einem Median von $2,61 \mu\text{mol L}^{-1}$ deutlich erhöhte ADMA-Werte.^[95] Fleck et al. untersuchten ein Patientenkollektiv unterschiedlicher Stadien an Niereninsuffizienz, wobei bei niereninsuffizienten Patienten die Werte 38% höher als beim gesunden Kontrollkollektiv waren und bei Dialysepatienten auf $1,04 \pm 0,04 \mu\text{mol L}^{-1}$ stiegen.^[49]

Die Diskrepanz der Höhe der ADMA-Werte bei terminal Niereninsuffizienten fielen auch MacAllister et al. auf, wobei in den zitierten Studien dennoch konsistent erhöhte ADMA-Werte bei Dialysepatienten im Vergleich zum gesunden Kontrollkollektiv gefunden wurden.^[178] Verschiedene Arbeitsgruppen stellten fest, dass ADMA eine recht niedrige Konzentrationsverteilung in der Normalbevölkerung einnimmt und schon geringe Steigerungen des Wertes mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert sind.^[49, 179]

IV.2.2 Symmetrisches Dimethylarginin

Der Median des SDMA-Wertes unserer terminal niereninsuffizienten Studienteilnehmer war mit 2,40 (IQR 1.95-2.98) (Placebo-Gruppe) beziehungsweise 2,48 (IQR 2.02-2.96) (Atorvastatin-Gruppe) $\mu\text{mol L}^{-1}$ hoch und ist in etwa vergleichbar mit den Literaturwerten.^[46, 49, 92, 177, 178]

Die Gesamtkonzentrationen der Dimethylarginine bei terminal niereninsuffizienten Patienten bei Vallance et al.^[46] wurden bereits zuvor erwähnt. Die Arbeitsgruppe um MacAllister postulierte bei urämischen Patienten eine SDMA-Konzentration $3,4 \pm 0,3 \mu\text{mol L}^{-1}$,^[178] die um Anderstam sah für Hämodialysepatienten Werte von $2,85 \pm 0,77 \mu\text{mol L}^{-1}$ und $2,54 \pm 0,59 \mu\text{mol L}^{-1}$ bei Peritonealdialysepatienten.^[177] Bei Kielstein et al. (s.o.) stiegen die Konzentrationen mit fallender Nierenfunktion auf schließlich $1,51 \pm 0,46 \mu\text{mol L}^{-1}$.^[62] Zoccali und Bode-Böger fanden bei terminal Niereninsuffizienten eine SDMA-Konzentration von 3,01

$\mu\text{mol L}^{-1}$ im Median.^[92] Bei Fleck et al. lag SDMA bei $2,08 \pm 0,11 \mu\text{mol L}^{-1}$ bei niereninsuffizienten Patienten und $2,69 \pm 0,12 \mu\text{mol L}^{-1}$ bei Hämodialyse-Patienten.^[49]

IV.2.3 Asymmetrisches- und Symmetrisches Dimethylarginin im Vergleich

Bei Vallance et al. war die Rate von ADMA zu SDMA bei den Hämodialysepatienten gleich verteilt, bei Anderstam et al. lag die Rate bei 0,27 bei den urämischen Patienten^[178]. Letztgenannte Arbeitsgruppe sah bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz signifikant höhere Werte für ADMA und SDMA im Vergleich zu den Gesunden ($0,9 \pm 0,08$ zu $0,36 \pm 0,09 \mu\text{mol L}^{-1}$ beziehungsweise $3,4 \pm 0,03$ zu $0,39 \pm 0,05 \mu\text{mol L}^{-1}$). Auffällig war auch ein stärkeres Kumulieren von SDMA (achtfach) als ADMA (dreifach) bei den urämischen Patienten sowie ein engeres Übereinstimmen von SDMA im Vergleich zu ADMA mit der Kreatinin-Konzentration. Grund hierfür könnte in der Bedeutung der DDAH liegen, welche ADMA nicht aber SDMA abbaut.^[178]

IV.2.4 Homoarginin

Der Median des H-Arginins war bei der vorliegenden Studienpopulation mit 1,08 (IQR 0.87-1.37) (Placebo-Gruppe) und 1,11 (IQR 0.87-1.43) (Atorvastatin-Gruppe) $\mu\text{mol L}^{-1}$ sehr niedrig. In der LURIC-Studie, einer prospektiven Studie zur Untersuchung von Umwelt- und genetischen Risikofaktoren von kardiovaskulären Erkrankungen, war der mittlere Homoarginin-Spiegel bei $2,6 \pm 1,1 \mu\text{mol L}^{-1}$.^[50] Niereninsuffiziente Patienten wurden untersucht in der Mild to Moderate Kidney Disease Studie. Hier lag der mittlere H-Arginin-Wert bei $2,57 \pm 1,09 \mu\text{mol L}^{-1}$ und fiel mit fallender GFR hochsignifikant (beispielsweise $2,05 \pm 0,78 \mu\text{mol L}^{-1}$ bei einer GFR $< 30 \text{ mL min}^{-1}$ pro $1,73 \text{ m}^2$).^[114] Atzler et al. legten unter anderem für H-Arginin Referenzintervalle in der Normalbevölkerung („Referenzgruppe“, Charakteristika siehe Originalartikel) fest: der mediane H-Arginin-Referenzwert war bei $2,63$ ($2,08$; $3,32$) $\mu\text{mol L}^{-1}$.^[123] Bei Ravani und Kollegen, die Zusammenhänge zwischen Homoarginin und klinischem Outcome bei „Prädialyse-Patienten“ (eGFR $34 \pm 18 \text{ mL min}^{-1}$ pro $1,73 \text{ m}^2$) untersuchten, imponierte ein medianer H-Arginin-Wert von $1,38 \mu\text{mol L}^{-1}$.^[180]

Tomaschitz und Kollegen publizierten an anderer Stelle mittlere Homoarginin-Spiegel von $2,41 \pm 1,05 \mu\text{mol L}^{-1}$ bei 3037 Patienten, die eine Koronarangiographie erhalten haben.^[115] H-Arginin-Werte bei terminal niereninsuffizienten Patienten sind abgesehen von den Daten der 4D Studie in der Literatur bislang nicht bekannt, daher konzentrierte sich der Vergleich der in dieser Studie gemessenen Werte auf die der bisher untersuchten Patientenkollektive. Die besonders niedrigen Konzentrationen an H-Arginin bei terminal niereninsuffizienten Patienten könnten auf die Transaminisierung von L-Lysin zu H-Arginin in der Niere zurückgeführt werden. Zusätzlich spielt möglicherweise der Ernährungsstatus eine Rolle.^[50]

IV.2.5 Korrelation der Biomarker für endotheliale Dysfunktion mit Nierenfunktion/Hämodialyse

Alle bisher zitierten Studien sahen erhöhte Werte für ADMA und SDMA bei niereninsuffizienten Patienten im Vergleich zu Gesunden. Die meisten konnten einen Anstieg der Dimethylarginine mit aggravierender und schließlich terminaler Niereninsuffizienz zeigen.^[46, 179, 181] SDMA scheint sich dabei als guter Marker für die Nierenfunktion darzustellen,^[48, 178] was daran liegen könnte, dass SDMA zu einem größeren Teil renal eliminiert wird. Bei ADMA dagegen spielt der Abbau durch Metabolisierung mittels des Enzyms DDAH in Nieren, Pankreas, Blutzellen und anderen Geweben eine größere Rolle.^[59, 74] Auch H-Arginin war in vielen Arbeiten Biomarker für die Nierenfunktion. Mit zunehmender Niereninsuffizienz bis hin zur Hämodialyse-Pflichtigkeit fielen die H-Arginin-Konzentrationen.^[114, 115, 180] Die hohe Expressionsrate des Enzyms AGAT in der Niere,^[58] welches die Bildung von H-Arginin katalysiert, könnte eine Erklärung hierfür sein. Zudem entsteht H-Arginin vornehmlich durch endogene Synthese und weniger durch Ernährung.^[56, 57, 68, 182]

Durch Dialyse ist es zwar möglich ADMA und SDMA zu senken,^[46, 177, 178, 181] allerdings konnte bei MacAllister et al. ein schneller Rebound der Konzentrationen nach der Dialyse nachgewiesen werden.^[178] Dies wurde zum einen einer erhöhten Produktion der Dimethylarginine nach der Dialyse, zum anderen einer Umverteilung oder einem Angleichen des Plasmas mit anderen Kompartimenten zugeschrieben.^[178]

IV.2.6 Korrelation der Biomarker für endotheliale Dysfunktion mit Diabetes mellitus

An einigen Stellen konnte bereits ein Zusammenhang von Insulin-Resistenz mit erhöhten ADMA-Spiegeln nachgewiesen werden.^[75, 78, 116, 117, 183, 184] Eine pharmakologische Erhöhung der Insulin-Sensitivität scheint im Gegenzug zu einem Abfall der ADMA-Werte zu führen.^[78] Die Ursache für die erhöhten ADMA-Konzentrationen könnte eine reduzierte Aktivität der DDAH sein, welche auch in kultivierten Endothelzellen nach länger andauernder Glucose-Exposition nachgewiesen werden konnte.^[75]

Für eine Assoziation von SDMA mit Diabetes mellitus sind in der Literatur unterschiedliche, teils widersprüchliche Nachweise zu finden. Schutte et al beispielsweise fanden eine negative Korrelation von SDMA und Insulin-Resistenz.^[185] Andere sahen bei Hämodialysepatienten mit Diabetes mellitus signifikant niedrigere SDMA-Werte verglichen mit denen ohne Diabetes mellitus.^[49] Tanhäuserová und Kollegen wiederum fanden eine strenge Korrelation endogener Methylarginine mit Stadien diabetischer Nierenerkrankung.^[118]

Bei Ravani wurden 18% höhere Homoarginin-Spiegel bei Diabetikern im Vergleich zu Nicht-Diabetikern gesehen.^[180]

Bislang erforschten relativ wenige Studien den Zusammenhang von SDMA und insbesondere H-Arginin mit Diabetes mellitus.

IV.2.7 Sensitives C-reaktives Protein

Der Median des SCRP lag in der Placebo-Gruppe bei 5,5 (IQR 2,5-12,4) und bei 4,6 (IQR 2,2-12,45) mg L⁻¹ in der Atorvastatin-Gruppe. Wie im Folgenden erläutert waren damit die Werte vergleichbar mit den in der Literatur genannten Konzentrationen.

Caliskan et al. untersuchten bei einem kleinen Kollektiv von Patienten mit Peritonealdialyse-Therapie Prädiktoren für Atherosklerose. Hier wurden mit 8,13±8,5 mg L⁻¹ wesentlich höhere SCRP-Spiegel als in unserer Studie gefunden. Allerdings war die Variabilität der Werte (0,94-34,76 mg L⁻¹) sehr hoch.^[186] In der AURORA Studie wurden diabetische und nicht-diabetische Hämodialyse-Patienten untersucht. Der mediane SCRP-Wert lag dort bei 5,02 mg L⁻¹ in der Rosuvastatin-Gruppe und 5,51 mg L⁻¹ in der Placebo-Gruppe und war damit den Werten der 4D-Studienteilnehmer ähnlich.^[16] In einer Substudie der ALERT-

Studie, in der der Effekt von Fluvastatin auf kardiale und renale Endpunkte bei nierentransplantierten Patienten untersucht wurde, lag der mittlere SCRP-Wert bei $3,82 \pm 6,71 \text{ mg L}^{-1}$.^[187] Zimmermann und Kollegen erforschten den Zusammenhang von Markern für Inflammation und kardiovaskulärem Risiko und Mortalität bei Hämodialyse-Patienten. Hier war CRP wesentlich höher als bei dem von uns untersuchten Patientenkollektiv (Mittelwerte: Gesamtstudienpopulation $16,2 \pm 24,5 \text{ mg L}^{-1}$, Diabetiker $24,4 \pm 35,5 \text{ mg L}^{-1}$ und Nicht-Diabetiker $12,9 \pm 17,2 \text{ mg L}^{-1}$).^[163] Bei den von Qureshi et al. untersuchten Dialysepatienten wurde vor allem bei älteren Patienten und bei Personen mit kardiovaskulären Erkrankungen CRP-Werte $>10 \text{ mg L}^{-1}$ ermittelt. Allerdings konnten darunter liegende Werte laborchemisch nicht differenziert werden.^[188] Haubitz und Kollegen stellten bei einer relativ kleinen Studienpopulation von Hämodialyse-Patienten mittlere CRP-Werte von $4,7 \pm 1,3 \text{ mg L}^{-1}$ fest. Bei niereninsuffizienten, nicht-dialysepflichtigen Patienten war das mittlere CRP $1,726 \pm 0,218 \text{ mg L}^{-1}$ und beim Kontrollkollektiv $0,738 \pm 0,014 \text{ mg L}^{-1}$.^[132]

Der Referenzwert des CRP hängt von der Analysemethode ab und liegt in diesem Fall bei $<5 \text{ mg L}^{-1}$. Mit hochsensitiven Assays können wesentlich niedrigere Werte (hier ab $0,11 \text{ mg L}^{-1}$) gemessen werden, wie es für die Bestimmung des kardiovaskulären Risikos beispielsweise sinnvoll erscheint. Die Verteilung des CRPs in der Allgemeinbevölkerung ist unterschiedlich, in bestimmten Subgruppen können erhöhte Werte auftreten (Kinder, Ältere, verschiedene ethnische Bevölkerungsgruppen, Schwangere, Adipöse, Raucher, ...).^[127, 153, 189, 190, 191]

IV.2.8 Korrelation von sensitivem C-reaktiven Protein mit Nierenfunktion/Hämodialyse

Mehrere Forschungsgruppen sahen einen Zusammenhang von Hämodialyse^[192, 193] und erhöhten CRP-Werten, in einem wesentlich geringeren Ausmaß war dies bei Peritonealdialyse zu sehen.^[132] Bei Docchi und Kollegen korrelierte der Grad des CRP-Anstiegs mit der Dauer der Dialyse.^[131] Aufgrund des hohen Molekulargewichtes (bis in den dreistelligen Kilo-Dalton-Bereich, je nach Messmethode) wird CRP nur zu einem äußerst geringen Teil renal ausgeschieden (Clearance $< 0,1 \text{ mL min}^{-1}$),^[132] weshalb eine Kumulation höchstwahrscheinlich nicht den Grund für die erhöhten Werte darstellt. Erklärlich wird das bei den

meisten terminal niereninsuffizienten Patienten erhöhte CRP durch eine chronisch aktivierte akute Phase Reaktion mit Erhöhung proinflammatorischer und inflammatorischer Cytokine.^[192] Monocyten-stimulierter Ausstoß von Cytokinen durch verschiedene Faktoren terminaler Niereninsuffizienz und Hämodialyse ist Zeichen einer veränderten Immunantwort.^[194, 195, 196] Inflammation könnte zudem durch das Dialyseverfahren an sich hervorgerufen werden^[132] (Dialysemembran, Bioinkompatibilität, Dialysat-Puffer, bakterielle Fragmente im Dialysat).^[195, 196, 197, 198]

IV.2.9 Korrelation von sensitivem C-reaktiven Protein mit Diabetes mellitus

Chronische (subklinische) Inflammation scheint bei der Pathogenese von Diabetes mellitus Typ 2 eine Rolle zu spielen.^[199] Eine Korrelation von Nüchtern-Glucose-Spiegeln mit hs-CRP wurde in der Literatur teils gesehen, teils nicht.^[200, 201] Yuan et al. sahen bei Patienten mit gestörter Glucosetoleranz und bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 höhere hs-CRP-Werte als bei Gesunden.^[128] Mögliche pathophysiologische Mechanismen hierfür wurden an mehreren Stellen gefunden: O’Riordain et al. wiesen nach, dass Insulin die Induktion von CRP in humanen Hepatocyten in der Gegenwart von Il-6 verringert.^[202] Campos et al. sahen Hinweise, dass eine verminderte Insulinsensitivität zu gesteigerter CRP-Produktion führen kann.^[203]

Wie bereits beschrieben, kann überhöhte Glucoseaufnahme zu oxidativem Stress und Inflammation führen. So sahen auch Ridker et al. eine Assoziation zwischen erhöhtem CRP und Insulin-Resistenz beziehungsweise dem metabolischen Syndrom.^[130]

IV.3 Assoziation von Asymmetrischem Dimethylarginin mit klinischen Ereignissen

Unabhängig davon, wie hoch das zu Studienbeginn gemessene ADMA war, stellte es keinen verlässlichen Biomarker für Schlaganfall dar. Zwar war die Ereignisrate bei Patienten mit besonders hohen ADMA-Werten am höchsten, dennoch konnte hier kein signifikanter Zusammenhang gesehen werden. Obwohl die Gesamtmortalität mit steigendem ADMA

stieg, war ADMA kein signifikanter Prädiktor für die Gesamtmortalität oder den plötzlichen Herztod. Das Risiko des kombinierten kardiovaskulären Endpunktes erhöhte sich signifikant um 36%, das des Myokardinfarktes um 66% bei Patienten der zweiten Quartile (ADMA-Konzentration zwischen 0,77 und 0,86 $\mu\text{mol L}^{-1}$) verglichen mit der ersten (ADMA $\leq 0,77 \mu\text{mol L}^{-1}$). Eine linear steigende Inzidenz mit steigendem ADMA konnte nicht gesehen werden. Nach den vorliegenden Ergebnissen, die aus Untersuchungen des zu Studienbeginn gemessenen ADMA resultieren, konnte ADMA damit zwar als Prädiktor für Myokardinfarkt und den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, nicht jedoch für Schlaganfall, plötzlichem Herztod oder Gesamtmortalität identifiziert werden. Dies steht teilweise in Widerspruch zu Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen.

Die Entdeckung der neuronalen Nitrit Oxid Synthase (NOS) in Gehirn und Cerebralarterien^[204] führte zu der Schlussfolgerung, NO sei entscheidend für die cerebrale Perfusion. ADMA als einer der endogenen Inhibitoren der NOS ist bei vielen Entitäten (arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, fortgeschrittenes Alter, Vorhofflimmern, Hyperlipidämie, Fettleibigkeit, Hyperhomocysteinämie, Zustände von Inflammation, Intima-Media-Dicke der Carotiden), welche mit dem Auftreten von Schlaganfällen assoziiert sind, erhöht.^[96, 102] Kielstein und Kollegen wiesen an 20 jungen, gesunden Männern die reduzierte Compliance von Arterien und folglich eine cerebrale Minderdurchblutung während einer systemischen ADMA-Infusion (supraphysiologische Spiegel) nach.^[96] Wanby et al. erkannten ADMA als schwachen Biomarker für akuten Schlaganfall und starken für TIAs. Kardio-embolische Schlaganfälle und TIAs, nicht allerdings nicht kardio-embolische und hämorrhagische Schlaganfälle waren mit erhöhten ADMA-Werten assoziiert. Dies könnte einer stärkeren Assoziation von ADMA sowohl mit mikro- als auch mit makroangiopathischen Erkrankungen zugeschrieben werden.^[100] Bei Brouns und Kollegen hatten Schlaganfall-Patienten signifikant höhere Gesamt-Dimethylarginin-Spiegel im Liquor als solche mit TIA und diese wiederum als die Kontrollgruppe; die Dimethylarginine korrelierten mit der Krankheitschwere.^[99] Chen und Kollegen fassten in einem Übersichtsartikel die Effekte von ADMA in Zusammenhang mit akuten ischämischen Schlaganfällen und dem funktionellen neurologischen Ergebnis nach dem Ereignis zusammen. So scheinen hohe Werte früh nach dem Akutereignis für ein negatives Outcome zu sprechen.^[101] Analog fielen Schlaganfallpatienten mit günstigem funktionellen neurologischen Ergebnis durch zügig abfallende ADMA-

Werte innerhalb der ersten drei Tage nach dem Ereignis auf, wohingegen bei Patienten mit ungünstigem Outcome die ADMA Konzentrationen nach einem Anstieg über eine Woche stabil erhöht blieben.^[105] Bei Stühlinger et al. und Leiper et al. wurden Erklärungen für diese Ergebnisse gefunden: Zellschaden und Proteolyse nach dem Akutereignis erzeugen oxidativen Stress in der Schadensregion, was zu einem Anstieg der Expression von PRMTs und damit einem Abfall der DDAH-Aktivität führt.^[77, 205] Auf diese Weise steigen ADMA-Konzentrationen sowohl durch gesteigerte Produktion als auch durch reduzierte Metabolisierung. Zwar kann ADMA unter anderem durch Reduktion der cerebralen Perfusion Schaden verursachen, aber auch durch Inhibition der verschiedenen NOS-Isoenzyme eine schädigende Überproduktion von NO mindern.

Eine Assoziation von erhöhtem ADMA mit dem Auftreten von Schlaganfällen wurde auch bei anderen Patientenpopulationen gesehen: Yoo et al. konnten bei älteren Schlaganfall-Patienten erhöhtes ADMA als Prädiktor für Schlaganfälle darstellen. Zudem hatten dort Patienten mit rezidivierenden cerebralen Infarkten höhere ADMA-Werte als die mit Erstereignis.^[206] Auch Khan et al. konnten an einer relativ kleinen Patientenpopulation erhöhte ADMA-Werte bei Patienten mit cerebralen mikrovaskulären Erkrankungen demonstrieren. Zwar korrelierte der Grad an subkortikaler arteriosklerotischer Enzephalopathie positiv mit ADMA, allerdings nicht mit dem Grad des lakunären Infarktes.^[97] Pikula et al. beobachteten in einer Substudie der Framingham Offspring Studie eine unabhängige Assoziation hoher ADMA-Spiegel mit erhöhter Prävalenz stummer cerebraler Ischämien.^[207] Des Weiteren sahen einige Arbeitsgruppen bei weiblichen Patientenpopulationen einen signifikanten Zusammenhang zwischen erhöhten ADMA-Werten und dem Auftreten von Schlaganfällen (und Myokardinfarkten).^[89, 208]

Obwohl die Inzidenz von Schlaganfällen und kognitiver Dysfunktion bei chronisch Niereninsuffizienten erhöht ist,^[209] konzentrierten sich bislang wenige Studien auf diese Patienten. Nanayakkara und Kollegen untersuchten nicht-diabetische Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz milder bis mäßiger Ausprägung (GFR 15-70 mL/min/1,73 m²) und sahen eine starke unabhängige Assoziation von ADMA mit der Intima-Media-Dicke der Carotiden - einem starken Surrogat-Parameter für Atherosklerose auch bei Dialysepatienten^[103] - sowie dem vaskulären Zelladhäsionsmolekül VCAM-1.^[104] Bei Zoccali et al. war die Intima-Media-Dicke der Carotiden bei Dialysepatienten mit der Höhe des ADMA Spiegels as-

soziiert. Zudem fand diese Gruppe bei den Patienten mit initial normaler Intima-Media-Dicke eine strenge Korrelation von ADMA und CRP mit dem Progress dieser Erkrankung. ADMA und CRP korrelierten miteinander.^[102]

Nach aktueller Literaturlage scheint somit ADMA mit dem Auftreten von Schlaganfällen sowohl in der Allgemeinbevölkerung als auch bei niereninsuffizienten sowie terminal niereninsuffizienten Patienten assoziiert zu sein. Experimentell konnte nachgewiesen werden, dass es Anteil an der Regulierung der cerebralen Perfusion hat. Ob erhöhtes ADMA als Ursache oder vielmehr als Folge des cerebralen Schadens auftritt, bleibt zu diskutieren. Die fehlende Assoziation von ADMA und Schlaganfall in der hier vorliegenden Studie könnte durch die vergleichsweise niedrigen Werte der Patientenkohorte zustande gekommen sein. Hier muss erwähnt werden, dass ein großer Anteil der 4D-Studienteilnehmer mit einem ACE-Inhibitor oder Angiotensin II-Rezeptor Blocker therapiert worden ist.^[17] Beide Medikamente können (zum Beispiel durch die Reduktion von ADMA) die Endothelfunktion und NO-Verfügbarkeit verbessern.^[20, 210] Da ein Statineffekt auf ADMA weitgehend ausgeschlossen ist, kann dies nicht als Erklärung in Betracht gezogen werden.^[210] Allerdings sind - zumindest experimentell - verschiedene Antidiabetika in der Lage ADMA-Spiegel zu senken. Daher könnte diskutiert werden, ob sich die Behandlung des Diabetes mellitus Typ 2 in dieser Hinsicht positiv auf die Studienpopulation auswirkte.^[78] Eine klinische Evidenz für diesen Umkehrschluss kann in der Literatur allerdings nicht gefunden werden. Aufgrund der relativ geringen absoluten Anzahl an Schlaganfällen wurde eine Assoziation von ADMA mit einzelnen Subtypen von Schlaganfällen nicht durchgeführt. Somit bleibt die Frage, ob ADMA unter anderem mit dem Grad an subkortikaler arteriosklerotischer Enzephalopathie bei dem hier vorliegenden Kollektiv assoziiert ist, unbeantwortet. Nicht zuletzt muss darauf hingewiesen werden, dass bei Dialysepatienten im Vergleich zur Allgemeinbevölkerung unterschiedliche Faktoren die cerebrale Perfusion beeinflussen können (siehe 1.3 Schlaganfall).

ADMA ist als Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse sowie Mortalität lange bekannt. Böger fasste zusammen, dass ADMA bei Patienten mit systemischer Atherosklerose, bei arterieller Hypertonie und auch bei Niereninsuffizienz erhöht ist.^[81] ADMA konnte an zahlreichen Stellen als unabhängiger Prädiktor für den Progress der Niereninsuffizienz identifiziert werden.^[62, 90, 91] Bei Schnabel et al. waren die ADMA-Konzentrationen höher bei Pati-

enten, die aufgrund einer kardialen Ursache starben oder einen nicht-fatalen Myokardinfarkt erlitten. Steigende ADMA-Werte waren dort assoziiert mit kardiovaskulären Ereignissen und kardiovaskulär bedingtem Tod.^[85] Anscheinend steigt das kardiovaskuläre Risiko sogar linear mit steigendem ADMA an.^[86, 87] In der Population Study of Women in Gothenburg war ADMA unabhängig von traditionellen Risikofaktoren ein signifikanter Prädiktor für die kardiovaskuläre Mortalität, kombiniert für tödliche und nicht-tödliche Myokardinfarkte und Schlaganfälle sowie kombiniert für tödliche und nicht-tödliche Myokardinfarkte.^[89]

Zoccali und Kollegen untersuchten den prädiktiven Wert von ADMA für Mortalität und kardiovaskuläres Outcome bei Hämodialyse-Patienten. Die ADMA-Konzentration bei Baseline war dort signifikant höher bei den verstorbenen Patienten im Vergleich zu den Überlebenden und ebenso bei den Patienten mit kardiovaskulären Ereignissen. ADMA war wie bei Lu et al.^[93] ein starker Prädiktor für Gesamtmortalität und kardiovaskuläre Ereignisse.^[92] Kielstein und Kollegen beobachteten bei Hämodialyse-Patienten mit Atherosklerose wesentlich höhere ADMA-Werte als bei denen ohne Atherosklerose.^[94] Vermutlich aufgrund verschiedener Verbindungen zwischen dem NO-System und kardialem Remodeling scheinen auch das Vorhandensein einer linksventrikulären Hypertrophie und einer systolischen Dysfunktion bei Hämodialysepatienten mit erhöhten ADMA-Spiegeln assoziiert zu sein.^[95] Tripepi et al. stellten einen Zusammenhang zwischen Inflammation, ADMA und kardiovaskulärem Outcome bei Dialysepatienten (Kohorte der CREED-Studie) her: ADMA, CRP und Il-6 waren prädiktiv für die Gesamtmortalität, ADMA hingegen war als einziger Marker signifikant mit dem Risiko für tödliche und nicht-tödliche kardiovaskuläre Ereignisse assoziiert. Bei der Analyse von ADMA und CRP in Kombination zeigten Patienten, bei denen beide Biomarker erhöht waren, ein signifikant höheres Risiko für Tod und kardiovaskuläre Ereignisse als die, bei denen nur einer der Parameter erhöht war. Zugeschrieben wurde dies einer synergistischen Interaktion von endothelialer Dysfunktion und Inflammation.^[211]

Zusammenfassend kann gesagt werden, dass ADMA sowohl in der Allgemeinbevölkerung als auch insbesondere bei Patienten mit Niereninsuffizienz einen Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse darstellt. Dies konnte in der vorliegenden Studie teils bestätigt werden und

spricht für die endotheliale Dysfunktion als wichtigen pathophysiologischen Mechanismus für die Genese dieser Erkrankungen im Gegensatz zu Schlaganfällen im Allgemeinen.

IV.4 Assoziation von Symmetrischem Dimethylarginin mit klinischen Ereignissen

Das zu Studienbeginn gemessene SDMA stellte als stetige Variable keinen Prädiktor für Schlaganfall dar. Für Patienten in Quartile 3 ($\text{SDMA} > 2,45$ bis $\leq 2,96 \mu\text{mol L}^{-1}$) stieg das Schlaganfallrisiko auf 125% und für Patienten in Quartile 4 ($\text{SDMA} > 2,96 \mu\text{mol L}^{-1}$) auf 90% pro Einheit Einstieg im Vergleich zu Patienten in Quartile 1 ($\text{SDMA} \leq 1,97 \mu\text{mol L}^{-1}$). In Hinblick auf den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, die Gesamtmortalität, den plötzlichen Herztod und Myokardinfarkt sah man keinen signifikanten Zusammenhang mit dem zu Beginn gemessenen SDMA. Zusammengefasst gibt es Hinweise, dass erhöhtes SDMA einen Prädiktor für das Auftreten von Schlaganfällen bei diesem Patientenkollektiv darstellt. Es fand sich keine Assoziation mit kardiovaskulären Ereignissen und Mortalität. Die Ergebnisse unserer Studie sind wie im Folgenden erörtert teils mit der allgemeinen Studienlage konform.

In einer Substudie der Framingham Offspring Studie konnten zwar die ADMA-Spiegel bei Baseline mit Schlaganfall-Zeichen im MRT in Relation gesetzt werden, dies traf aber nicht für SDMA zu.^[207] Bei Wanby et al. hing das Auftreten kardio-embolischer Schlaganfälle vom SDMA-Spiegel ab. Keine Assoziation bestand allerdings mit dem Auftreten nicht-kardio-embolischer und hämorrhagischer Schlaganfälle sowie TIAs. Die Höhe der Dimethylarginine korrelierte nicht mit dem Auftreten von Carotisstenosen.^[100] Eine serielle Spiegelbestimmung der Dimethylarginine nach akutem Schlaganfall wurde bei Worthmann et al. durchgeführt. ADMA, nicht aber SDMA und L-Arginin waren in der Patientengruppe mit Schlaganfall zu jedem Zeitpunkt höher als in der Kontrollgruppe. In den ersten drei Tagen nach Schlaganfall stiegen die Dimethylarginine (gesamt) an. Bei den Patienten mit ungünstigem Outcome konnte in den ersten 24 Stunden nach dem Akutereignis ein kontinuierlicher SDMA-Anstieg verzeichnet werden; Werte $> 0,591 \mu\text{mol L}^{-1}$ 24 Stunden nach dem Ereignis waren ein unabhängiger Risikofaktor für ein ungünstiges neurologisches Outcome.^[105] Eine asymptotische Carotisatheromatose war bei Riccioni et al. bei Älteren (60-

85 Jahre) mit erhöhten ADMA- und SDMA-Werten assoziiert.^[212] Schulze et al. erkannten, dass das kumulative Überleben nach akutem ischämischen Schlaganfall (die ersten 30 Tage waren bereits überlebt) mit steigendem ADMA und SDMA sank. SDMA kristallisierte sich als unabhängiger Prädiktor für das Langzeitüberleben nach ischämischem Schlaganfall heraus.^[106] In einer weiteren Studie konnte dies auch in der Akutphase nach Schlaganfall nachgewiesen werden. Steigendes SDMA zeigte eine signifikante Assoziation mit der Inzidenz kardiovaskulärer Ereignisse und Mortalität.^[213]

Bei Nanayakkara und Kollegen sah man bei Patienten mit milder bis moderater Niereninsuffizienz ebenso wie bei Wanby et al., in deren Studie der Nierenfunktion kein spezieller Stellenwert zukam, keine Korrelation von SDMA mit der Intima-Media-Dicke der Carotiden.^[104] Lüneburg und Kollegen erkannten SDMA als Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse und Tod in der akuten Phase eines ischämischen Schlaganfalls, diese Assoziation war eng mit der Nierenfunktion verbunden. Die zusätzliche Assoziation von SDMA und CRP stützte die Hypothese der endothelialen Dysfunktion und Inflammation als pathophysiologischer Mechanismus für ischämische Schlaganfälle. Überraschend war in deren Arbeit ADMA ein besserer Prädiktor für Myokardinfarkte und SDMA ein besserer für Schlaganfälle. Ebenso waren Cholesterin-Spiegel und Nikotinkonsum bessere Prädiktoren für Myokardinfarkte und arterielle Hypertonie und Vorhofflimmern bessere für Schlaganfälle.^[213]

Zusammengefasst sieht man in der Literatur zwar bei einigen Arbeitsgruppen eine Assoziation von SDMA mit dem Auftreten von Schlaganfällen, allerdings verhalten sich die Ergebnisse nicht einheitlich. SDMA scheint vor allem mit dem Überleben nach Schlaganfall zusammenzuhängen. Betrachtet man vergleichend die hier vorliegenden Ergebnisse, so fällt auf, dass SDMA sich ebenso nicht generell als Prädiktor für Schlaganfälle präsentierte, sondern eine bestimmte Höhe des Wertes ($>2,45 \mu\text{mol L}^{-1}$) mit einer Risikoerhöhung assoziiert war. Dies könnte dadurch erklärt sein, dass SDMA wesentlich stärker als sein Strukturanalogon ADMA bei terminaler Niereninsuffizienz kumuliert. Durch kompetitive Blockade des L-Arginin- γ^+ -Transporters^[65] und somit Inhibieren der tubulären L-Arginin-Resorption in der Niere^[67] hemmt SDMA zwar dosisabhängig die NO-Synthese, es interagiert im Gegensatz zu ADMA allerdings nicht direkt mit der NO-Synthase.^[48] Auf der anderen Seite scheint SDMA vor allen Dingen proinflammatorisch zu wirken. Calciumvermittelt stimuliert SDMA die Produktion reaktiver Sauerstoffspezies in Endothelzellen

und Monozyten.^[48, 214] Außerdem korreliert SDMA mit einigen Biomarkern für Inflammation wie TNF- α und Il-6. Der in-vitro Nachweis für eine durch SDMA induzierte gesteigerte Produktion dieser Biomarker in Monozyten konnte bereits geliefert werden.^[215] SDMA-Produktion und Inflammation könnten über die PRMT 5, welche ebenso die Il-6-Gen-Expression reguliert,^[53] assoziiert sein. Folglich unterstützen unsere Ergebnisse die Hypothese der Inflammation als mitverantwortlichen pathophysiologischen Mechanismus bei der Entstehung von Schlaganfällen bei diesem Patientenkollektiv. Dass eine bestimmte Höhe des Wertes ausschlaggebend war, schwächt die Aussagekraft leicht.

SDMA kristallisierte sich als kardiovaskulärer Prädiktor in der Allgemeinbevölkerung heraus. Kiechl et al. sahen beispielsweise ein steigendes kardiovaskuläres Risiko bei einem SDMA $>0,8 \mu\text{mol L}^{-1}$.^[108] In der Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Studie stiegen das Risiko für Gesamtmortalität und kardiovaskuläre Mortalität in Abhängigkeit des SDMA-Spiegels. SDMA war zudem signifikant mit allgemeinen kardiovaskulären Risikofaktoren assoziiert. Ein Unterschied in der Stärke der Risikoprädiktion zwischen den beiden Dimethylargininen konnte nicht gesehen werden. Bei Patienten mit NSTEMI stellten Cavalca et al. SDMA als unabhängigen frühen Prädiktor für den kombinierten Endpunkt aus kardialem Tod und Myokardinfarkt dar.^[109] Siegerink et al. zeigten bei Patienten mit stabiler koronarer Herzerkrankung (ähnliches Kollektiv wie in der LURIC Studie, s.o.), dass ADMA im Gegensatz zu SDMA kein Risikofaktor für Gesamtmortalität und sekundäre kardiovaskuläre Ereignisse war.^[216] Die prädiktive Stärke von SDMA wurde unter anderem mit der bereits beschriebenen proinflammatorischen Wirkung erklärt.^[107]

Bode-Böger et al. fanden Hinweise, dass SDMA bei niereninsuffizienten Patienten ein Biomarker für koronare Herzerkrankung sein kann.^[48] Cavalca et al. sahen im Umkehrschluss bei Patienten mit NSTEMI und erhöhtem SDMA eine Assoziation mit chronischer Niereninsuffizienz.^[109] Studien zu SDMA und kardiovaskulärem Risiko bei terminaler Niereninsuffizienz sind selten. Analog zu den hier vorliegenden Ergebnissen sah man weder bei Zoccali et al., in deren Pionierarbeit ADMA als kardiovaskulärer Prädiktor und Prädiktor für Mortalität identifiziert werden konnte, noch bei Aucella et al. für SDMA einen signifikanten Zusammenhang mit der Gesamtmortalität und mit fatalen und nicht-fatalen kardiovaskulären Ereignissen bei terminal niereninsuffizienten Patienten.^[92, 217] Als mögliche Ursachen wurden der exponentielle Anstieg und eine stärkere Streuung der Werte mit Ver-

sagen der Nierenfunktion sowie die damals noch vermutete biologische Inaktivität in Betracht gezogen.^[48, 92]

IV.5 Assoziation von Homoarginin mit klinischen Ereignissen

Die Schlaganfallrate hing von der Höhe des H-Arginins ab: je höher der Wert, desto geringer die Rate. Obwohl in der univariaten Analyse H-Arginin ein guter Prädiktor für ein fallendes Schlaganfallrisiko war, konnte dies in der multivariaten Analyse nicht bestätigt werden. Ebenso verhielt es sich mit dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt. Für Myokardinfarkte sah man keinen Zusammenhang. Auch kategorisiert betrachtet verbesserte sich die Aussagekraft für H-Arginin nicht. Obwohl bei den Analysen für H-Arginin ein gewisser Trend in Hinblick auf den Schlaganfall gesehen wurde, kann es nicht als Prädiktor für Schlaganfälle fungieren. Einen Prognosefaktor für Myokardinfarkte bei dem vorliegenden Patientenkollektiv stellt es nicht dar. Das Risiko zu versterben sank allerdings mit steigendem H-Arginin. Die Wahrscheinlichkeit den plötzlichen Herztod zu erleiden fiel um 60% pro Einheit Anstieg. Im Vergleich der oberen Quartilen mit der mit den niedrigsten H-Arginin-Werten war ebenso das Mortalitätsrisiko deutlich niedriger.

Drechsler et. al waren vermutlich die ersten, die ein niedriges H-Arginin als Risikofaktor für plötzlichen Herztod bei Dialysepatienten identifizierten.^[113] Ein gewisser Einfluss auf Schlaganfälle wurde dort zurückgeführt auf mikro- und makrovaskuläre Effekte. Zum einen beeinflusst H-Arginin den Glukosestoffwechsel. Die auf diese Weise erzeugten mikrovaskulären Veränderungen könnten den unterschiedlichen Effekt von H-Arginin auf Schlaganfall und Myokardinfarkt erklären. Zum anderen bewirken erhöhte H-Arginin-Spiegel eine erhöhte Exkretion von Nitrat, dem Abbauprodukt von NO, und einen reduzierten Blutdruck bei salzsensitiven hypertensiven Ratten,^[218] was auch die erhöhte Schlaganfallrate bei niedrigem H-Arginin erklären könnte. Und schließlich - wie schon an anderer Stelle erwähnt - hat H-Arginin auch einen Anteil an der Metabolisierung von NO, welches die Regulierung des Blutflusses beeinflusst.^[113, 204, 219] Pilz et al. erkannten in einer Substudie der LURIC Studie niedrige H-Arginin-Spiegel als unabhängigen Risikofaktor für Schlaganfälle. Diese waren außerdem mit stattgehabten cerebrovaskulären Ereignissen assoziiert.^[220] Vermutlich beschrieb deren Arbeit als erste den Zusammenhang zwischen H-Arginin und Schlaganfall-

risiko. An verschiedenen klinischen Kohorten (Leeds Stroke Studie, Harburg Stroke Studie und Gutenberg Health Studie) zeigten Choe et al. eine Assoziation zwischen steigenden H-Arginin-Spiegeln und reduzierter Mortalität bei Patienten mit ischämischem Schlaganfall. Patienten mit Mikroangiopathie (lakunäre Infarkte) hatten höhere mediane H-Arginin-Werte als die mit Makroangiopathie (kompletter oder partieller Infarkt der anterioren Zirkulation). Die cerebrale Infarktgröße und das funktionelle neurologische Ergebnis schienen von der Höhe des H-Arginins beeinflusst zu werden.^[68]

H-Arginin als Prognosemarker ist bislang selten im Fokus der Forschung gewesen. Bezüglich der Untersuchung von H-Arginin als Biomarker für Schlaganfall wurde keine Studie mit einem dem hier vorliegenden vergleichbaren Patientenkollektiv in der Literatur gefunden. Obwohl ein Zusammenhang zwischen H-Arginin und der Nierenfunktion zu bestehen scheint, hat H-Arginin offensichtlich doch bei verschiedenen Patientenpopulationen einen Einfluss.

März et al. verglichen zwei große Patientenkollektive - LURIC Studie und 4D Studie - mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko.^[50] An Patienten, die sich einer Koronarangiographie unterzogen (LURIC Studie), konnte eine besonders hohe kardiovaskuläre- und Gesamtmortalität mit niedrigem H-Arginin-Wert ($<1,85 \mu\text{mol L}^{-1}$) nachgewiesen werden - fallendes H-Arginin war entsprechend ein unabhängiger Prädiktor für diese Endpunkte. H-Arginin korrelierte außerdem mit der Nierenfunktion, mit Biomarkern für endotheliale Dysfunktion (Fibrinogen, D-Dimer, Alkalische Phosphatase, invers mit den endothelialen Adhäsionsmolekülen interzelluläres Adhäsionsmolekül-1 und vaskuläres Adhäsionsmolekül-1) und mit Lysin. Das deutlich erhöhte Risiko für kardiovaskuläre und Gesamtmortalität in der niedrigsten H-Arginin-Quartile ($<0,87 \mu\text{mol L}^{-1}$) bei den 4D Studienteilnehmern wurde bereits beschrieben. H-Arginin korrelierte mit dem Geschlecht (höher bei Männern), Alter (fallend), Albumin, LDL-Cholesterin, Vorhandensein von Herzinsuffizienz und Diabetes-Dauer. Die Mortalitätsrate in der 4D Studie war fünfmal höher als in der LURIC Studie. Die Autoren hielten aufgrund der gefunden Ergebnisse H-Arginin für einen relevanten kardiovaskulären Prognosemarker. H-Arginin verbessere durch antithrombotische Effekte die NO-Verfügbarkeit und erhöhe die Bereitstellung des Substrats L-Arginin zur NO-Produktion.^[50] Die gleiche Arbeitsgruppe untersuchte ebenso an dem Kollektiv der LURIC Studie die Hypothese eines Zusammenhangs zwischen H-Arginin und beeinträchtigter

linksventrikulärer Myokardfunktion und dem Energiemetabolismus. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen H-Arginin und der angiographisch gemessenen Ejektionsfraktion, dem NT-pro-BNP (negativ) und zwischen H-Arginin und Guanidinoacetat und Kreatin. Ein besonders niedriges H-Arginin stellte sich als signifikanter Prädiktor für plötzlichen Herztod, Tod aufgrund von Herzinsuffizienz und tödlichen Myokardinfarkt dar. Das Risiko für die kardiovaskuläre- und Gesamtmortalität stieg invers mit der Höhe des H-Arginins.^[111] Als ursächlich wurden eine temporäre Hochregulierung der AGAT und damit eine erhöhte Produktion von Kreatin in insuffizientem Myokard als gegenkompensatorischer Mechanismus vermutet.^[58, 111] Pilz et al. sahen an einem Patientenkollektiv mit fortgeschrittenem Alter ebenso eine erhöhte kardiovaskuläre- und Gesamtmortalität.^[221] In einer Substudie der Dallas Heart Studie (gemischt-ethnische Kohorte) war höheres H-Arginin mit niedrigeren Raten schwerer kardiovaskulärer Ereignisse und mit niedriger Gesamtmortalität verbunden. Des Weiteren bestand eine signifikante inverse Korrelation mit der aortalen Wanddicke, nicht jedoch mit dem Ausmaß an atherosklerotischen Plaques und Koronarkalk.^[222]

Entsprechende Studien wurden auch bei niereninsuffizienten Patienten durchgeführt und zeigten einen noch deutlicheren Effekt. Bei Drechsler et al. wurde die Assoziation von H-Arginin mit plötzlichem Herztod und Tod aufgrund von Herzinsuffizienz bei Dialysepatienten zurückgeführt auf die unterschiedliche Zusammensetzung und Verteilung des kardiovaskulären Risikos bei terminal niereninsuffizienten Patienten.^[113] Im Vergleich zur Normalbevölkerung, in der sich das Risiko hauptsächlich in Form von Myokardinfarkten manifestiert, sterben Dialysepatienten vornehmlich an plötzlichem Herztod.^[223, 224] Tomaschitz et al. konnten neben einer Korrelation von H-Arginin mit der Nierenfunktion eine signifikante Assoziation von niedrigem H-Arginin mit der kardiovaskulären Mortalität zeigen. H-Arginin und die Nierenfunktion (GFR) waren dabei unabhängig mit der kardiovaskulären Mortalität assoziiert und wirkten zudem synergistisch. Bei den Patienten mit einer eGFR $<60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ war die Assoziation von H-Arginin und kardiovaskulärer Mortalität deutlicher als bei den Patienten mit einer eGFR $\geq 60 \text{ mL/min/1.73 m}^2$. Nur bei eingeschränkter Nierenfunktion bestand eine Verbindung zu Todesfällen aufgrund von Herzinsuffizienz.^[115] Der Progress der Niereninsuffizienz (bis hin zur Dialyse-Pflichtigkeit) und die Mortalität korrelierten bei Ravani et al. invers mit den H-Arginin-Konzentrationen. Die

kardiovaskuläre Mortalität war dort allerdings nicht-signifikant mit H-Arginin verbunden.^[180] An anderer Stelle wurde vermutet, dass die Verbindung von H-Arginin und der Nierenfunktion erst bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz zum Tragen komme.^[112]

Die hier vorliegenden Studienergebnisse fügen sich somit logisch in den bereits bekannten Literaturstand. H-Arginin als noch sehr „junger Biomarker“ bleibt insbesondere in Hinblick auf mögliche pathophysiologische Hintergründe weiter zu erforschen.

Aufgrund von hier mit zunehmender Dialysedauer fallender H-Arginin-Spiegel, könnten Messungen zu unterschiedlichen Zeitpunkten einen zusätzlichen Informationsgewinn bringen. Da ADMA, SDMA und H-Arginin physiologisch eng verwoben sind, scheint die kombinierte Bestimmung dieser Parameter empfehlenswert. Wie auch bei ADMA und SDMA gibt es Hinweise, dass (abfallendes) H-Arginin mit Markern für Inflammation assoziiert ist, weshalb eine gekoppelte Analyse sinnvoll erscheint.

IV.6 Assoziation von sensitivem C-reaktiven Protein mit klinischen Ereignissen

Zusammenfassend zu den Analysen ist zu sagen, dass SCRP als Baseline-Parameter nicht ausreichend aussagekräftig als Vorhersagevariable für Schlaganfall ist, hingegen aber für den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und die Gesamtmortalität. SCRP ist nicht prädiktiv für Myokardinfarkt bei dem untersuchten Patientenkollektiv. Wird eine Verlaufsmessung (Mittelwert zweier Messungen, teils auch bei Rate Post-Baseline/Baseline) in die Risikoanalyse mit einbezogen, so ist SCRP ein exzellenter Prädiktor sowohl für den Schlaganfall als auch den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt, plötzlichen Herztod und die Gesamtmortalität. Das höchste Schlaganfallrisiko bestand in der Gruppe mit der größten Änderung des SCRP-Wertes. Eine Assoziation zwischen LDL-Cholesterin und dem Auftreten von Schlaganfällen bestand nicht. Im Vergleich war SCRP wichtiger als LDL-Cholesterin, um das Risiko von Tod und kardiovaskulären Ereignissen bei terminal niereninsuffizienten Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 zu bestimmen.^[225] Bei verschiedenen Populationen wurde ein Zusammenhang von Inflammation, Carotisatheromatosen und cerebrovaskulären Ereignissen untersucht. Die Ergebnisse sind teils kon-

form mit den Ergebnissen dieser Studie. Chapman und Kollegen, die die Monozytenzahl als besseren Prädiktor für subklinische Carotisatheromatosen als CRP (Il-6, Fibrinogen und Leukozytenzahlen) sahen, bilden eine gewisse Sonderstellung.^[156] Van der Meer et al. erkannten an Patienten der Rotterdam Studie CRP als Biomarker für den Progress von Atherosklerose, gemessen an unterschiedlichen Stellen (Carotiden, Aorta, Iliacalgefäße und Gefäße der unteren Extremität) des arteriellen Gefäßsystems.^[150] An Patienten der Framingham Studie, welche zu Beginn frei von cerebrovaskulären Ereignissen waren, aber im Verlauf einen ischämischen Insult oder eine TIA erlitten, zeigte sich, dass erhöhte CRP-Werte signifikant mit dem Auftreten cerebrovaskulärer Ereignisse (bei Männern und Frauen über 55 Jahre) assoziiert waren.^[152] Bei einer Patientenpopulation der Allgemeinbevölkerung wurde eine Assoziation zwischen wachsender Intima-Media-Dicke und steigenden CRP-Werten dargestellt. Eine Abschwächung dieser Assoziation nach Miteinbeziehung klassischer Risikofaktoren (Rauchen, Fettleibigkeit, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus und Hypercholesterinämie) in die Analysen wurde darauf zurückgeführt, dass zwar chronische Inflammation das vorherrschende Problem zu sein scheint, die CRP-Erhöhung allerdings nicht eindeutig als kausaler Faktor zu sehen ist.^[157] An behandelten hypertensiven Patienten konnten Hashimoto et al. CRP als gleichwertigen oder besseren Prädiktor für die Progression einer Carotisatheromatose im Vergleich zur Blutdruckamplitude oder zum systolischen Blutdruck darstellen.^[226] Erhöhtes CRP war bei dem Patientenanteil der Cardiovascular Health Studie, die frei von Vorhofflimmern waren und keine cerebrovaskuläre Vorgeschichte hatten, ein Risikofaktor für ischämische Schlaganfälle - unabhängig von der Schwere der Carotisklerose. Die Assoziation von CRP und Schlaganfall war deutlicher bei höherem CRP-Wert. Auch war die Schwere der Atherosklerose mit der Höhe des CRPs assoziiert.^[153] Curb et al. zeigten bei einer Kohorte mittelalter, gesunder, japanisch-amerikanischer Männer (Honolulu Heart Program) ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren, dass erhöhte CRP-Werte mit einem vermehrten Auftreten thromboembolischer Schlaganfälle vergesellschaftet sind. Über einen Beobachtungszeitraum von 20 Jahren stieg das Schlaganfallrisiko (relatives Risiko im Zeitraum von fünf bis zehn Jahren 2.5, im Zeitraum von zehn bis 15 Jahren 3.8).^[227] Für Schlaganfälle ischämischer Genese, nicht aber für intrakranielle Blutungen und Subarachnoidalblutungen konnte dies auch an einer chinesischen Patientenpopulation gezeigt werden.^[228] In einem Übersichtsartikel von di Napoli

wird einerseits die These der Inflammation als Ursache für mikroangiopathische cerebrale Erkrankungen gestützt, andererseits wird darauf hingewiesen, dass die pathophysiologische Entstehung nicht gänzlich geklärt ist, da genetische Faktoren ebenso eine Rolle spielen (Beispiel cerebrale autosomal-dominante Arteriopathie/CADASIL, gekennzeichnet durch Mutationen im NOTCH3-Gen). Cerebrale Autoregulation und individueller circadianer Blutdruck (mit fehlendem nächtlichen Abfall oder insgesamt stark fluktuierenden Blutdruckverläufen) scheinen im Gegensatz zu arterieller Hypertonie eine größere Rolle zu spielen.^[229]

Gegensätzlich zu den hier dargestellten Ergebnissen zeigten Everett et al. an gesunden Frauen mittleren bis höheren Alters einen signifikanten Zusammenhang der Lipidwerte mit ischämischem Schlaganfall. CRP korrelierte enger mit ischämischen Schlaganfällen als mit koronarer Herzerkrankung.^[230] Lipidwerte und Schlaganfall-Risiko waren in anderen Studien teils signifikant assoziiert^[231, 232], teils nicht^[233]. Bei einer Unterscheidung in Schlaganfälle ischämischer und hämorrhagischer Genese sahen Iso et al. eine inverse Relation von Serum-Cholesterin-Spiegeln und Tod aufgrund eines hämorrhagischen Schlaganfalls (mittelalte, männliche Amerikaner).^[231] Lindenstrom et al. fanden eine positive Assoziation von Gesamt-Cholesterin mit nicht-hämorrhagischen Ereignissen, allerdings erst für Spiegel über 8 mmol L^{-1} (309 mg dL^{-1}).^[234]

Bei niereninsuffizienten Patienten ist der Literaturstand nicht ganz einheitlich. Pelisek et al. zeigten an Patienten nach operativer Versorgung einer Carotisstenose eine schnellere und stärkere Calcifikation bei niereninsuffizienten Patienten (gemittelte eGFR $49 \pm 9 \text{ ml min}^{-1}$) und eine etwas andere, vulnerablere Plaque-Zusammensetzung. Bei den Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion waren verschiedene Marker für Inflammation (z.B. hs-CRP) signifikant gegenüber dem Kontrollkollektiv erhöht.^[235] In einer post-hoc Analyse der AURORA Studie konnte an Dialysepatienten unter anderem CRP als Risikofaktor für den primären Endpunkt bestehend aus Myokardinfarkt, Schlaganfall und Tod kardialer Ursachen identifiziert werden. Traditionelle Risikofaktoren hatten dort keinen signifikanten Einfluss. Da die Autoren durch Senken des CRPs (durch Rosuvastatin) allerdings keinen Effekt auf das Outcome sahen, warnten sie ebenso, einen kausalen Zusammenhang abzuleiten.^[236] An Patienten mit verschiedenen Stadien von Niereninsuffizienz wurden die Verbindungen von endothelialer Dysfunktion, früher Atherosklerose und Inflammation evaluiert. Die Haupter-

gebnisse waren neben den erhöhten CRP-Werten bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eine positive Korrelation von CRP mit der Intima-Media-Dicke der Carotiden.^[168] Ähnlich konnte dies von Papagianni et al. und Zoccali et al. bei Hämodialyse-Patienten dargestellt werden.^[43, 44] Bei Rauchern zeigte sich zudem, dass die Interaktion von CRP und IgG Anti-Chlamydia pneumoniae Antikörpern ein stärkerer Prädiktor für die Anzahl atherosklerotischer Plaques war. Chronische low-grade Infektion - z.B. durch Chlamydia pneumoniae oder Helicobacter pylori – scheint damit ein möglicher Faktor bei diesen Patienten (terminal niereninsuffiziente Diabetiker mit chronischem Nikotinkonsum und erhöhten CRP-Werten) sein zu können.^[43] Eine Verbindung von endothelialer Dysfunktion, Inflammation und Carotisatheromatose wurde bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz aufgezeigt: Zoccali et al. sahen eine signifikante Assoziation von ADMA mit der Intima-Media-Dicke. Im Verlauf bestand allerdings bei den Patienten mit initial normaler Intima-Media-Dicke eine enge Assoziation von ADMA und CRP mit der Änderung der Intima-Media-Dicke - ADMA und CRP korrelierten. Da in dieser Studie die beobachteten Zusammenhänge unabhängig von anderen (traditionellen und nicht-traditionellen) Risikofaktoren waren, wurde im Gegensatz zu den bisher erläuterten Arbeiten ein kausaler Effekt vermutet.^[102] Chou et al. sahen an taiwanesischen Dialysepatienten CRP als Risikofaktor für ischämische Schlaganfälle und lakunäre Infarkte - unabhängig von Alter, kardiovaskulären Erkrankungen, arterieller Hypertonie und Diabetes mellitus.^[167] An dem Kollektiv der CHOICE-Studie hingegen konnten Sozio et al. keine signifikante Assoziation von Markern für Inflammation (u.a. hs-CRP, Il-6) und dem Risiko für cerebrovaskuläre Ereignisse bei terminal Niereninsuffizienten zeigen. Obwohl auch hier nur Baseline-Messungen in die Analysen miteingingen, zweifelten die Autoren die Hypothese von Inflammation als kausalen Faktor bei diesen Patienten für dieses Krankheitsbild an.^[237] Ähnlich wurde dies auch bei Tripepi et al. gesehen, die als Prädiktoren für Schlaganfall bei terminal Niereninsuffizienten (Kollektiv der CREED Studie) hauptsächlich traditionelle Risikofaktoren sowie erhöhtes Hämoglobin und linksventrikuläre Hypertrophie sahen. Nach deren Schlussfolgerung haben weder Inflammation, Sympathikus-Aktivität noch endotheliale Dysfunktion einen Einfluss auf cerebrovaskuläre Ereignisse bei diesem Patientengut - wobei allerdings bedacht werden muss, dass CRP nicht gemessen wurde.^[42]

Einige Arbeitsgruppen beschäftigten sich mit CRP-Bestimmungen nach einem Schlaganfall und erkannten dieses als prädiktiv für weitere vaskuläre Komplikationen und Mortalität.^[2, 159, 160, 238]

Während in dieser Studie kein Zusammenhang zwischen LDL-Cholesterin und dem Auftreten von Schlaganfällen bestand, war bei einer koreanischen Hämodialyse-Population niedriges LDL ein Prädiktor für ischämische Schlaganfälle.^[239]

Sowohl bei der Allgemeinbevölkerung als auch bei verschiedenen Patientenpopulationen war somit das Auftreten von Schlaganfällen (zumeist ischämischer Genese) mit erhöhten CRP-Werten vergesellschaftet. Ob dies als Nebeneffekt oder als pathophysiologischer Hintergrund auftrat, wird teils diskutiert, insbesondere da der Schlaganfall ätiologisch ein gemischtes Krankheitsbild darstellt. Bei niereninsuffizienten Patienten und Hämodialyse-Patienten ist der Literaturstand uneinheitlicher. Dies könnte dafür sprechen, dass Atherosklerose in geringerem Ausmaß für die Genese des Schlaganfalls verantwortlich ist oder die pathophysiologischen Mechanismen komplexer sind. Beachtet werden muss allerdings, dass für den Endpunkt Schlaganfall - insbesondere bei Dialysepatienten - bislang kaum Longitudinalmessungen für die Risikoabschätzung einbezogen worden sind. Somit nehmen die vorliegenden Ergebnisse eine gewisse Sonderstellung ein. Hier war ein Baseline-CRP gerade nicht prädiktiv für das Auftreten von Schlaganfällen, CRP als Verlaufsparemeter (zweier Messungen) jedoch schon. Möglicherweise ist gerade bei Hämodialyse-Patienten, welche einer Vielzahl inflammatorischer Stimuli ausgesetzt sind und bei denen es sowohl intra- als auch interindividuell zu einer großen Schwankungsbreite der Werte kommt, CRP als Verlaufsparemeter wesentlich wertvoller.

Ob LDL-Cholesterin einen Prädiktor für das Auftreten von Schlaganfällen bei terminal niereninsuffizienten Patienten darstellt, wird teils diskutiert. Die Assoziation von niedrigem LDL mit Schlaganfällen bei Jung et al. wurde einem Confounding mit dem Auftreten von Malnutrition/Inflammation bei Dialysepatienten zugeschrieben.^[239] Die fehlende Assoziation in dieser Studie spricht in gewisser Weise gegen die Relevanz dieser Hypothese. Beachtet werden muss an dieser Stelle allerdings die relativ geringe absolute Anzahl an Schlaganfällen.

Mit im Folgenden beispielhaft genannten Studien werden klinische Hinweise für die Assoziation von CRP mit kardiovaskulären Ereignissen geliefert. Ridker et al. erkannten CRP

als unabhängigen Prädiktor für Myokardinfarkt und Schlaganfall (Kohorte: Männer, frei von stattgehabtem vaskulären Ereignis).^[240] In einer Studie an einem weiblichen Patientenkollektiv (Womens Health Studie) sahen die Autoren CRP als stärksten unabhängigen Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse. Das Hinzufügen von CRP zu einem Lipid-Screening im Rahmen einer Risikofaktorenanalyse führte zu einem signifikanten additiven prädiktiven Effekt. CRP schien dabei ein stärkerer Prädiktor als LDL für kardiovaskuläre Ereignisse zu sein.^[151, 161] Die Unabhängigkeit des CRPs als kardiovaskulärer Prädiktor vom Lipidprofil steht in Übereinstimmung mit unseren Ergebnissen bezüglich der Gesamtmortalität und dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt. Ergänzend konnten die Autoren an einer Studie mittelalter Männer (Kollektiv der MONICA Studie) CRP als kardiovaskulären Risikofaktor unabhängig des Framingham Risiko Scores darstellen. Dies war besonders deutlich bei Patienten mit intermediärem Risikoprofil (11-14% und 14-19%).^[241] Im Rahmen des Honolulu Heart Programms erhöhte sich im Fünfjahres-Verlauf mit steigendem CRP das Risiko eines Myokardinfarktes. Bei klinisch gesunden Männern war die Entwicklung von Atherosklerose deutlicher mit Inflammation als anderen Parametern assoziiert.^[242] Pearson et al. erwähnten in einem Übersichtsartikel (Scientific Statement des Centers for Disease Control and Prevention sowie der American Heart Association) bezüglich Inflammation und Atherogenese die bis dato großen Studien verschiedener Patientenpopulationen, die einen Zusammenhang von CRP mit Atherosklerose (koronarvaskuläre Ereignisse, plötzlicher Herztod, periphere arterielle Verschlusskrankheit) herstellen konnten. Ebenso fanden Arbeiten, die CRP als sekundär präventiven Parameter darstellten, Erwähnung. Abgesehen von den interindividuellen Variabilitäten (Comorbiditäten, „physiologische Zustände“, Rassen,...) führten die bekannten intraindividuellen Varianzen^[243] die Autoren zu der Empfehlung, zwei voneinander unabhängige Messungen durchzuführen (Klasse IIa, Evidenzlevel B). Eine Risikoklassifizierung anhand CRP-Tertilen (der bis dahin untersuchten verschiedenen Patientenkollektive) wurde festgelegt (Empfehlung Klasse IIa, Evidenzlevel B).^[169]

Ergänzend sei an dieser Stelle erwähnt, dass bei Ferreirós et al. longitudinale CRP-Messungen nach einem akuten koronarvaskulären Ereignis einen Vorteil erbrachten bei der Vorhersage eines schlechten Langzeitüberlebens.^[162]

Bergström et al. waren vermutlich die ersten, die 1995 beim jährlichen Treffen der American Society of Nephrology CRP als Prädiktor für Mortalität bei Dialysepatienten vorschlugen.^[166] Einige Jahre später wurde die Studie veröffentlicht und ein zusätzlicher Zusammenhang zu Malnutrition hergestellt. Inflammation, Malnutrition und kardiovaskuläre Erkrankungen schienen assoziiert zu sein.^[188] Albumin und CRP bei Hämodialyse-Patienten bestimmten auch Yeun et al., wobei diese die detektierten niedrigen Albuminspiegel eher der Inflammation als der Malnutrition zuspielten. Die niedrigsten Überlebensraten wurden bei besonders niedrigen Albumin- und besonders hohen CRP-Werten gesehen. Prädiktor sowohl für die Gesamtmortalität als auch die kardiovaskuläre Mortalität war in deren Arbeit nur CRP.^[244] Bei Iseki et al. kristallisierte sich CRP bei Dialysepatienten japanischer Abstammung als unabhängiger Prädiktor für die Mortalität heraus.^[245] In einer post-hoc Analyse der AURORA Studie sah man eine signifikante Assoziation von CRP mit dem kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und dem kardiovaskulären Tod. Konventionelle Risikofaktoren hingegen hatten keinen signifikanten Effekt.^[236] Chronische Inflammation bei Hämodialyse-Patienten war in verschiedenen Studien Thema. Bei Zimmermann et al. war beispielsweise eine einzige CRP-Messung als Ausdruck für eine Akut-Phase-Reaktion signifikanter Prädiktor für die kardiovaskuläre- und Gesamtmortalität in einem Beobachtungszeitraum von zwei und auch vier Jahren.^[163, 164] Tripepi et al. beschäftigten sich mit Markern für Inflammation und Adhäsionsmolekülen bei terminal niereninsuffizienten Patienten. Die Gesamtmortalität wurde in der multivariaten Analyse nur durch das proinflammatorische Cytokin Il-6 und durch CRP signifikant beeinflusst, wobei Il-6 stärker prädiktiv war. Die kardiovaskuläre Mortalität wurde ebenso stärker durch Il-6 im Vergleich zu CRP vorhergesagt. Aufgrund von proatherogenen Eigenschaften von Il-6 (Yudkin) ist dies nicht kontrovers.^[165] Yilmaz et al. untersuchten die Zusammenhänge von Inflammation und kardiovaskulärem Outcome in verschiedenen Stadien der Niereninsuffizienz. Mit fallender Nierenfunktion nahmen die CRP-Spiegel zu; in der multivariaten Analyse war CRP signifikanter Prädiktor für das kardiovaskuläre Outcome.^[246] Eine infektiöse Genese (beispielsweise durch den Dialysezugang) der bei Dialysepatienten bestehenden Inflammation konnte an verschiedenen Stellen ausgeschlossen werden.^[247, 248, 249]

Obwohl hier nur beispielhaft erläutert, wurde in mehreren Studien der Nachweis einer Assoziation von CRP-Einzelmessungen mit der kardiovaskulären Mortalität bei Hämodialyse-

Patienten erbracht. Zu bedenken ist hier natürlich die mehrfach erläuterte große inter- und intraindividuelle Variabilität. Dennoch ist die Datenlage bezüglich longitudinaler Messungen bei diesem Patientenkollektiv dünner. Serielle (vierteljährliche) CRP-Messungen bei Hämodialyse-Patienten (MIMICK und NECOSAD Kohorte) führten beispielsweise Meuwese et al. durch und konnten zeigen, dass sowohl ansteigende als auch persistierend hohe Werte mit einem schlechten Outcome assoziiert waren.^[250] Ebenso führten Elzen et al. CRP-Verlaufsmessungen (drei und sechs Monate Verlauf) an Patienten, die seit kurzem einer Hämodialysetherapie bedurften (NECOSAD Studienteilnehmer), durch. Es zeigte sich auch hier, dass der Patientenanteil mit steigendem CRP im Vergleich mit dem mit gleichbleibend niedrigem CRP ein höheres kardiovaskuläres und nicht-kardiovaskuläres Mortalitätsrisiko hatte. Des Weiteren hatte der Anteil mit dauerhaft hohem CRP ein höheres Risiko im Vergleich zu dem mit im Verlauf fallendem CRP.^[251] Somit decken sich die Ergebnisse dieser Studie im Wesentlichen mit der aktuellen Datenlage bei Dialysepatienten.

An vielen Stellen konnte LDL-Cholesterin als kardiovaskulärer Biomarker präsentiert werden, es stellt einen Parameter des Framingham Risiko Scores dar.^[252, 253] Rider et al. erkannten sowohl LDL-Cholesterin als auch CRP als Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse, wobei sich dieser Zusammenhang deutlicher für CRP zeigte. Die kombinierte Analyse könnte Vorteile erbringen.^[161] Eine Verbindung zu dem Risikofaktor metabolisches Syndrom wurde aufgezeigt.^[130] Bei terminal niereninsuffizienten Patienten dagegen wurde bei Liu et al. sowohl bei Patienten mit Inflammation als auch gesamt ein niedrigeres Mortalitätsrisiko mit steigendem Cholesterin-Spiegel gesehen. Das erhöhte Mortalitätsrisiko mit niedrigem LDL-Cholesterin wurde an einigen Stellen bereits berichtet.^[254, 255] Cholesterin wirkte sich zwar nicht protektiv aus, durch die bei Hämodialyse-Patienten bestehende Inflammation und Malnutrition wurden aber vermutlich die Ergebnisse beeinflusst.^[256] Eine umgekehrte Kausalitätskette mit durch die kardiovaskuläre Erkrankung bedingter Inflammation, Kachexie und somit niedrigen Cholesterinspiegeln wurde an anderer Stelle diskutiert.^[257] Bei den 4D Studienteilnehmern konnte dagegen bei den Patienten mit Inflammation LDL-Cholesterin nicht additiv zur Risikoabschätzung für den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt und die Gesamtmortalität beitragen. In Hinblick auf den Endpunkt Myokardinfarkt und plötzlicher Herztod war zwar das höchste Risiko bei den Patienten mit Inflammation und niedrigem LDL-Cholesterin zu sehen, allerdings waren die Unterschiede

zu der Gruppe mit Inflammation und hohem LDL nicht groß und die Anzahl der Ereignisse in den Subgruppen war klein.^[225] Während in einer post-hoc Studie der AURORA Studie bei Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 zwar ebenso CRP, nicht aber LDL prädiktiv für kardiovaskuläre Ereignisse war, stellten im Gegensatz zu praktisch allen anderen Arbeiten Kim et al. LDL-Cholesterin als unabhängigen Prädiktor für den kombinierten Endpunkt bestehend aus der Gesamtmortalität und kardiovaskulären Ereignissen bei Patienten zum Dialysestart dar.^[258] Bei AURORA waren im Vergleich zu 4D die Patienten zu Dialysestart mindestens 50 Jahre alt, in beiden Fällen waren sie aber „Langzeitdialyse-Patienten“. Das Patientenkollektiv bei Kim et al. wurde dagegen zum Dialysestart untersucht. Trotz eines etwas unterschiedlicheren Studiendesigns bleibt die Frage bestehen, ob LDL-Cholesterin in Hinblick auf die Entwicklung von Atherosklerose bei terminal niereninsuffizienten Patienten die gleiche Rolle spielt wie bei der Allgemeinbevölkerung. Schlussendlich ist zu sagen, dass SCRP mit Berücksichtigung intra- und interindividueller Variabilitäten sich als Prädiktor für das Auftreten von Schlaganfällen, kardiovaskulären Ereignissen, plötzlichen Herztod und Gesamtmortalität eignet. Verlaufsmessungen in die Risikoabschätzung miteinzubeziehen ist ein neues Vorgehen und verbesserte hier die Aussagekraft deutlich. Die kombinierte Analyse von SCRP und LDL-Cholesterin zeigte, dass SCRP eine wichtigere Vorhersagevariable bei Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 darstellt. Krane et al. schlugen daher vor, die standardmäßige LDL-Bestimmung zur Abschätzung des kardiovaskulären Risikos bei Dialysepatienten neu zu bewerten.^[225]

IV.7 Atorvastatin-Einfluss

Weder auf ADMA, SDMA noch H-Arginin hatte die Atorvastatin-Behandlung einen signifikanten Einfluss. SDMA stieg und H-Arginin fiel im Verlauf - Gründe hierfür werden zu Beginn des Kapitels diskutiert. Bei Kurtoglu et al. senkte sowohl Rosuvastatin als auch Atorvastatin effektiv ADMA bei Patienten mit Hypercholesterinämie und Koronarsklerose.^[259] In einigen anderen Studien konnte zudem nachgewiesen werden, dass Rosuvastatin effektiv erhöhte ADMA-Spiegel, welche oxidativen Stress anzeigen, senkt.^[260, 261] Erklärungen für die mögliche Wirkweise von Statinen auf die ADMA-Konzentrationen wurden an einigen Stellen gezeigt: Gen-Expression und Enzymaktivität

der Protein-Arginin-N-Methyltransferase, welche ADMA synthetisiert, scheinen in der Gegenwart von LDL und oxidiertem LDL-Cholesterin erhöht zu sein (trifft nicht für SDMA zu).^[262] Auch wird der Abbau von ADMA durch eine durch Hypercholesterinämie vermittelte Senkung der Aktivität der DDAH gemindert.^[47] Dagegen scheiterten bei Päivä et al. und Valkonen et al. der Versuch mit Simvastatin oder Atorvastatin erhöhte Konzentrationen von ADMA, LMMA (Monomethylarginin) und SDMA zu senken. Bei beiden gab es auch keine Korrelation zwischen ADMA und LDL-Cholesterin.^[261, 263] In einer kürzlich veröffentlichten Meta-Analyse von Serban et al. wurde der Einfluss von Statinen auf ADMA beleuchtet. Auffällig war, dass hydrophile Statine wie Rosuvastatin, Pravastatin und Fluvastatin eine signifikante Auswirkung auf die ADMA-Spiegel hatten (ungeachtet der Dosis und der Therapiedauer), während hydrophobe wie Simvastatin und Atorvastatin diese nicht-signifikant reduzierten. Hydrophobe Statine könnten sich bei niedrigen Dosierungen im Gewebe verteilen, während hydrophile länger zirkulieren. Die Statinwirkung auf ADMA scheint durch deren antioxidative und antiinflammatorische Effekte (hauptsächlich durch Aktivierung der DDAH-Transkription und -Aktivität) erklärt zu sein.^[264]

Studien bezüglich H-Arginin und Statinen sind selten, Krebs und Kollegen fanden bei Kindern mit Diabetes mellitus Typ 1 keinen Einfluss von Atorvastatin auf ADMA und H-Arginin.^[265]

In der mit Atorvastatin behandelten Gruppe blieben die SCRP-Werte in etwa konstant, während sie in der mit Placebo behandelten Gruppe anstiegen. Der Post-Baseline-Wert und die Änderung von der Baseline waren in der Atorvastatin- im Vergleich zur Placebo-Gruppe signifikant niedriger. Die Tendenz einer antiinflammatorischen Wirkung von Atorvastatin ist somit erkennbar. Diskutiert werden könnte dennoch, ob die Dosis zur effektiven Senkung von SCRP nicht ausreichend war. In der Atorvastatin-Gruppe fiel SCRP nicht signifikant um 4%. Da in der Placebo-Gruppe SCRP anstieg, war der Post-Baseline-Wert in der Atorvastatin-Gruppe schließlich um 27% niedriger als in der Placebo-Gruppe. Zur Ergänzung sei erwähnt, dass LDL-Cholesterin um 41% in der Atorvastatin-Gruppe fiel.^[17] Im Vergleich dazu senkte Rosuvastatin bei JUPITER (mittelalte, gesunde Männern und Frauen ohne Hyperlipidämie aber mit erhöhtem CRP) CRP um 37% und LDL um 50%.^[266] Im Rahmen der CARE Studie (Patienten nach koronarvaskulärem Ereignis) konnte Pravastatin die mittlere CRP-Konzentration und die durchschnittliche Änderung des CRP-Wertes signi-

fikant senken. Im Vergleich zwischen der mit Pravastatin und der mit Placebo behandelten Gruppe lag der Unterschied bei 22% (Mediane) bzw. 38% (Mittelwerte). Der Einfluss von Pravastatin auf CRP korrelierte nicht mit den Lipidänderungen.^[267] Im Rahmen der PRINCE Studie konnte Ähnliches an einer Population der Allgemeinbevölkerung gezeigt werden.^[268] Bei Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus (AURORA) senkte Rosuvastatin CRP signifikant (medianes hs-CRP nach drei Monaten im Vergleich zur Placebo-Gruppe 10,9%). LDL-Cholesterin im Verlauf war 39% niedriger in der Behandlungsgruppe.^[16] Ichihara et al. untersuchten (eine kleine Gruppe von) Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 ohne Hyperlipidämie, die Fluvastatin erhielten. Dort fiel CRP im Verlauf noch wesentlich deutlicher.^[269] Auch für Simvastatin konnte dies gezeigt werden.^[270] Ganz vergleichbar sind die Zahlen der Studien untereinander nicht, denn zum einen wurden teils Mediane, teils Mittelwerte beschrieben und zum anderen untersuchten die beiden zuletzt genannten Studien eine wesentlich kleinere Patientenpopulation von terminal niereninsuffizienten Patienten mit Diabetes mellitus. Dennoch ist bei allen verwandten Statinen der antiinflammatorische Effekt erkennbar. Der Anstieg von SCRP in der hier vorliegenden Studie kann mit einem Fortschreiten eines inflammatorischen Zustandes interpretiert werden. Der Patientenanteil mit pAVK beispielsweise betrug 45% und war mit 34% der häufigste Grund eines Krankenhausaufenthaltes im Verlauf.^[271] Auch wenn die Versuchung erhöhte CRP-Werte mit Infektion zu erklären groß ist, sollte der beträchtliche Anteil kardiovaskulärer Erkrankungen, welcher ebenso mit CRP-Erhöhung einhergeht, beachtet werden.

IV.8 Limitationen und Stärken dieser Arbeit

Bei der vorliegenden Arbeit handelt es sich um eine post-hoc Analyse einer selektierten Kohorte deutscher Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2. Die vorliegenden Ergebnisse sollten somit nicht auf andere Patientenpopulationen oder die Allgemeinbevölkerung übertragen werden. Die Auswahlkriterien waren die der 4D Studie - einer Studie, welche den Einfluss eines Statins auf kardio- und cerebrovaskuläre Krankheiten bei diesem Patientenkollektiv erforschte.

Eine Kausalität kann aus den gewonnenen Beobachtungen nicht abgeleitet werden.

Obwohl bei den Analysen eine Adjustierung für viele wichtige Variablen stattfand, ist eine Beeinflussung der Ergebnisse durch mögliche Confounder nicht ganz ausgeschlossen.

Da die Ätiologie von Schlaganfällen vielschichtig ist, würde eine Unterteilung in verschiedene Subgruppen von Schlaganfällen möglicherweise deutlichere Zusammenhänge erbringen. Eine weitere Untergliederung der einzelnen Schlaganfälle blieb hier aufgrund der relativ geringen absoluten Anzahl aus.

Stärken dieser Analysen sind die Größe des untersuchten Patientenkollektivs sowie die insgesamt hohe Inzidenz spezifischer Endpunkte. Der Datensatz dieser Studie wurde dem der 4D Studie - einer multizentrischen, randomisierten, prospektiven Doppel-Blindstudie - entnommen.

V Zusammenfassung

In dieser post-hoc Analyse der 4D Studie wurde evaluiert, in welchem Maße endotheliale Dysfunktion und Inflammation für die deutlich erhöhte kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität terminal niereninsuffizienter Patienten verantwortlich sind. Das untersuchte Patientenkollektiv bestand aus 1255 Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2, die multizentrisch, randomisiert und kontrolliert mit 20 mg Atorvastatin pro Tag oder Placebo behandelt wurden. Nutzen und Risiken dieser Therapie in Hinblick auf den primären Endpunkt bestehend aus kardialem Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall wurden über einen medianen follow-up Zeitraum von vier Jahren evaluiert. Bei diesem Kollektiv wurden die Biomarker ADMA, SDMA, H-Arginin und SCRP gemessen und mit Hilfe eines multivariaten Cox-Regressionsmodells hinsichtlich ihres prädiktiven Wertes in Bezug auf Schlaganfall und kardiovaskuläre Ereignisse untersucht. SCRP wurde zusätzlich in Relation zu dem traditionellen kardiovaskulären Biomarker LDL-Cholesterin analysiert und der Einfluss von Atorvastatin auf die untersuchten Marker erforscht.

Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse zusammengefasst.

Patienten der zweiten Quartile (ADMA $>0,77$ bis $\leq 0,86 \mu\text{mol L}^{-1}$) hatten ein um 66% höheres Risiko einen Myokardinfarkt (HR 1.66, 95% KI 1.12-2.46) und ein um 36% höheres Risiko den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt zu erreichen (HR 1.36, 95% KI 1.05-1.77) als Patienten der ersten Quartile (ADMA $\leq 0,77 \mu\text{mol L}^{-1}$).

SDMA war mit einer erhöhten Inzidenz von Schlaganfällen verbunden. Das Risiko einen Schlaganfall zu erleiden war für Patienten aus Quartile 3 (SDMA $>2,45$ bis $\leq 2,96$ $\mu\text{mol L}^{-1}$) um 125% (HR 2.25, 95% KI 1.24-4.11) und für Patienten aus Quartile 4 (SDMA $>2,96$ $\mu\text{mol L}^{-1}$) um 90% (HR 1.89, 95% KI 1.02-3.53) höher als für Patienten aus Quartile 1.

In Abhängigkeit des H-Arginin-Wertes sank das Risiko des plötzlichen Herztodes und der Gesamtmortalität: Patienten in Quartile 4 ($>1,4$ $\mu\text{mol L}^{-1}$) hatten ein um 51% niedrigeres Risiko an plötzlichem Herztod zu versterben als Patienten in Quartile 1 ($\leq 0,87$ $\mu\text{mol L}^{-1}$) (HR 0.49, 95% KI 0.29-0.85). Das Risiko der Gesamtmortalität war in Quartile 3 ($>1,1$ bis $\leq 1,4$ $\mu\text{mol L}^{-1}$) (HR 0.78, 95% KI 0.62-0.99) und 4 (HR 0.65, 95% KI 0.50-0.84) im Vergleich zu Quartile 1 am niedrigsten.

Sensitives CRP als Baseline-Parameter wurde als Prädiktor für den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt (HR 1.10, 95% KI 1.01-1.18) und die Gesamtmortalität (HR 1.25, 95% KI 1.17-1.33) identifiziert. Ebenso war der Mittelwert zweier Messungen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert: Das Risiko einen Schlaganfall (HR 1.20, 95% KI 1.01-1.42) oder den plötzlichen Herztod (HR 1.20, 95% KI 1.05-1.37) zu erleiden stieg um 20% pro Einheit Anstieg in logarithmisch-transformiertem CRP, das den kombinierten kardiovaskulären Endpunkt zu erreichen um 10% (HR 1.10, 95% KI 1.02-1.20) und die Gesamtmortalität um 30% (HR 1.30, 95% KI 1.21-1.39). Patienten, deren SCRP-Wert initial unterhalb des Medians von 5 mg L^{-1} lag und im Verlauf um mehr als 100% anstieg, hatten ein um mehr als 4fach erhöhtes Risiko einen Schlaganfall zu erleiden (HR 4.07, 95% KI 1.20-13.78) und ein um mehr als 60% erhöhtes Risiko zu versterben (HR 1.63, 95% KI 1.08-2.45) als Patienten, deren SCRP im Verlauf um 47,3% fiel.

LDL in Kombination mit SCRP zeigte sich hier nicht prädiktiv für kardiovaskuläre Ereignisse.

Die Atorvastatin-Behandlung beeinflusste außer dem LDL-Cholesterin keinen der untersuchten Parameter. In der Subgruppe der Patienten mit den höchsten CRP-Werten fand sich eine erhöhte Schlaganfallinzidenz unter denen, die mit Atorvastatin behandelt wurden.

Insgesamt stellen hohes SDMA und SCRP als Verlaufsparemeter im Gegensatz zu ADMA und H-Arginin unabhängige Prädiktoren für das Auftreten von Schlaganfällen bei Hämodialyse-Patienten mit Diabetes mellitus Typ 2 dar.

VI Ausblick

Vermutlich aufgrund der Vielschichtigkeit der Ätiologie verschiedener Schlaganfallarten tragen endotheliale Dysfunktion und Inflammation in unterschiedlichem Maße zur Genese der Erkrankung bei. Die prospektive Evaluation entsprechender Parameter an einem größeren derartigen Patientenkollektiv mit einer folglich größeren Anzahl an Ereignissen und einzelnen Schlaganfallssubtypen stellt eine künftige Herausforderung dar. Biomarker für Atherosklerose und Thrombembolie, aber auch weitere Risikofaktoren für mögliche Ischämien sind dabei die vielversprechendsten Parameter.

VII Literaturverzeichnis

- [1] Foley RN. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic kidney disease. *J Ren Care* **2010**; 36 Suppl 1(4-8).
- [2] Power A, Chan K, Singh SK, Taube D, Duncan N. Appraising stroke risk in maintenance hemodialysis patients: a large single-center cohort study. *Am J Kidney Dis* **2012**; 59(2), 249-57.
- [3] U.S. Renal Data System. USRDS 2013 Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases, Bethesda, MD. **2013**.
- [4] Ross R. Atherosclerosis-an inflammatory disease. *N Engl J Med* **1999**; 340(2), 115-26.
- [5] Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* **1998**; 9(12 Suppl), S16-23.
- [6] Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* **1999**; 10(7), 1606-15.
- [7] Muntner P, He J, Hamm L, Loria C, Whelton PK. Renal insufficiency and subsequent death resulting from cardiovascular disease in the United States. *J Am Soc Nephrol* **2002**; 13(3), 745-53.
- [8] Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JF. Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* **2007**; 116(1), 85-97.
- [9] Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu CY. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* **2004**; 351(13), 1296-305.
- [10] Kannel WB, McGee DL. Diabetes and cardiovascular disease. The Framingham study. *Jama* **1979**; 241(19), 2035-8.
- [11] Levey AS, Beto JA, Coronado BE, Eknoyan G, Foley RN, Kasiske BL, Klag MJ, Mailloux LU, Manske CL, Meyer KB, Parfrey PS, Pfeffer MA, Wenger NK, Wilson PW, Wright JT. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. *Am J Kidney Dis* **1998**; 32(5), 853-906.
- [12] Collins AJ, Li S, Ma JZ, Herzog C. Cardiovascular disease in end-stage renal disease patients. *Am J Kidney Dis* **2001**; 38(4 Suppl 1), S26-9.
- [13] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med* **1999**; 130(6), 461-70.
- [14] London GM. Mechanisms of arterial calcifications and consequences for cardiovascular function. *Kidney Int Suppl (2011)* **2013**; 3(5), 442-45.
- [15] McClellan WM, Chertow GM. Beyond Framingham: cardiovascular risk profiling in ESRD. *J Am Soc Nephrol* **2005**; 16(6), 1539-41.

- [16] Holdaas H, Holme I, Schmieder RE, Jardine AG, Zannad F, Norby GE, Fellstrom BC. Rosuvastatin in diabetic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* **2011**; 22(7), 1335-41.
- [17] Wanner C, Krane V, März W, Olschewski M, Mann JF, Ruf G, Ritz E, Ritz E. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* **2005**; 353(3), 238-48.
- [18] Baigent C, Keech A, Kearney PM, Blackwell L, Buck G, Pollicino C, Kirby A, Sourjina T, Peto R, Collins R, Simes R. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* **2005**; 366(9493), 1267-78.
- [19] McCullough PA, Kellum JA, Haase M, Muller C, Damman K, Murray PT, Cruz D, House AA, Schmidt-Ott KM, Vescovo G, Bagshaw SM, Hoste EA, Briguori C, Braam B, Chawla LS, Costanzo MR, Tumlin JA, Herzog CA, Mehta RL, Rabb H, Shaw AD, Singbartl K, Ronco C. Pathophysiology of the cardiorenal syndromes: executive summary from the eleventh consensus conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI). *Contrib Nephrol* **2013**; 182(82-98).
- [20] Kielstein JT, Zoccali C. Asymmetric dimethylarginine: a cardiovascular risk factor and a uremic toxin coming of age? *Am J Kidney Dis* **2005**; 46(2), 186-202.
- [21] Prohovnik I, Post J, Uribarri J, Lee H, Sandu O, Langhoff E. Cerebrovascular effects of hemodialysis in chronic kidney disease. *Journal of Cerebral Blood Flow & Metabolism* **2007**; 27(11), 1861-9.
- [22] van der Sande FM, Kooman JP, Leunissen KM. The predictive value of C-reactive protein in end-stage renal disease: is it clinically significant? *Blood Purif* **2006**; 24(4), 335-41.
- [23] Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Inflammation and atherosclerosis in end-stage renal disease. *Blood Purif* **2003**; 21(1), 29-36.
- [24] Hrabak A., Bajor T, Temesi A. Comparison of substrate and inhibitor specificity of arginase and nitric oxide (NO) synthase for arginine analogues and related compounds in murine and rat macrophages. *Biochem Biophys Res Commun* **1994**; 198(1), 206-12.
- [25] Bauersachs J, Widder JD. Endothelial dysfunction in heart failure. *Pharmacol Rep* **2008**; 60(1), 119-26.
- [26] Vallance P, Collier J, Bhagat K. Infection, inflammation, and infarction: does acute endothelial dysfunction provide a link? *Lancet* **1997**; 349(9062), 1391-2.
- [27] Sozio SM, Armstrong PA, Coresh J, Jaar BG, Fink NE, Plantinga LC, Powe NR, Parekh RS. Cerebrovascular disease incidence, characteristics, and outcomes in patients initiating dialysis: the choices for healthy outcomes in caring for ESRD (CHOICE) study. *Am J Kidney Dis* **2009**; 54(3), 468-77.
- [28] Lindgren A. Stroke genetics: a review and update. *J Stroke* **2014**; 16(3), 114-23.
- [29] O'Donnell MJ, Xavier D, Liu L, Zhang H, Chin SL, Rao-Melacini P, Rangarajan S, Islam S, Pais P, McQueen MJ, Mondo C, Damasceno A, Lopez-Jaramillo P, Hankey GJ, Dans AL, Yusuf K, Truelsen T, Diener HC, Sacco RL, Ryglewicz D, Czlonkowska A, Weimar C, Wang X, Yusuf S. Risk factors for ischaemic and intracerebral haemorrhagic stroke in 22 countries (the INTERSTROKE study): a case-control study. *Lancet* **2010**; 376(9735), 112-23.

- [30] Boiten J, Lodder J, Kessels F. Two clinically distinct lacunar infarct entities? A hypothesis. *Stroke* **1993**; 24(5), 652-6.
- [31] Hassan A, Hunt BJ, O. Sullivan M, Parmar K, Bamford JM, Briley D, Brown MM, Thomas DJ, Markus HS. Markers of endothelial dysfunction in lacunar infarction and ischaemic leukoaraiosis. *Brain* **2003**; 126(Pt2), 424-32.
- [32] Fassbender K, Bertsch T, Mielke O, Mhlhauser F, Hennerici M. Adhesion molecules in cerebrovascular diseases. Evidence for an inflammatory endothelial activation in cerebral large- and small-vessel disease. *Stroke* **1999**; 30(8), 1647-50.
- [33] Nakatani T, Naganuma T, Uchida J, Masuda C, Wada S, Sugimura T, Sugimura K. Silent cerebral infarction in hemodialysis patients. *Am J Nephrol* **2003**; 23(2), 86-90.
- [34] Fukunishi I, Kitaoka T, Shirai T, Kino K, Kanematsu E, Sato Y. Psychiatric disorders among patients undergoing hemodialysis therapy. *Nephron* **2002**; 91(2), 344-7.
- [35] Koren-Morag N, Goldbourt U, Tanne D. Renal dysfunction and risk of ischemic stroke or TIA in patients with cardiovascular disease. *Neurology* **2006**; 67(2), 224-8.
- [36] S. L. Seliger, D. L. Gillen, W. T. Longstreth, Jr., B. Kestenbaum, C. O. Stehman-Breen. Elevated risk of stroke among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int* **2003**; 64(2), 603-9.
- [37] Power A. Stroke in dialysis and chronic kidney disease. *Blood Purif* **2013**; 36(3-4), 179-83.
- [38] Murray AM, Seliger S, Lakshminarayan K, Herzog CA, Solid CA. Incidence of stroke before and after dialysis initiation in older patients. *J Am Soc Nephrol* **2013**; 24(7), 1166-73.
- [39] Gottlieb D, Mildworf B, Rubinger D, Melamed E. The regional cerebral blood flow in patients under chronic hemodialytic treatment. *J Cereb Blood Flow Metab* **1987**; 7(5), 659-61.
- [40] Toyoda K, Fujii K, Fujimi S, Kumai Y, Tsuchimochi H, Ibayashi S, Iida M. Stroke in patients on maintenance hemodialysis: a 22-year single-center study. *Am J Kidney Dis* **2005**; 45(6), 1058-66.
- [41] Wetmore JB, Ellerbeck EF, Mahnken JD, Phadnis M, Rigler SK, Mukhopadhyay P, Spertus JA, Zhou X, Hou Q, Shireman TI. Atrial fibrillation and risk of stroke in dialysis patients. *Ann Epidemiol* **2013**; 23(3), 112-8.
- [42] Tripepi G, Mattace-Raso F, Rapisarda F, Stancanelli B, Malatino L, Wittteman J, Zoccali C, Mallamaci F. Traditional and nontraditional risk factors as predictors of cerebrovascular events in patients with end stage renal disease. *J Hypertens* **2010**; 28(12), 2468-74.
- [43] Zoccali C, Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Fermo I, Foca A, Paroni R, Malatino LS. Inflammation is associated with carotid atherosclerosis in dialysis patients. Creed Investigators. Cardiovascular Risk Extended Evaluation in Dialysis Patients. *J Hypertens* **2000**; 18(9), 1207-13.
- [44] Papagianni A, Kalovoulos M, Kirmizis D, Vainas A, Belechri AM, Alexopoulos E, Memmos D. Carotid atherosclerosis is associated with inflammation and endothelial cell adhesion molecules in chronic haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* **2003**; 18(1), 113-9.

- [45] Anan F, Shimomura T, Kaku T, Kaneda K, Imagawa M, Tsukagawa H, Masaki T, Nawata T, Yonemochi H, Eshima N, Saikawa T, Yoshimatsu H. High-sensitivity C-reactive protein level is a significant risk factor for silent cerebral infarction in patients on hemodialysis. *Metabolism* **2008**; 57(1), 66-70.
- [46] Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S. Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure. *Lancet* **1992**; 339(8793), 572-5
- [47] Cooke JP. Asymmetrical dimethylarginine: the Uber marker? *Circulation* **2004**; 109(15), 1813-8.
- [48] Bode-Boger SM, Scalera F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M, Reinecke H. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol* **2006**; 17(4), 1128-34.
- [49] Fleck C, Schweitzer F, Karge E, Busch M, Stein G. Serum concentrations of asymmetric (ADMA) and symmetric (SDMA) dimethylarginine in patients with chronic kidney diseases. *Clinica Chimica Acta* **2003**; 336(1-2), 1-12.
- [50] Marz W, Meinitzer A, Drechsler C, Pilz S, Krane V, Kleber ME, Fischer J, Winkelmann BR, Bohm BO, Ritz E, Wanner C. Homoarginine, cardiovascular risk, and mortality. *Circulation* **2010**; 122(10), 967-75.
- [51] Valtonen P, Laitinen T, Lyyra-Laitinen T, Raitakari OT, Juonala M, Viikari JS, Heiskanen N, Vanninen E, Punnonen K, Heinonen S. Serum L-homoarginine concentration is elevated during normal pregnancy and is related to flow-mediated vasodilatation. *Circ J* **2008**; 72(11), 1879-84.
- [52] Tran CT, Leiper JM, Vallance P. The DDAH/ADMA/NOS pathway. *Atheroscler Suppl* **2003**; 4(4), 33-40.
- [53] Richard S, Morel M, Cleroux P. Arginine methylation regulates IL-2 gene expression: a role for protein arginine methyltransferase 5 (PRMT5). *Biochem J* **2005**; 388(Pt 1), 379-86.
- [54] Lee JH, Cook JR, Yang ZH, Mirochnitchenko O, Gunderson SI, Felix AM, Herth N, Hoffmann R, Pestka S. PRMT7, a new protein arginine methyltransferase that synthesizes symmetric dimethylarginine. *J Biol Chem* **2005**; 280(5), 3656-64.
- [55] Najbauer J, Johnson BA, Young AL, Aswad DW. Peptides with sequences similar to glycine, arginine-rich motifs in proteins interacting with RNA are efficiently recognized by methyltransferase(s) modifying arginine in numerous proteins. *J Biol Chem* **1993**; 268(14), 10501-9.
- [56] Ryan WL, Wells IC. HOMOCITRULLINE AND HOMOARGININE SYNTHESIS FROM LYSINE. *Science* **1964**; 144(3622), 1122-7.
- [57] Ryan WL, Johnson RJ, Dimari S. Homoarginine synthesis by rat kidney. *Arch Biochem Biophys* **1969**; 131(2), 521-6.
- [58] Cullen ME, Yuen AH, Felkin LE, Smolenski RT, Hall JL, Grindle S, Miller LW, Birks EJ, Yacoub MH, Barton PJ. Myocardial expression of the arginine:glycine amidinotransferase gene is elevated in heart failure and normalized after recovery: potential implications for local creatine synthesis. *Circulation* **2006**; 114(1 Suppl), I16-20.

- [59] Ogawa T, Kimoto M, Sasaoka K. Purification and properties of a new enzyme, NG,NG-dimethylarginine dimethylaminohydrolase, from rat kidney. *J Biol Chem* **1989**; 264(17), 10205-9.
- [60] Nijveldt RJ, Van Leeuwen PA, Van Guldener C, Stehouwer CD, Rauwerda JA, Teerlink T. Net renal extraction of asymmetrical (ADMA) and symmetrical (SDMA) dimethylarginine in fasting humans. *Nephrol Dial Transplant* **2002**; 17(11), 1999-2002.
- [61] Leiper JM, Santa Maria J, Chubb A, MacAllister RJ, Charles IG, Whitley GS, Vallance P. Identification of two human dimethylarginine dimethylaminohydrolases with distinct tissue distributions and homology with microbial arginine deiminases. *Biochem J* **1999**; 343 Pt 1(209-14).
- [62] Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM, Frlich JC, Haller H, Ritz E, Fliser D. Marked increase of asymmetric dimethylarginine in patients with incipient primary chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* **2002**; 13(1), 170-6.
- [63] Moncada S, Higgs A. The L-arginine-nitric oxide pathway. *N Engl J Med* **1993**; 329(27), 2002-12.
- [64] Frstermann U, Closs EI, Pollock JS, Nakane M, Schwarz P, Gath I, Kleinert H. Nitric oxide synthase isozymes. Characterization, purification, molecular cloning, and functions. *Hypertension* **1994**; 23(6 Pt 2), 1121-31.
- [65] Closs EI, Basha FZ, Habermeier A, Frstermann U. Interference of L-arginine analogues with L-arginine transport mediated by the y⁺ carrier hCAT-2B. *Nitric Oxide* **1997**; 1(1), 65-73.
- [66] Böger RH. Asymmetrical methylarginine (ADMA) as a cardiovascular risk factor: epidemiological and prospective data]. *Dtsch Med Wochenschr* **2004**; 129(15), 820-4.
- [67] Tojo A, Welch WJ, Bremer V, Kimoto M, Kimura K, Omata M, Ogawa T, Vallance P, Wilcox CS. Colocalization of demethylating enzymes and NOS and functional effects of methylarginines in rat kidney. *Kidney Int* **1997**; 52(6), 1593-601.
- [68] Choe CU, Atzler D, Wild PS, Carter AM, Boger RH, Ojeda F, Simova O, Stockebrand M, Lackner K, Nabuurs C, Marescau B, Streichert T, Muller C, Luneburg N, De Deyn PP, Benndorf RA, Baldus S, Gerloff C, Blankenberg S, Heerschap A, Grant PJ, Magnus T, Zeller T, Isbrandt D, Schwedhelm E. Homoarginine levels are regulated by L-arginine:glycine amidinotransferase and affect stroke outcome: results from human and murine studies. *Circulation* **2013**; 128(13), 1451-61.
- [69] Bretscher LE, Li H, Poulos TL, Griffith OW. Structural characterization and kinetics of nitric-oxide synthase inhibition by novel N5-(iminoalkyl)- and N5-(iminoalkenyl)-ornithines. *J Biol Chem* **2003**; 278(47), 46789-97.
- [70] Moali C, Boucher JL, Sari MA, Stuehr DJ, Mansuy D. Substrate specificity of NO synthases: detailed comparison of L-arginine, homo-L-arginine, their N omega-hydroxy derivatives, and N omega-hydroxynor-L-arginine. *Biochemistry* **1998**; 37(29), 10453-60.
- [71] Knowles RG, Palacios M, Palmer RM, Moncada S. Formation of nitric oxide from L-arginine in the central nervous system: a transduction mechanism for stimulation of the soluble guanylate cyclase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **1989**; 86(13), 5159-62.

- [72] Kakoki M, Kim HS, Arendshorst WJ, Mattson DL. L-Arginine uptake affects nitric oxide production and blood flow in the renal medulla. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **2004**; 287(6), R1478-85.
- [73] Bhardwaj R, Moore PK. The effect of arginine and nitric oxide on resistance blood vessels of the perfused rat kidney. *Br J Pharmacol* **1989**; 97(3), 739-44.
- [74] MacAllister RJ, Fickling SA, Whitley GS, Vallance P. Metabolism of methylarginines by human vasculature; implications for the regulation of nitric oxide synthesis. *Br J Pharmacol* **1994**; 112(1), 43-8.
- [75] Lin KY, Ito A, Asagami T, Tsao PS, Adimoolam S, Kimoto M, Tsuji H, Reaven GM, Cooke JP. Impaired nitric oxide synthase pathway in diabetes mellitus: role of asymmetric dimethylarginine and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Circulation* **2002**; 106(8), 987-92.
- [76] Scalera F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Postel SC, Tger M, Bode-Bger SM. Erythropoietin increases asymmetric dimethylarginine in endothelial cells: role of dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *J Am Soc Nephrol* **2005**; 16(4), 892-8.
- [77] Stühlinger MC, Tsao PS, Her JH, Kimoto M, Balint RF, Cooke JP. Homocysteine impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* **2001**; 104(21), 2569-75.
- [78] Stühlinger MC, Abbasi F, Chu JW, Lamendola C, McLaughlin TL, Cooke JP, Reaven GM, Tsao PS. Relationship between insulin resistance and an endogenous nitric oxide synthase inhibitor. *JAMA* **2002**; 287(11), 1420-6.
- [79] Stühlinger MC, Oka RK, Graf EE, Schmlzer I, Upson BM, Kapoor O, Szuba A, Malinow MR, Wascher TC, Pachinger O, Cooke JP. Endothelial dysfunction induced by hyperhomocyst(e)inemia: role of asymmetric dimethylarginine. *Circulation* **2003**; 108(8), 933-8.
- [80] Weis M, Kledal TN, Lin KY, Panchal SN, Gao SZ, Valantine HA, Mocarski ES, Cooke JP. Cytomegalovirus infection impairs the nitric oxide synthase pathway: role of asymmetric dimethylarginine in transplant arteriosclerosis. *Circulation* **2004**; 109(4), 500-5.
- [81] Böger RH. Asymmetric dimethylarginine (ADMA): a novel risk marker in cardiovascular medicine and beyond. *Ann Med* **2006**; 38(2), 126-36.
- [82] Gardiner SM, Kemp PA, Bennett T, Palmer RM, Moncada S. Regional and cardiac haemodynamic effects of NG, NG,dimethyl-L-arginine and their reversibility by vasodilators in conscious rats. *Br J Pharmacol* **1993**; 110(4), 1457-64.
- [83] Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Bger SM, Tsikas D, Frlich JC, Hoepfer MM, Haller H, Fliser D. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation* **2004**; 109(2), 172-7.
- [84] Achan V, Broadhead M, Malaki M, Whitley G, Leiper J, MacAllister R, Vallance P. Asymmetric dimethylarginine causes hypertension and cardiac dysfunction in humans and is actively metabolized by dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2003**; 23(8), 1455-9.
- [85] Schnabel R, Blankenberg S, Lubos E, Lackner KJ, Rupprecht HJ, Espinola-Klein C, Jachmann N, Post F, Peetz D, Bickel C, Cambien F, Tiret L, Münzel T. Asymmetric dimethylarginine and the risk of cardiovascular events and death in patients with

- coronary artery disease: results from the AtheroGene Study. *Circ Res* **2005**; 97(5), e53-9.
- [86] Valkonen VP, Paiva H, Salonen JT, Lakka TA, Lehtimäki T, Laakso J, Laaksonen R. Risk of acute coronary events and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Lancet* **2001**; 358(9299), 2127-8.
- [87] Lu TM, Ding YA, Lin SJ, Lee WS, Tai HC. Plasma levels of asymmetrical dimethylarginine and adverse cardiovascular events after percutaneous coronary intervention. *Eur Heart J* **2003**; 24(21), 1912-9.
- [88] Nijveldt RJ, Teerlink T, Van Der Hoven B, Siroen MP, Kuik DJ, Rauwerda JA, van Leeuwen PA. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) in critically ill patients: high plasma ADMA concentration is an independent risk factor of ICU mortality. *Clin Nutr* **2003**; 22(1), 23-30.
- [89] Leong T, Zylberstein D, Graham I, Lissner L, Ward D, Fogarty J, Bengtsson C, Björkelund C, Thelle D. Asymmetric dimethylarginine independently predicts fatal and nonfatal myocardial infarction and stroke in women: 24-year follow-up of the population study of women in Gothenburg. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2008**; 28(5), 961-7.
- [90] Fliser D, Kronenberg F, Kielstein JT, Morath C, Bode-Boger SM, Haller H, Ritz E. Asymmetric dimethylarginine and progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol* **2005**; 16(8), 2456-61.
- [91] Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S, Mallamaci F, Zoccali C. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J Am Soc Nephrol* **2005**; 16(8), 2449-55.
- [92] Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, Cataliotti A, Bellanuova I, Fermo I, Frlich J, Böger R. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* **2001**; 358(9299), 2113-7.
- [93] Lu TM, Chung MY, Lin CC, Hsu CP, Lin S J. Asymmetric dimethylarginine and clinical outcomes in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* **2011**; 6(7), 1566-72.
- [94] Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM, Schaffer J, Barbey M, Koch KM, Frolich JC. Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* **1999**; 10(3), 594-600.
- [95] Zoccali C, Mallamaci F, Maas R, Benedetto FA, Tripepi G, Malatino LS, Cataliotti A, Bellanuova I, Böger R, Böger R. Left ventricular hypertrophy, cardiac remodeling and asymmetric dimethylarginine (ADMA) in hemodialysis patients. *Kidney Int* **2002**; 62(1), 339-45.
- [96] Kielstein JT, Donnerstag F, Gasper S, Menne J, Kielstein A, Martens-Lobenhoffer J, Scalera F, Cooke JP, Fliser D, Bode-Bger SM. ADMA increases arterial stiffness and decreases cerebral blood flow in humans. *Stroke* **2006**; 37(8), 2024-9.
- [97] Khan U, Hassan A, Vallance P, Markus HS. Asymmetric dimethylarginine in cerebral small vessel disease. *Stroke* **2007**; 38(2), 411-3.

- [98] Miyazaki H, Matsuoka H, Cooke JP, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T. Endogenous nitric oxide synthase inhibitor: a novel marker of atherosclerosis. *Circulation* **1999**; 99(9), 1141-46.
- [99] Brouns R, Marescau B, Possemiers I, Sheorajpanday R, De Deyn PP. Dimethylarginine Levels in Cerebrospinal Fluid of Hyperacute Ischemic Stroke Patients are Associated with Stroke Severity. *Neurochem Res* **2009**.
- [100] Wanby P, Teerlink T, Brudin L, Brattström L, Nilsson I, Palmqvist P, Carlsson M. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a risk marker for stroke and TIA in a Swedish population. *Atherosclerosis* **2006**; 185(2), 271-7.
- [101] Chen S, Li N, Deb-Chatterji M, Dong Q, Kielstein JT, Weissenborn K, Worthmann H. Asymmetric dimethylarginine as marker and mediator in ischemic stroke. *Int J Mol Sci* **2012**; 13(12), 15983-6004.
- [102] Zoccali C, Benedetto FA, Maas R, Mallamaci F, Tripepi G, Malatino LS, Böger R, Böger R. Asymmetric dimethylarginine, C-reactive protein, and carotid intima-media thickness in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* **2002**; 13(2), 490-6.
- [103] Benedetto FA, Mallamaci F, Tripepi G, Zoccali C. Prognostic value of ultrasonographic measurement of carotid intima media thickness in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* **2001**; 12(11), 2458-64.
- [104] Nanayakkara PW, Teerlink T, Stehouwer CD, Allajar D, Spijkerman A, Schalkwijk C, ter Wee PM, van Guldener C. Plasma asymmetric dimethylarginine (ADMA) concentration is independently associated with carotid intima-media thickness and plasma soluble vascular cell adhesion molecule-1 (sVCAM-1) concentration in patients with mild-to-moderate renal failure. *Kidney Int* **2005**; 68(5), 2230-6.
- [105] Worthmann H, Chen S, Martens-Lobenhoffer J, Li N, Deb M, Tryc AB, Goldbecker A, Dong Q, Kielstein JT, Bode-Boger SM, Weissenborn K. High plasma dimethylarginine levels are associated with adverse clinical outcome after stroke. *J Atheroscler Thromb* **2011**; 18(9), 753-61.
- [106] Schulze F, Carter AM, Schwedhelm E, Ajjan R, Maas R, von Holten RA, Atzler D, Grant PJ, Boger RH. Symmetric dimethylarginine predicts all-cause mortality following ischemic stroke. *Atherosclerosis* **2010**; 208(2), 518-23.
- [107] Meinitzer A, Kielstein JT, Pilz S, Drechsler C, Ritz E, Boehm BO, Winkelmann BR, Marz W. Symmetrical and asymmetrical dimethylarginine as predictors for mortality in patients referred for coronary angiography: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health study. *Clin Chem* **2011**; 57(1), 112-21.
- [108] Kiechl S, Lee T, Santer P, Thompson G, Tsimikas S, Egger G, Holt DW, Willeit J, Xu Q, Mayr M. Asymmetric and symmetric dimethylarginines are of similar predictive value for cardiovascular risk in the general population. *Atherosclerosis* **2009**; 205(1), 261-5.
- [109] Cavalca V, Veglia F, Squellerio I, De Metrio M, Rubino M, Porro B, Moltrasio M, Tremoli E, Marenzi G. Circulating Levels of Dimethylarginines, Chronic Kidney Disease and Long-Term Clinical Outcome in Non-ST-Elevation Myocardial Infarction. *PLoS ONE* **2012**; 7(11), e48499.
- [110] Schwedhelm E, Xanthakis V, Maas R, Sullivan LM, Atzler D, Luneburg N, Glazer NL, Riederer U, Vasan RS, Boger RH. Plasma symmetric dimethylarginine reference limits from the Framingham offspring cohort. *Clin Chem Lab Med* **2011**; 49(11), 1907-10.

- [111] Pilz S, Meinitzer A, Tomaschitz A, Drechsler C, Ritz E, Krane V, Wanner C, Boehm BO, Marz W. Low homoarginine concentration is a novel risk factor for heart disease. *Heart* **2011**; 97(15), 1222-7.
- [112] Pilz S, Edelmann F, Meinitzer A, Gelbrich G, Doner U, Dungen HD, Tomaschitz A, Kienreich K, Gaksch M, Duvinage A, Stahrenberg R, Kunde J, Schmidt A, Marz W, Wachter R, Pieske B. Associations of methylarginines and homoarginine with diastolic dysfunction and cardiovascular risk factors in patients with preserved left ventricular ejection fraction. *J Card Fail* **2014**.
- [113] Drechsler C, Meinitzer A, Pilz S, Krane V, Tomaschitz A, Ritz E, Marz W, Wanner C. Homoarginine, heart failure, and sudden cardiac death in haemodialysis patients. *Eur J Heart Fail* **2011**; 13(8), 852-9.
- [114] Drechsler C, Kollerits B, Meinitzer A, Marz W, Ritz E, Konig P, Neyer U, Pilz S, Wanner C, Kronenberg F. Homoarginine and progression of chronic kidney disease: results from the Mild to Moderate Kidney Disease Study. *PLoS One* **2013**; 8(5), e63560.
- [115] Tomaschitz A, Meinitzer A, Pilz S, Rus-Machan J, Genser B, Drechsler C, Grammer T, Krane V, Ritz E, Kleber ME, Pieske B, Kraigher-Krainer E, Fahrleitner-Pammer A, Wanner C, Boehm BO, Marz W. Homoarginine, kidney function and cardiovascular mortality risk. *Nephrol Dial Transplant* **2014**; 29(3), 663-71.
- [116] Abbasi F, Asagmi T, Cooke JP, Lamendola C, McLaughlin T, Reaven GM, Stuehlinger M, Tsao PS. Plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Cardiol* **2001**; 88(10), 1201-3.
- [117] Jawalekar SL, Karnik A, Bhutay A. Risk of cardiovascular diseases in diabetes mellitus and serum concentration of asymmetrical dimethylarginine. *Biochem Res Int* **2013**; 2013(189430).
- [118] Tanhauserova V, Tomandl J, Pacal L, Kleparnik M, Maluskova D, Bartakova V, Kuricova K, Rehorova J, Stepankova S, Svojanovsky J, Olsovsky J, Belobradkova J, Krusova D, Jurajda M, Muzik J, Pavlik T, Kankova K. ADMA, SDMA and L-arginine/ADMA ratio but not DDAH genetic polymorphisms are reliable predictors of diabetic nephropathy progression as identified by competing risk analysis. *Kidney Blood Press Res* **2012**; 36(1), 200-8.
- [119] Arcaro G, Cretti A, Balzano S, Lechi A, Muggeo M, Bonora E, Bonadonna RC. Insulin causes endothelial dysfunction in humans: sites and mechanisms. *Circulation* **2002**; 105(5), 576-82.
- [120] Cersosimo E, DeFronzo RA. Insulin resistance and endothelial dysfunction: the road map to cardiovascular diseases. *Diabetes Metab Res Rev* **2006**; 22(6), 423-36.
- [121] Safiah Mokhtar S, M Vanhoutte P, WS Leung S, M Imran Yusof, Wan Sulaiman WA, Zaharil Mat Saad A, Suppian R, Ghulam Rasool AH. Reduced expression of prostacyclin synthase and nitric oxide synthase in subcutaneous arteries of type 2 diabetic patients. *Tohoku J Exp Med* **2013**; 231(3), 217-22.
- [122] Meinitzer A, Puchinger M, Winklhofer-Roob BM, Rock E, Ribalta J, Roob JM, Sundl I, Halwachs-Baumann G, März W. Reference values for plasma concentrations of asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and other arginine

- metabolites in men after validation of a chromatographic method. *Clin Chim Acta* **2007**; 384(1-2), 141-8.
- [123] Atzler D, Schwedhelm E, Nauck M, Ittermann T, Boger RH, Friedrich N. Serum reference intervals of homoarginine, ADMA, and SDMA in the Study of Health in Pomerania. *Clin Chem Lab Med* **2014**.
- [124] Das T, Sen AK, Kempf T, Pramanik SR, Mandal C, Mandal C. Induction of glycosylation in human C-reactive protein under different pathological conditions. *Biochem J* **2003**; 373(Pt 2), 345-55.
- [125] Lau DCW, Dhillon B, Yan H, Szmítko PE, Verma S. Adipokines: molecular links between obesity and atherosclerosis. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* **2005**; 288(2031-41).
- [126] Pepys MB. C-reactive protein fifty years on. *Lancet* **1981**; 1(8221), 653-7.
- [127] Yudkin JS, Stehouwer CD, Emeis JJ, Coppack SW. C-reactive protein in healthy subjects: associations with obesity, insulin resistance, and endothelial dysfunction: a potential role for cytokines originating from adipose tissue? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **1999**; 19(4), 972-8.
- [128] Yuan G, Zhou L, Tang J, Yang Y, Gu W, Li F, Hong J, Gu Y, Li X, Ning G, Chen M. Serum CRP levels are equally elevated in newly diagnosed type 2 diabetes and impaired glucose tolerance and related to adiponectin levels and insulin sensitivity. *Diabetes Res Clin Pract* **2006**; 72(3), 244-50.
- [129] Di Napoli M, Schwaninger M, Cappelli R, Ceccarelli E, Di Gianfilippo G, Donati C, Emsley HC, Forconi S, Hopkins SJ, Masotti L, Muir KW, Paciucci A, Papa F, Roncacci S, Sander D, Sander K, Smith CJ, Stefanini A, Weber D. Evaluation of C-reactive protein measurement for assessing the risk and prognosis in ischemic stroke: a statement for health care professionals from the CRP Pooling Project members. *Stroke* **2005**; 36(6), 1316-29.
- [130] P. M. Ridker, J. E. Buring, N. R. Cook, N. Rifai. C-reactive protein, the metabolic syndrome, and risk of incident cardiovascular events: an 8-year follow-up of 14 719 initially healthy American women. *Circulation* **2003**; 107(3), 391-7.
- [131] Docci D, Bilancioni R, Buscaroli A, Baldrati L, Capponcini C, Mengozzi S, Turci F, Feletti C. Elevated serum levels of C-reactive protein in hemodialysis patients. *Nephron* **1990**; 56(4), 364-7.
- [132] Haubitz M, Brunkhorst R, Wrenger E, Froese P, Schulze M, Koch KM. Chronic induction of C-reactive protein by hemodialysis, but not by peritoneal dialysis therapy. *Perit Dial Int* **1996**; 16(2), 158-62.
- [133] Ramadori G, Christ B. Cytokines and the hepatic acute-phase response. *Semin Liver Dis* **1999**; 19(2), 141-55.
- [134] Koenig W. High-sensitivity C-reactive protein and atherosclerotic disease: from improved risk prediction to risk-guided therapy. *Int J Cardiol* **2013**; 168(6), 5126-34.
- [135] Verma S, Yeh ET. C-reactive protein and atherothrombosis-Beyond a biomarker: an actual partaker of lesion formation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **2003**; 285(5), R1253-6; discussion R57-8.
- [136] Gershov D, Kim S, Brot N, Elkon KB. C-Reactive protein binds to apoptotic cells, protects the cells from assembly of the terminal complement components, and

- sustains an antiinflammatory innate immune response: implications for systemic autoimmunity. *J Exp Med* **2000**; 192(9), 1353-64.
- [137] Chang MK, Binder CJ, Torzewski M, Witztum JL. C-reactive protein binds to both oxidized LDL and apoptotic cells through recognition of a common ligand: Phosphorylcholine of oxidized phospholipids. *PNAS* **2002**; 99(20), 13043-8.
- [138] Volanakis JE. Human C-reactive protein: expression, structure, and function. *Mol Immunol* **2001**; 38(2-3), 189-97.
- [139] Berger A, Pepys MB. The renaissance of C reactive protein. *BMJ* **2001**; 322(7277), 4-5.
- [140] Packard RR, Libby P. Inflammation in atherosclerosis: from vascular biology to biomarker discovery and risk prediction. *Clin Chem* **2008**; 54(1), 24-38.
- [141] Verma S, Wang CH, Li SH, Dumont AS, Fedak PW, Badiwala MV, Dhillon B, Weisel RD, Li RK, Mickle DA, Stewart DJ. A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation* **2002**; 106(8), 913-9.
- [142] Venugopal SK, Devaraj S, Yuhanna I, Shaul P, Jialal I. Demonstration that C-reactive protein decreases eNOS expression and bioactivity in human aortic endothelial cells. *Circulation* **2002**; 106(12), 1439-41.
- [143] J. Cermak, N. S. Key, R. R. Bach, J. Balla, H. S. Jacob, G. M. Vercellotti. C-reactive protein induces human peripheral blood monocytes to synthesize tissue factor. *Blood* **1993**; 82(2), 513-20.
- [144] Li L, Roumeliotis N, Sawamura T, Renier G. C-reactive protein enhances LOX-1 expression in human aortic endothelial cells: relevance of LOX-1 to C-reactive protein-induced endothelial dysfunction. *Circ Res* **2004**; 95(9), 877-83.
- [145] Devaraj S, Xu DY, Jialal I. C-reactive protein increases plasminogen activator inhibitor-1 expression and activity in human aortic endothelial cells: implications for the metabolic syndrome and atherothrombosis. *Circulation* **2003**; 107(3), 398-404.
- [146] Bisioendial RJ, Boekholdt SM, Vergeer M, Stroes ES, Kastelein JJ. C-reactive protein is a mediator of cardiovascular disease. *Eur Heart J* **2010**; 31(17), 2087-91.
- [147] Bisioendial RJ, Kastelein JJ, Peters SL, Levels JH, Birjmohun R, Rotmans JI, Hartman D, Meijers JC, Levi M, Stroes ES. Effects of CRP infusion on endothelial function and coagulation in normocholesterolemic and hypercholesterolemic subjects. *J Lipid Res* **2007**; 48(4), 952-60.
- [148] Devaraj S, Singh U, Jialal I. The evolving role of C-reactive protein in atherothrombosis. *Clin Chem* **2009**; 55(2), 229-38.
- [149] M. B. Pepys, G. M. Hirschfield. C-reactive protein and atherothrombosis. *Ital Heart J* **2001**; 2(3), 196-9.
- [150] Van Der Meer IM, De Maat MP, Hak AE, Kiliaan AJ, Del Sol AI, Van Der Kuip DA, Nijhuis RL, Hofman A, Witteman JC. C-reactive protein predicts progression of atherosclerosis measured at various sites in the arterial tree: the Rotterdam Study. *Stroke* **2002**; 33(12), 2750-5.
- [151] Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N Engl J Med* **2000**; 342(12), 836-43.

- [152] Rost NS, Wolf PA, Kase CS, Kelly-Hayes M, Silbershatz H, Massaro JM, D. Agostino RB, Franzblau C, Wilson PW. Plasma concentration of C-reactive protein and risk of ischemic stroke and transient ischemic attack: the Framingham study. *Stroke* **2001**; 32(11), 2575-9.
- [153] Cao JJ, Thach C, Manolio TA, Psaty BM, Kuller LH, Chaves PH, Polak JF, Sutton-Tyrrell K, Herrington DM, Price TR, Cushman M. C-reactive protein, carotid intima-media thickness, and incidence of ischemic stroke in the elderly: the Cardiovascular Health Study. *Circulation* **2003**; 108(2), 166-70.
- [154] H. Yamagami, K. Kitagawa, Y. Nagai, H. Hougaku, M. Sakaguchi, K. Kuwabara, K. Kondo, T. Masuyama, M. Matsumoto, M. Hori. Higher levels of interleukin-6 are associated with lower echogenicity of carotid artery plaques. *Stroke* **2004**; 35(3), 677-81.
- [155] Kofoed SC, Wittруп HH, Sillesen H, Nordestgaard BG. Fibrinogen predicts ischaemic stroke and advanced atherosclerosis but not echolucent, rupture-prone carotid plaques: the Copenhagen City Heart Study. *Eur Heart J* **2003**; 24(6), 567-76.
- [156] Chapman CM, Beilby JP, McQuillan BM, Thompson PL, Hung J. Monocyte count, but not C-reactive protein or interleukin-6, is an independent risk marker for subclinical carotid atherosclerosis. *Stroke* **2004**; 35(7), 1619-24.
- [157] Sitzer M, Markus HS, Mendall MA, Liehr R, Knorr U, Steinmetz H. C-reactive protein and carotid intimal medial thickness in a community population. *J Cardiovasc Risk* **2002**; 9(2), 97-103.
- [158] A. H. Thakore, C. Y. Guo, M. G. Larson, D. Corey, T. J. Wang, R. S. Vasan, R. B. D'Agostino, Sr., I. Lipinska, J. F. Keaney, Jr., E. J. Benjamin, C. J. O'Donnell. Association of multiple inflammatory markers with carotid intimal medial thickness and stenosis (from the Framingham Heart Study). *Am J Cardiol* **2007**; 99(11), 1598-602.
- [159] Muir KW, Weir CJ, Alwan W, Squire IB, Lees KR. C-reactive protein and outcome after ischemic stroke. *Stroke* **1999**; 30(5), 981-5.
- [160] Di Napoli M, Papa F, Bocola V. C-reactive protein in ischemic stroke: an independent prognostic factor. *Stroke* **2001**; 32(4), 917-24.
- [161] P. M. Ridker, N. Rifai, L. Rose, J. E. Buring, N. R. Cook. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Engl J Med* **2002**; 347(20), 1557-65.
- [162] Ferreiros ER, Boissonnet CP, Pizarro R, Merletti PF, Corrado G, Cagide A, Bazzino OO. Independent prognostic value of elevated C-reactive protein in unstable angina. *Circulation* **1999**; 100(19), 1958-63.
- [163] Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* **1999**; 55(2), 648-58.
- [164] Wanner C, Zimmermann J, Schwedler S, Metzger T. Inflammation and cardiovascular risk in dialysis patients. *Kidney Int Suppl* **2002**; 61(80), 99-102.
- [165] Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation markers, adhesion molecules, and all-cause and cardiovascular mortality in patients with ESRD: searching for the best risk marker by multivariate modeling. *J Am Soc Nephrol* **2005**; 16 Suppl 1(S83-8).

- [166] American Society of Nephrology 28th annual meeting. November 5-8, 1995. Abstracts. *Journal of the American Society of Nephrology* **1995**; 6(3), 303-1124.
- [167] C. Y. Chou, H. L. Kuo, H. H. Lin, J. S. Liu, Y. L. Liu, C. C. Huang. C-reactive protein predicts ischaemic stroke in haemodialysis patients. *Int J Clin Pract* **2009**; 63(2), 243-8.
- [168] Recio-Mayoral A, Banerjee D, Streather C, Kaski JC. Endothelial dysfunction, inflammation and atherosclerosis in chronic kidney disease--a cross-sectional study of predialysis, dialysis and kidney-transplantation patients. *Atherosclerosis* **2011**; 216(2), 446-51.
- [169] T. A. Pearson, G. A. Mensah, R. W. Alexander, J. L. Anderson, R. O. Cannon, M. Criqui, Y. Y. Fadl, S. P. Fortmann, Y. Hong, G. L. Myers, N. Rifai, S. C. Smith, K. Taubert, R. P. Tracy, F. Vinicor. Markers of inflammation and cardiovascular disease: application to clinical and public health practice: A statement for healthcare professionals from the Centers for Disease Control and Prevention and the American Heart Association. *Circulation* **2003**; 107(3), 499-511.
- [170] Wanner C, Krane V, März W, Olschewski M, Asmus HG, Krämer W, Kühn KW, Kütemeyer H, Mann JF, Ruf G, Ritz E. Randomized controlled trial on the efficacy and safety of atorvastatin in patients with type 2 diabetes on hemodialysis (4D study): demographic and baseline characteristics. *Kidney Blood Press Res* **2004**; 27(4), 259-66.
- [171] Teerlink T, Nijveldt RJ, de Jong S, van Leeuwen PA. Determination of arginine, asymmetric dimethylarginine, and symmetric dimethylarginine in human plasma and other biological samples by high-performance liquid chromatography. *Analytical Biochemistry* **2002**; 303(2), 131-7.
- [172] Pettersson A, Uggla L, Backman V. Determination of dimethylated arginines in human plasma by high-performance liquid chromatography. *J. Chromatogr. B* **1997**; 692(2), 257-62.
- [173] Eda S, Kaufmann J, Roos W, Pohl S. Development of a new microparticle-enhanced turbidimetric assay for C-reactive protein with superior features in analytical sensitivity and dynamic range. *J Clin Lab Anal* **1998**; 12(3), 137-44.
- [174] Price CP, Trull AK, Berry D, Gorman EG. Development and validation of a particle-enhanced turbidimetric immunoassay for C-reactive protein. *J Immunol Methods* **1987**; 99(2), 205-11.
- [175] Hamwi A, Vukovich T, Wagner O, Rumpold H, Spies R, Stich M, Langecker C. Evaluation of turbidimetric high-sensitivity C-reactive protein assays for cardiovascular risk estimation. *Clinical Chemistry* **2001**; 47(11), 2044-46.
- [176] United States Renal Data System. USRDS 1999 Annual Data Report. Bethesda, MD: National Institute of Health, NIDDK. **1999**.
- [177] Anderstam B, Katzarski K, Bergström J. Serum levels of NG, NG-dimethyl-L-arginine, a potential endogenous nitric oxide inhibitor in dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* **1997**; 8(9), 1437-42.
- [178] MacAllister RJ, Rambašek MH, Vallance P, Williams D, Hoffmann KH, Ritz E. Concentration of dimethyl-L-arginine in the plasma of patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* **1996**; 11(12), 2449-52.

- [179] Teerlink T. Measurement of asymmetric dimethylarginine in plasma: methodological considerations and clinical relevance. *Clin Chem Lab Med* **2005**; 43(10), 1130-8.
- [180] Ravani P, Maas R, Malberti F, Pecchini P, Mieth M, Quinn R, Tripepi G, Mallamaci F, Zoccali C. Homoarginine and mortality in pre-dialysis chronic kidney disease (CKD) patients. *PLoS One* **2013**; 8(9), e72694.
- [181] Wahbi N, Dalton R, Turner C, Denton M, Abbs I, Swaminathan R. Dimethylarginines in chronic renal failure. *J Clin Pathol* **2001**; 54(6), 470-73.
- [182] Davids M, Ndika JD, Salomons GS, Blom HJ, Teerlink T. Promiscuous activity of arginine:glycine amidinotransferase is responsible for the synthesis of the novel cardiovascular risk factor homoarginine. *FEBS Lett* **2012**; 586(20), 3653-7.
- [183] Celik M, Cerrah S, Arabul M, Akalin A. Relation of Asymmetric Dimethylarginine Levels to Macrovascular Disease and Inflammation Markers in Type 2 Diabetic Patients. *Journal of Diabetes Research* **2014**; 2014(6).
- [184] Zaciragic A, Huskic J, Mulabegovic N, Avdagic N, Valjevac A, Hasic S, Jadric R. An assessment of correlation between serum asymmetric dimethylarginine and glycated haemoglobin in patients with type 2 diabetes mellitus. *Bosn J Basic Med Sci* **2014**; 14(1), 21-4.
- [185] Schutte AE, Schutte R, Huisman HW, van Rooyen JM, Fourie CM, Malan L, Malan NT, Schwedhelm E, Strimbeanu S, Anderssohn M, Boger RH. Dimethylarginines: their vascular and metabolic roles in Africans and Caucasians. *Eur J Endocrinol* **2010**; 162(3), 525-33.
- [186] Caliskan Y, Ozkok A, Akagun T, Alpay N, Guz G, Polat N, Tufan F, Ecdar T, Bozfakioglu S. Cardiac biomarkers and noninvasive predictors of atherosclerosis in chronic peritoneal dialysis patients. *Kidney Blood Press Res* **2012**; 35(5), 340-8.
- [187] Abedini S, Holme I, März W, Weihrauch G, Fellström B, Jardine A, Cole E, Maes B, Neumayer HH, Grønhaugen-Riska C, Ambühl P, Holdaas H, and on behalf of the ALERT study group. Inflammation in Renal Transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* **2009**; 4(7), 1246–54.
- [188] Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heimbürger O, Lindholm B, Bergstrom J. Inflammation, malnutrition, and cardiac disease as predictors of mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* **2002**; 13 Suppl 1(S28-36).
- [189] Szpakowski M, Nowak M, Oszukowski P, Wiczorek A, Skotnicka A. [C-reactive protein in normal pregnancy]. *Ginekol Pol* **1996**; 67(1), 17-20.
- [190] O'Loughlin J, Lambert M, Karp I, McGrath J, Gray-Donald K, Barnett T A, Delvin EE, Levy E, Paradis G. Association between cigarette smoking and C-reactive protein in a representative, population-based sample of adolescents. *Nicotine Tob Res* **2008**; 10(3), 525-32.
- [191] Kindmark CO. The Concentration of C-Reactive Protein in Sera from Healthy Individuals. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* **1972**; 29(4), 407-11.
- [192] Arici M, Walls J. End-stage renal disease, atherosclerosis, and cardiovascular mortality: is C-reactive protein the missing link? *Kidney Int* **2001**; 59(2), 407-14.
- [193] Haubitz M, Schulze M, Koch KM. Increase of C-reactive protein serum values following haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* **1990**; 5(7), 500-3.

- [194] Dinarello CA. Cytokines: agents provocateurs in hemodialysis? *Kidney Int* **1992**; 41(3), 683-94.
- [195] Bingel M, Lonnemann G, Koch KM, Dinarello CA, Shaldon S. Enhancement of in-vitro human interleukin-1 production by sodium acetate. *Lancet* **1987**; 1(8523), 14-6.
- [196] Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl* **2002**(80), 103-8.
- [197] Lonnemann G, Koch KM, Shaldon S, Dinarello CA. Studies on the ability of hemodialysis membranes to induce, bind, and clear human interleukin-1. *J Lab Clin Med* **1988**; 112(1), 76-86.
- [198] Urbani A, Sirolli V, Lupisella S, Levi-Mortera S, Pavone B, Pieroni L, Amoroso L, Di Vito R, Bucci S, Bernardini S, Sacchetta P, Bonomini M. Proteomic investigations on the effect of different membrane materials on blood protein adsorption during haemodialysis. *Blood Transfus* **2012**; 10 Suppl 2(s101-12).
- [199] Pickup JC. Inflammation and activated innate immunity in the pathogenesis of type 2 diabetes. *Diabetes Care* **2004**; 27(3), 813-23.
- [200] Luna RC, do Nascimento CC, Asciti LS, Franceschini Sdo C, Filizola RG, Diniz Ada S, de Moraes RM, Rivera MA, Goncalves Mda C, Costa MJ. Relation between glucose levels, high-sensitivity C-reactive protein (hs-CRP), body mass index (BMI) and serum and dietary retinol in elderly in population-based study. *Arch Gerontol Geriatr* **2012**; 54(3), 462-8.
- [201] Rhee EJ, Kim YC, Lee WY, Jung CH, Sung KC, Ryu SH, Oh KW, Kim SW. Comparison of insulin resistance and serum high-sensitivity C-reactive protein levels according to the fasting blood glucose subgroups divided by the newly recommended criteria for fasting hyperglycemia in 10059 healthy Koreans. *Metabolism* **2006**; 55(2), 183-7.
- [202] O'Riordain MG, Ross JA, Fearon KC, Maingay J, Farouk M, Garden OJ, Carter DC. Insulin and counterregulatory hormones influence acute-phase protein production in human hepatocytes. *Am J Physiol* **1995**; 269(2 Pt 1), E323-30.
- [203] Campos SP, Baumann H. Insulin is a prominent modulator of the cytokine-stimulated expression of acute-phase plasma protein genes. *Mol Cell Biol* **1992**; 12(4), 1789-97.
- [204] Iadecola C, Zhang F, Xu X. Role of nitric oxide synthase-containing vascular nerves in cerebrovasodilation elicited from cerebellum. *Am J Physiol* **1993**; 264(4 Pt 2), R738-46.
- [205] Leiper J, Murray-Rust J, McDonald N, Vallance P. S-nitrosylation of dimethylarginine dimethylaminohydrolase regulates enzyme activity: further interactions between nitric oxide synthase and dimethylarginine dimethylaminohydrolase. *Proc Natl Acad Sci U S A* **2002**; 99(21), 13527-32.
- [206] Yoo JH, Lee SC. Elevated levels of plasma homocyst(e)ine and asymmetric dimethylarginine in elderly patients with stroke. *Atherosclerosis* **2001**; 158(2), 425-30.
- [207] Pikula A, Boger RH, Beiser AS, Maas R, DeCarli C, Schwedhelm E, Himali JJ, Schulze F, Au R, Kelly-Hayes M, Kase CS, Vasani RS, Wolf PA, Seshadri S.

- Association of plasma ADMA levels with MRI markers of vascular brain injury: Framingham offspring study. *Stroke* **2009**; 40(9), 2959-64.
- [208] Nishiyama Y, Ueda M, Katsura K, Otsuka T, Abe A, Nagayama H, Katayama Y. Asymmetric dimethylarginine (ADMA) as a possible risk marker for ischemic stroke. *J Neurol Sci* **2010**; 290(1-2), 12-5.
- [209] Monk RD, Bennett DA. Reno-cerebrovascular disease? The incognito kidney in cognition and stroke. **2006**; 67(2).
- [210] Maas R. Pharmacotherapies and their influence on asymmetric dimethylarginine (ADMA). *Vasc Med* **2005**; 10 Suppl 1(S49-57).
- [211] Tripepi G, Mattace Raso F, Sijbrands E, Seck MS, Maas R, Boger R, Wittteman J, Rapisarda F, Malatino L, Mallamaci F, Zoccali C. Inflammation and asymmetric dimethylarginine for predicting death and cardiovascular events in ESRD patients. *Clin J Am Soc Nephrol* **2011**; 6(7), 1714-21.
- [212] Riccioni G, Scotti L, D'Orazio N, Gallina S, Speziale G, Speranza L, Bucciarelli T. ADMA/SDMA in elderly subjects with asymptomatic carotid atherosclerosis: values and site-specific association. *Int J Mol Sci* **2014**; 15(4), 6391-8.
- [213] Luneburg N, von Holten RA, Topper RF, Schwedhelm E, Maas R, Boger RH. Symmetric dimethylarginine is a marker of detrimental outcome in the acute phase after ischaemic stroke: role of renal function. *Clin Sci (Lond)* **2012**; 122(3), 105-11.
- [214] Schepers E, Glorieux G, Dhondt A, Leybaert L, Vanholder R. Role of symmetric dimethylarginine in vascular damage by increasing ROS via store-operated calcium influx in monocytes. *Nephrol Dial Transplant* **2009**; 24(5), 1429-35.
- [215] Schepers E, Barreto DV, Liabeuf S, Glorieux G, Eloot S, Barreto FC, Massy Z, Vanholder R. Symmetric dimethylarginine as a proinflammatory agent in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* **2011**; 6(10), 2374-83.
- [216] Siegerink B, Maas R, Vossen CY, Schwedhelm E, Koenig W, Böger R, Rothenbacher D, Brenner H, Breitling LP. Asymmetric and symmetric dimethylarginine and risk of secondary cardiovascular disease events and mortality in patients with stable coronary heart disease: the KAROLA follow-up study. *Clinical Research in Cardiology* **2013**; 102(3), 193-202.
- [217] Aucella F, Maas R, Vigilante M, Tripepi G, Schwedhelm E, Margaglione M, Gesualdo L, Boeger R, Zoccali C. Methylarginines and mortality in patients with end stage renal disease: a prospective cohort study. *Atherosclerosis* **2009**; 207(2), 541-5.
- [218] Chen PY, Sanders PW. Role of nitric oxide synthesis in salt-sensitive hypertension in Dahl/Rapp rats. *Hypertension* **1993**; 22(6), 812-8.
- [219] Faraci FM, Brian JE, Heistad DD. Response of cerebral blood vessels to an endogenous inhibitor of nitric oxide synthase. *Am J Physiol* **1995**; 269(5 Pt 2), H1522-7.
- [220] Pilz S, Tomaschitz A, Meinitzer A, Drechsler C, Ritz E, Krane V, Wanner C, Böhm BO, Marz W. Low serum homoarginine is a novel risk factor for fatal strokes in patients undergoing coronary angiography. *Stroke* **2011**; 42(4), 1132-4.
- [221] Pilz S, Teerlink T, Scheffer PG, Meinitzer A, Rutters F, Tomaschitz A, Drechsler C, Kienreich K, Nijpels G, Stehouwer CD, Marz W, Dekker JM. Homoarginine and mortality in an older population: the Hoorn study. *Eur J Clin Invest* **2013**.

- [222] Atzler D, Gore MO, Ayers CR, Choe CU, Boger RH, de Lemos JA, McGuire DK, Schwedhelm E. Homoarginine and cardiovascular outcome in the population-based Dallas heart study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2014**; 34(11), 2501-7.
- [223] Herzog CA, Mangrum JM, Passman R. Sudden cardiac death and dialysis patients. *Semin Dial* **2008**; 21(4), 300-7.
- [224] Ritz E, Wanner C. The challenge of sudden death in dialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* **2008**; 3(3), 920-9.
- [225] Krane V, Winkler K, Drechsler C, Lilienthal J, Marz W, Wanner C. Association of LDL cholesterol and inflammation with cardiovascular events and mortality in hemodialysis patients with type 2 diabetes mellitus. *Am J Kidney Dis* **2009**; 54(5), 902-11.
- [226] Hashimoto H, Kitagawa K, Hougaku H, Etani H, Hori M. Relationship between C-reactive protein and progression of early carotid atherosclerosis in hypertensive subjects. *Stroke* **2004**; 35(7), 1625-30.
- [227] Curb JD, Abbott RD, Rodriguez BL, Sakkinen P, Popper JS, Yano K, Tracy RP. C-reactive protein and the future risk of thromboembolic stroke in healthy men. *Circulation* **2003**; 107(15), 2016-20.
- [228] Liu Y, Wang J, Zhang L, Wang C, Wu J, Zhou Y, Gao X, Wang A, Wu S, Zhao X. Relationship between C-reactive protein and stroke: a large prospective community based study. *PLoS One* **2014**; 9(9), e107017.
- [229] Di Napoli M, Papa F. C-reactive protein and cerebral small-vessel disease: an opportunity to reassess small-vessel disease pathophysiology? *Circulation* **2005**; 112(6), 781-5.
- [230] Everett BM, Kurth T, Buring JE, Ridker PM. The relative strength of C-reactive protein and lipid levels as determinants of ischemic stroke compared with coronary heart disease in women. *J Am Coll Cardiol* **2006**; 48(11), 2235-42.
- [231] Iso H, Jacobs DR Jr, Wentworth D, Neaton JD, Cohen JD. Serum cholesterol levels and six-year mortality from stroke in 350,977 men screened for the multiple risk factor intervention trial. *N Engl J Med* **1989**; 320(14), 904-10.
- [232] Benfante R, Yano K, Hwang LJ, Curb JD, Kagan A, Ross W. Elevated serum cholesterol is a risk factor for both coronary heart disease and thromboembolic stroke in Hawaiian Japanese men. Implications of shared risk. *Stroke* **1994**; 25(4), 814-20.
- [233] Bowman TS, Sesso HD, Ma J, Kurth T, Kase CS, Stampfer MJ, Gaziano JM. Cholesterol and the risk of ischemic stroke. *Stroke* **2003**; 34(12), 2930-4.
- [234] Lindstrom E, Boysen G, Nyboe J. Influence of total cholesterol, high density lipoprotein cholesterol, and triglycerides on risk of cerebrovascular disease: the Copenhagen City Heart Study. *Bmj* **1994**; 309(6946), 11-5.
- [235] Pelisek J, Hahntow IN, Eckstein HH, Ockert S, Reeps C, Heider P, Lupp PB, Frank H. Impact of chronic kidney disease on carotid plaque vulnerability. *J Vasc Surg* **2011**; 54(6), 1643-9.
- [236] Schneider A, Jardine AG, Schneider MP, Holdaas H, Holme I, Fellstroem BC, Zannad F, Schmieder RE. Determinants of cardiovascular risk in haemodialysis patients: post hoc analyses of the AURORA study. *Am J Nephrol* **2013**; 37(2), 144-51.

- [237] Sozio SM, Coresh J, Jaar BG, Fink NE, Plantinga LC, Armstrong PA, Longenecker JC, Sharrett AR, Powe NR, Parekh RS. Inflammatory markers and risk of cerebrovascular events in patients initiating dialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* **2011**; 6(6), 1292-300.
- [238] Arenillas JF, Alvarez-Sabin J, Molina CA, Chacon P, Montaner J, Rovira A, Ibarra B, Quintana M. C-reactive protein predicts further ischemic events in first-ever transient ischemic attack or stroke patients with intracranial large-artery occlusive disease. *Stroke* **2003**; 34(10), 2463-8.
- [239] Jung S, Kwon SB, Hwang SH, Noh JW, Lee YK. Ischemic stroke among the patients with end-stage renal disease who were undergoing maintenance dialysis. *Yonsei Med J* **2012**; 53(5), 894-900.
- [240] Ridker PM, Cushman M, Stampfer MJ, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Engl J Med* **1997**; 336(14), 973-9.
- [241] Koenig W, Lowel H, Baumert J, Meisinger C. C-reactive protein modulates risk prediction based on the Framingham Score: implications for future risk assessment: results from a large cohort study in southern Germany. *Circulation* **2004**; 109(11), 1349-53.
- [242] Sakkinen P, Abbott RD, Curb JD, Rodriguez BL, Yano K, Tracy RP. C-reactive protein and myocardial infarction. *J Clin Epidemiol* **2002**; 55(5), 445-51.
- [243] Sakkinen PA, Macy EM, Callas PW, Cornell ES, Hayes TE, Kuller LH, Tracy RP. Analytical and biologic variability in measures of hemostasis, fibrinolysis, and inflammation: assessment and implications for epidemiology. *Am J Epidemiol* **1999**; 149(3), 261-7.
- [244] Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA. C-Reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* **2000**; 35(3), 469-76.
- [245] Iseki K, Tozawa M, Yoshi S, Fukiyama K. Serum C-reactive protein (CRP) and risk of death in chronic dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* **1999**; 14(8), 1956-60.
- [246] Yilmaz MI, Stenvinkel P, Sonmez A, Saglam M, Yaman H, Kilic S, Eyileten T, Caglar K, Oguz Y, Vural A, Cakar M, Altun B, Yenicesu M, Carrero JJ. Vascular health, systemic inflammation and progressive reduction in kidney function; clinical determinants and impact on cardiovascular outcomes. *Nephrol Dial Transplant* **2011**; 26(11), 3537-43.
- [247] Goldstein SL, Ikizler TA, Zappitelli M, Silverstein DM, Ayus JC. Non-infected hemodialysis catheters are associated with increased inflammation compared to arteriovenous fistulas. *Kidney Int* **2009**; 76(10), 1063-9.
- [248] Banerjee T, Kim SJ, Astor B, Shafi T, Coresh J, Powe NR. Vascular Access Type, Inflammatory Markers, and Mortality in Incident Hemodialysis Patients: The Choices for Healthy Outcomes in Caring for End-Stage Renal Disease (CHOICE) Study. *Am J Kidney Dis* **2014**; 64(6), 954-61.
- [249] Bradbury BD, Chen F, Furniss A, Pisoni RL, Keen M, Mapes D, Krishnan M. Conversion of vascular access type among incident hemodialysis patients: description and association with mortality. *Am J Kidney Dis* **2009**; 53(5), 804-14.
- [250] Meuwese CL, Snaedal S, Halbesma N, Stenvinkel P, Dekker FW, Qureshi AR, Barany P, Heimbürger O, Lindholm B, Krediet RT, Boeschoten EW, Carrero JJ.

- Trimestral variations of C-reactive protein, interleukin-6 and tumour necrosis factor-alpha are similarly associated with survival in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* **2011**; 26(4), 1313-8.
- [251] den Elzen WP, van Manen JG, Boeschoten EW, Krediet RT, Dekker FW. The effect of single and repeatedly high concentrations of C-reactive protein on cardiovascular and non-cardiovascular mortality in patients starting with dialysis. *Nephrol Dial Transplant* **2006**; 21(6), 1588-95.
- [252] Kannel WB, Dawber TR, Friedman GD, Glennon WE, McNamara PM. RISK FACTORS IN CORONARY HEART DISEASE. AN EVALUATION OF SEVERAL SERUM LIPIDS AS PREDICTORS OF CORONARY HEART DISEASE; THE FRAMINGHAM STUDY. *Ann Intern Med* **1964**; 61(888-99).
- [253] Stamler J, Wentworth D, Neaton JD. Is relationship between serum cholesterol and risk of premature death from coronary heart disease continuous and graded? Findings in 356,222 primary screenees of the Multiple Risk Factor Intervention Trial (MRFIT). *Jama* **1986**; 256(20), 2823-8.
- [254] Chiang CK, Ho TI, Hsu SP, Peng YS, Pai MF, Yang SY, Hung KY, Tsai TJ. Low-density lipoprotein cholesterol: association with mortality and hospitalization in hemodialysis patients. *Blood Purif* **2005**; 23(2), 134-40.
- [255] Iseki K, Yamazato M, Tozawa M, Takishita S. Hypocholesterolemia is a significant predictor of death in a cohort of chronic hemodialysis patients. *Kidney Int* **2002**; 61(5), 1887-93.
- [256] Liu Y, Coresh J, Eustace JA, Longenecker JC, Jaar B, Fink NE, Tracy RP, Powe NR, Klag MJ. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *Jama* **2004**; 291(4), 451-9.
- [257] Gierens H, Nauck M, Roth M, Schinker R, Schurmann C, Scharnagl H, Neuhaus G, Wieland H, Marz W. Interleukin-6 stimulates LDL receptor gene expression via activation of sterol-responsive and Sp1 binding elements. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* **2000**; 20(7), 1777-83.
- [258] Kim CH, Kim SJ, Lee MJ, Kwon YE, Kim YL, Park KS, Ryu HJ, Oh HJ, Han SH, Yoo TH, Kim YL, Kim YS, Yang CW, Kim NH, Kang SW, Park JT. LDL Cholesterol Affects Clinical Outcomes in Incident Hemodialysis Patients During the Early Stages of Dialysis. *Blood Purif* **2014**; 38(2), 131-9.
- [259] Kurtoglu E, Balta S, Sincer I, Altas Y, Atas H, Yilmaz M, Korkmaz H, Erdem K, Akturk E, Demirkol S, Can C. Comparison of effects of rosuvastatin versus atorvastatin treatment on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hyperlipidemia having coronary artery disease. *Angiology* **2014**; 65(9), 788-93.
- [260] Lu TM, Ding YA, Leu HB, Yin WH, Sheu WH, Chu KM. Effect of rosuvastatin on plasma levels of asymmetric dimethylarginine in patients with hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* **2004**; 94(2), 157-61.
- [261] Paiva H, Laakso J, Lehtimaki T, Isomustajarvi M, Ruokonen I, Laaksonen R. Effect of high-dose statin treatment on plasma concentrations of endogenous nitric oxide synthase inhibitors. *J Cardiovasc Pharmacol* **2003**; 41(2), 219-22.
- [262] Boger RH, Sydow K, Borlak J, Thum T, Lenzen H, Schubert B, Tsikas D, Bode-Boger SM. LDL cholesterol upregulates synthesis of asymmetrical dimethylarginine in human endothelial cells: involvement of S-adenosylmethionine-dependent methyltransferases. *Circ Res* **2000**; 87(2), 99-105.

- [263] Valkonen VP, Laakso J, Paiva H, Lehtimäki T, Lakka TA, Isomustajarvi M, Ruokonen I, Salonen JT, Laaksonen R. Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and risk of acute coronary events. Does statin treatment influence plasma ADMA levels? *Atheroscler Suppl* **2003**; 4(4), 19-22.
- [264] Serban C, Sahebkar A, Ursoniu S, Mikhailidis DP, Rizzo M, Lip GY, Kees Hovingh G, Kastelein JJ, Kalinowski L, Rysz J, Banach M. A systematic review and meta-analysis of the effect of statins on plasma asymmetric dimethylarginine concentrations. *Sci Rep* **2015**; 5(9902).
- [265] Krebs A, Doerfer J, Grunert SC, Wohrl J, Stier B, Schmidt-Trucksass A, Lichte K, Winkler K, Grulich-Henn J, Holder M, Schwab KO. Decreased levels of homoarginine and asymmetric dimethylarginine in children with type 1 diabetes: associations with cardiovascular risk factors but no effect by atorvastatin. *J Pediatr Endocrinol Metab* **2015**; 28(1-2), 147-52.
- [266] Ridker PM, Danielson E, Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ. Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein. *N Engl J Med* **2008**; 359(21), 2195-207.
- [267] Ridker PM, Rifai N, Pfeffer MA, Sacks F, Braunwald E. Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. *Circulation* **1999**; 100(3), 230-5.
- [268] Albert MA, Danielson E, Rifai N, Ridker PM. Effect of statin therapy on C-reactive protein levels: the pravastatin inflammation/CRP evaluation (PRINCE): a randomized trial and cohort study. *Jama* **2001**; 286(1), 64-70.
- [269] Ichihara A, Hayashi M, Ryuzaki M, Handa M, Furukawa T, Saruta T. Fluvastatin prevents development of arterial stiffness in haemodialysis patients with type 2 diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* **2002**; 17(8), 1513-7.
- [270] Chang JW, Yang WS, Min WK, Lee SK, Park JS, Kim SB. Effects of simvastatin on high-sensitivity C-reactive protein and serum albumin in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* **2002**; 39(6), 1213-7.
- [271] Krane V, Winkler K, Drechsler C, Lilienthal J, Marz W, Wanner C. Effect of atorvastatin on inflammation and outcome in patients with type 2 diabetes mellitus on hemodialysis. *Kidney Int* **2008**; 74(11), 1461-7.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich all denen danken, die mich bei der Durchführung und Erstellung dieser Arbeit unterstützt haben.

Mein besonderer Dank geht an Herrn Prof. Dr. med. Christoph Wanner für die fachlichen Anregungen und die freundliche Unterstützung.

Vor allem danke ich Frau Priv.-Doz. Dr. med. Vera Krane für die interessante Aufgabenstellung, die kontinuierliche Betreuung und konstruktiven Ratschläge, die zu großen Teilen zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. med. Christoph Kleinschnitz bin ich für die Übernahme des Koreferats zu Dank verpflichtet.

Insbesondere für die Unterstützung bei organisatorischen Fragen danke ich zusätzlich Frau Dr. Dr. med. Christiane Drechsler.