

Aus dem Bereich Innere Medizin III
Klinisch-Experimentelle Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes, Homburg/Saar
(Prof. Dr. med. U. Laufs)

**„Assoziation der Cholesterinhomöostase mit
koronarer Herzerkrankung bei Patienten mit
Aortenklappenstenose“**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES
2011

vorgelegt von
Nadezhda Weingärtner, geborene Romadina,
geboren am 29.07.1977
in Twer (Russland)

Inhaltsverzeichnis

1. ZUSAMMENFASSUNG	5
1.1. Hintergrund der Studie	5
1.2. Methoden und Ergebnisse	5
1.3. Schlussfolgerungen	5
1.4. Summary	6
1.4.1. Background	6
1.4.2. Methods and results	6
1.4.3. Conclusions	6
2. EINLEITUNG	7
2.1. Cholesterinhomöostase	7
2.1. Medikamentöse Beeinflussung der Cholesterinhomeostase	9
2.3. Fragestellung	11
3. METHODEN	13
3.1. Materialien	13
3.1.1. Reagenzien	13
3.2. Studienpopulation	14
3.3. Verfahren	14
3.3.1. Probenaufbereitung	15
3.3.2. Beschreibung der Analyseverfahren	16
3.3.3. Durchführung der Analysen	16

3.3.3.1. Durchführung der Analyse mittels Gaschromatographie-Flammenionisationsdetektion	17
3.3.3.2. Durchführung der Analyse mittels Gaschromatographie-massenselektiver Detektion	20
3.4. Evaluierung einer begleitenden KHK	22
3.5. Evaluierung des Ausmaßes einer Aortenklappenstenose	24
3.6. Statistische Methoden	24
4. ERGEBNISSE	25
4.1. Patientencharakteristika	25
4.2. Zusammenhang zwischen Cholesterinresorption und -synthese und koronarer Herzkrankheit	27
4.3. Beziehung zwischen Cholesterinresorption und -synthese und der Familienanamnese für koronare Herzkrankheiten	30
4.4. Cholesterinresorption und -synthese und Prädiktion einer begleitenden koronaren Herzkrankheit im Vergleich zu etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren	32
4.5. Sterolkonzentrationen und Aortenklappenstenose	32
5. DISKUSSION	34
5.1. Cholesterinhomöostase und koronare Herzerkrankung	35
5.2. Cholesterinhomöostase und Aortenklappenstenose	37
5.3. Cholesterinhomöostase und Prädiktion von kardiovaskulärem Risiko	38
5.4. Einschränkung der Studienergebnisse	39
5.5. Potentielle klinische Bedeutung der Befunde	39

6. LITERATURVERZEICHNIS	41
7. DANKSAGUNG	47
8. CURRICULUM VITAE	48

Abkürzungsverzeichnis

AS	Aortenklappenstenose
KHK	koronare Herzerkrankung
CAD	coronary artery disease
HMG-CoA-Reduktase	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A-Reduktase
NPC1L1	Nieman-Pick C1-like protein 1
CC/MS	Gaschromatographie/Massenspektrometrie
HDL	high density lipoprotein
LDL	low density lipoprotein
BMI	body mass index
CABG	coronary artery bypass graft
PCI	percutaneous coronary intervention

1. Zusammenfassung

1.1. Hintergrund der Studie: Die Hypercholesterolämie ist ein Risikofaktor für Aortenstenose (AS) und der koronare Herzkrankheit (KHK). Serumcholesterinspiegel werden durch intestinale Cholesterinresorption und endogene Cholesterinsynthese bestimmt. Ziel dieser Studie war daher die Untersuchung einer möglichen Beziehung zwischen Unterschieden im Cholesterinstoffwechsel und vaskulären Erkrankungen bei dieser Patientenuntergruppe.

1.2. Methoden und Ergebnisse: Neben der Identifizierung konventioneller koronarer Risikofaktoren wurden bei 40 konsekutiven Männern und Frauen mit Aortenstenose Phytosterolspiegel (Indikatoren für die Cholesterinresorption) und Lathosterolspiegel (Indikatoren für die Cholesterinsynthese) bestimmt. Koronare Angiogramme vor der Durchführung eines Aortenklappenersatzes dienten zur Bestimmung des Ausmaßes der KHK. Bei Patienten mit positiver Anamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen war das Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol im Plasma und in Aortenklappentaschen erhöht. Das Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol im Plasma nahm mit dem Schweregrad der KHK zu (0-, 1-, 2-, 3-Gefäß-KHK; $p < 0,05$). Es zeigte sich eine starke Korrelation zwischen dem Koronargefäß-Score und dem Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol im Plasma ($r = 0,52$; $p < 0,001$) und in Aortenklappentaschen ($r = 0,33$; $p < 0,03$). Mittels linearer Regressionsanalyse wurde gezeigt, dass das Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol unter den getesteten Risikofaktoren der einzige Prädiktor für eine KHK war ($p < 0,01$).

1.3. Schlussfolgerungen

Bei Patienten mit Aortenstenose (AS) ist die vermehrte Resorption und reduzierte Synthese von Cholesterin mit einer positiven Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen sowie der Entwicklung einer begleitenden KHK assoziiert.

1. 4 Summary

1.4.1 Background: Hypercholesterolemia is a risk factor for aortic stenosis (AS) and for coronary artery disease (CAD). Serum cholesterol concentrations are determined by intestinal cholesterol absorption and endogenous cholesterol synthesis. Vascular effects of differences in cholesterol metabolism in patients with aortic stenosis are so far unknown. Therefore, the aim of this study was to investigate differences in cholesterol metabolism in relation to vascular diseases in this subset of patients.

1.4.2. Methods and results: In addition to identifying conventional coronary risk factors, we determined plant sterols (indicators of cholesterol absorption) and lathosterol (indicator of cholesterol synthesis) levels in 40 consecutive men and women with AS. Coronary angiograms prior to aortic valve replacement determined the extent of CAD. Patients with a positive history of cardiovascular disease exhibited an increased campesterol-to-lathosterol ratio in plasma ($P < 0.005$) and in aortic valve cusps ($P < 0.05$). The plasma campesterol-to-lathosterol ratio increased with CAD severity (0-, 1-, 2-, 3-vessel disease; $P < 0.05$). Coronary vessel score strongly correlated with the campesterol-to-lathosterol ratio in plasma ($r = 0.52$; $P < 0.001$) and in aortic valve cusps ($r = 0.33$; $P < 0.03$). Logistic regression analysis revealed that the ratio of campesterol to lathosterol was the sole predictor of CAD among coronary risk factors tested ($P < 0.01$).

1.4.3. Conclusions: Enhanced absorption and reduced synthesis of cholesterol is related to a positive family history of cardiovascular diseases and the development of concomitant CAD in patients with AS.

2. Einleitung

2.1. Cholesterinhomöostase

Hohe Serumcholesterinspiegel sind ein bedeutender unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen (1-3). Große, prospektiv-angelegte klinische Studien haben für die Primär- als auch für die Sekundärprävention belegt, dass unter Statintherapie ein beträchtlicher Rückgang der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität zu verzeichnen ist (4, 5). Dabei zeigen Ergebnisse großer Metaanalysen von Statinstudien, dass kein deutlicher Zusammenhang zwischen der relativen Risikoreduktion für kardiovaskuläre Ereignisse und den LDL-Cholesterin Ausgangswerten besteht und dass trotz der durch Statintherapie erreichten Senkung des relativen Risikos ein deutliches residuelles Risiko verbleibt (6). Die absolute Risikoreduktion hängt von der Höhe des Ausgangscholesterins und dem Ausmaß der Cholesterinsenkung ab, der genaue Anteil der verschiedenen kardiovaskulären Risikofaktoren und genetischer Einflüsse auf das residuelle Risiko ist jedoch nicht bekannt. Eine plausible Maßnahme zur Reduktion des unter Statintherapie verbleibenden Restrisikos ist einerseits eine Beeinflussung des reversen Cholesterintransports. HDL besitzt unter physiologischen Bedingungen verschiedene antiatherogene Eigenschaften. Neben der Hemmung der Oxidation von LDL-Cholesterin, sowie der Thrombozytenaggregation reduziert HDL die Expression verschiedener inflammatorischer Zytokine und vaskulärer Zelladhäsionsmoleküle und verbessert die Endothelfunktion (7). Der zentrale protektive Mechanismus ist jedoch der reverse Cholesterintransport. Dabei geben Makrophagen in atherosklerotischen Läsionen über ATP-binding cassette transporter 1 (ABCA1) Cholesterin an lipidarme Apolipoprotein-A-I-Partikel ab (8). Nach Veresterung des

freien Cholesterins durch die Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase (LCAT) entsteht „reifes“ HDL-Cholesterin das schließlich durch den Scavenger Receptor B Typ 1 (SR-B1) selektiv in die Hepatozyten aufgenommen werden kann (9). Alternativ werden die Cholesterinester durch das Enzym Cholesterinester-Transferprotein (CETP) von HDL auf Apolipoprotein B (Apo B)-reiche Lipoproteine (LDL/VLDL) übertragen und nachfolgend durch hepatische LDL-Rezeptoren aufgenommen (10, 11). Ein weiterer Pathway des reversen Cholesterintransports liegt im LDL-receptor related protein (LRP). Durch dieses Protein können sogenannte Remnants (Überbleibsel) von VLDL und Chylomikronen in die Leberzelle aufgenommen werden (12). Aber auch Oxysterolen, insbesondere 27-Hydroxycholesterin wird eine Transportfunktion im reversen Cholesterintransport zugeschrieben (13). In der Leber kann Cholesterin letztlich in Gallensäuren umgewandelt und ausgeschieden werden. Eine medikamentöse Beeinflussung des reversen Cholesterintransports lässt sich durch Statine (bis zu 15 % Steigerung des HDL-C), aber insbesondere durch Nikotinsäurederivate (steigern HDL-C bis zu 35 %) erreichen. Eine medikamentöse Hemmung des Cholesterinester-Transfer-Proteins durch CETP-Hemmung wird derzeit noch kontrovers diskutiert (10, 14).

Eine zweite, mögliche Maßnahme zur Reduktion des kardiovaskulären Risikos ist die Beeinflussung der Cholestinomöostase hinsichtlich Cholesterinsynthese und Aufnahme. Diese Fragestellung soll in der vorliegenden Dissertationsarbeit ausführlicher diskutiert werden. Grundlegend für das Verständnis ist hierbei, dass der Serumcholesterinspiegel durch die Cholesterinresorption, -synthese und -exkretion reguliert wird (15-17). Lathosterol, ein Vorläufer in der Cholesterinsynthese, ist ein Marker für die hepatische Syntheserate (18, 19). Serumkonzentrationen von Phytosterolen wie Campesterol und Sitosterol, die ausschließlich über die Nahrung

zugeführt werden, lassen Rückschlüsse auf die Resorptionsrate von Cholesterin zu (20, 21).

2.2. Medikamentöse Beeinflussung der Cholesterinhomöostase

Seit der Einführung von Statinen, die das geschwindigkeitsbestimmende Enzym der Cholesterinsynthese, die HMG-CoA-Reduktase, hemmen, steht Patienten mit Hypercholesterinämie eine wirksame Behandlungsoption zur Verfügung, die die Senkung von Plasmacholesterinspiegeln bewirkt und eine Reduktion der Mortalität kardiovaskulärer Erkrankungen zur Folge hat (4, 5, 22). Die Ergebnisse einer Subgruppenanalyse der 4S-Studie deuten jedoch darauf hin, dass Patienten mit hoher Baseline-Cholesterinresorption nicht auf eine Statintherapie ansprechen (23, 24). Daher wurde, insbesondere für Patienten mit hohen Phytosterol-Ausgangswerten, die zusätzliche Anwendung von Inhibitoren der Cholesterinresorption vorgeschlagen (23-26). Eine Hemmung der Cholesterinresorption ist mit einer neuen Wirkstoffklasse, den Azetidionen, möglich, welche die Cholesterinresorption über das NPC1L1-Protein blockieren, was zur Senkung der Plasmacholesterinspiegel führt (27, 28). Eine alternative, nicht medikamentöse Therapie besteht im Verzehr „funktioneller“ Lebensmittel mit Zusätzen von Phytosterolen oder Phytostanolen, die Cholesterin in Gallensalzmizellen kompetitiv verdrängen (29-31). Dies führt zur Verringerung der intestinalen Cholesterinresorption und Senkung des Gesamtcholesterins im Plasma um 10 - 15 % . Diese Vorgehensweise ist insbesondere bei Patienten mit hoher Cholesterinresorption und niedriger Cholesterinsyntheserate von Nutzen (32). Die Wirksamkeit einer Inhibierung der Cholesterinresorption im Hinblick auf eine Reduktion schwerer kardiovaskulärer Ereignisse bleibt jedoch ungeklärt, da Ergebnisse klinischer Studien zur Untersuchung dieser Frage noch ausstehen. Zur

Optimierung der therapeutischen Optionen zur Behandlung von erhöhtem Serumcholesterin mit dem Ziel der Reduktion des kardiovaskulären Risikos ist daher ein besseres Verständnis der Cholesteinhomöostase im gesamten Körper von Bedeutung (33).

In Vorarbeiten der Arbeitsgruppe konnte gezeigt werden, dass der Verzehr von mit Phytosterolen angereicherter Margarine zu erhöhten Phytosterolspiegeln sowohl im Serum wie auch in den Aortenklappentaschen führt (34). Auf der Grundlage dieser Daten war das Ziel der vorliegenden Dissertationsarbeit, bei Patienten mit schwerer Aortenklappenstenose (AS), die keine cholesterinsenkenden Medikamente erhielten, die Beziehung zwischen hepatischer Cholesterinsynthese (Lathosterol) und intestinaler Cholesterinresorption (Phytosterole) und einer begleitenden koronaren Herzerkrankung zu untersuchen.

2.3. Fragestellung

Es ergeben sich folgende Fragestellungen:

1. Beeinflusst die Cholesterinhomöostase im Sinne einer vermehrten Cholesterinresorption und einer verminderten Cholesterinsynthese das Auftreten einer begleitenden koronaren Herzerkrankung bei Patienten mit operationspflichtiger Aortenklappenstenose ?

Hierzu wurden die Koronarangiogramme von 40 Patienten mit operationspflichtiger Aortenklappenstenose hinsichtlich des Schweregrades einer begleitenden koronaren Herzerkrankung untersucht. Um die „Plaguelast“ des gesamten Koronarsystems in Relation zur Cholesterinhomöostase zu setzen wurde ein Koronarscore nach der Gefäßnomenklatur der *American Heart Association* in Relation zu Cholesterinresorption und Synthese gesetzt.

2. Ist die Cholesterinhomöostase im Sinne einer vermehrten Cholesterinresorption und einer verminderten Cholesterinsynthese mit einer Familienanamnese mit kardiovaskuläre Erkrankungen assoziiert ?

Hierfür wurde beim Aufnahmegespräch im Rahmen des Studieneinschlusses der Patienten eine umfassende Anamnese mit besonderem Augenmerk auf kardiovaskuläre Risikofaktoren und einer Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen erhoben. Die erhobenen Daten wurden in Relation zur Cholesterinresorption und Synthese bei Aufnahme in die Studie gesetzt.

3. Ist die Cholesterinhomöostase im Sinne einer vermehrten Cholesterinresorption und einer verminderten Cholesterinsynthese ein möglicher Prädiktor für eine begleitende koronare Herzerkrankung bei Patienten mit operationspflichtiger Aortenklappenstenose ?

Hierzu wurde mittels logistischer Regressionsanalyse die Stärke aller etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren sowie des Quotienten Cholesterinresorption zu Cholesterinsynthese im Hinblick auf die Prädiktion einer begleitenden koronaren Herzerkrankung ermittelt.

4. Besteht ein Zusammenhang zwischen dem Schweregrad der Aortenklappenstenosen und der Sterolkonzentration im Serum und in Aortenklappentaschen ?

Hierzu wurde die echokardiografisch ermittelte Aortenklappenöffnungsfläche korreliert mit den Sterolkonzentrationen im Serum und in den operativ gewonnenen Aortenklappentaschen.

3. Methoden

3.1. Materialien

3.1.1. Reagenzien

- 5 α -Cholestan (Serva Feinbiochemika GmbH, Heidelberg)
- Cyclohexan (Merck KGaA, Darmstadt)
- n-Dekan (Merck, KGaA, Darmstadt)
- Pyridin (Merck, KGaA, Darmstadt)
- Hexamethyldisilasan (Merck, KGaA, Darmstadt)
- Trimethylchlorosilan (Merck, KGaA, Darmstadt)
- Aqua bidest.
- NaOH 1 mol/L (90% Äthanol) (Merck, KGaA, Darmstadt)
- Äthanol (Merck, KGaA, Darmstadt)
- 3,5-di-tert-butyl-4-hydroxytoluol (BHT) (Merck, KGaA, Darmstadt)
- MeOH (Merck, KGaA, Darmstadt)
- Epicoprostanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München)
- Cholesterin (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München)
- Cholestanol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München)
- Campesterin/Sitosterol (40:60;w/w) (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München)
- Lathosterol (Sigma-Aldrich Chemie GmbH, München)

3.2. Studienpopulation

Patienten im Alter von 18 bis 90 Jahren, die stationär im Universitätsklinikum des Saarlandes aufgenommen wurden, um sich einem Aortenklappenersatz zu unterziehen, kamen für eine Teilnahme an dieser Studie in Frage. Die Aufnahme von Patienten in die Studie erfolgte von August 2003 bis Februar 2005. Am Studienbeginn erfolgte eine umfassende Anamnese mit besonderem Augenmerk auf kardiovaskuläre Risikofaktoren, einschließlich einer Familienanamnese für koronare Herzerkrankungen sowie eine Befragung der Patienten im Bezug auf ihre Ernährungsgewohnheiten. Patienten, die lipidmodifizierende Therapien erhielten, Patienten, die zur Senkung ihrer Serumcholesterolspiegel mit Phytosterolen oder -stanolen versetzte, so genannte „funktionelle Lebensmittel“ verwendeten, sowie Vegetarier wurden von der Studie ausgeschlossen. Alle Teilnehmer unterzeichneten eine Einwilligungserklärung. Das Studienprotokoll wurde von der Ethikkommission der Universität des Saarlandes (Nummer 159/04) genehmigt.

3.3. Verfahren

Am Morgen vor dem anberaumten Aortenklappenersatz wurden venöse Nüchternblutproben entnommen. Blutproben wurden umgehend zentrifugiert und das Plasma bei -70 °C aufbewahrt. Aortenklappen wurden intraoperativ erhalten. Aortenklappentaschen wurden im Operationssaal von den Aortenringen entfernt und mehrfach mit 0,9%iger NaCl-Lösung gewaschen. Sie wurden anschließend bei -70 °C aufbewahrt. Blut- und Gewebeproben wurden verblindet und in randomisierter Reihenfolge an das für die Sterolanalyse zuständige Labor geleitet. Die Plasmakonzentrationen von Cholesterin, Phytosterolen (Campesterol und Sitosterol) sowie von Lathosterol wurden wie nachfolgend beschrieben mithilfe von gaschromatografisch und gaschromatografisch-massenspektrometrischen (GC/MS)

Analysen bestimmt (35). Plasma-Lipoproteinprofile wurden unter Verwendung enzymatischer Methoden analysiert (36). Die Bestimmung von HDL erfolgte nach Präzipitation der Apolipoprotein-B-haltigen Lipoproteine (37); LDL wurden mithilfe der Friedewald-Formel berechnet (38). Für die Sterolanalyse in Aortenklappen wurde das entnommene Material im Vakuum gefriergetrocknet und für 2 Tage in 1 ml Chloroform/Methanol (2:1) überführt. Ein Aliquot der Chloroform-Methanol-Mischung wurde wie bereits beschrieben für die GC/MS-Analyse der Sterole verwendet (34). Die GC/MS-Analyse wurde im Institut für klinische Chemie und Pharmakologie Universitätsklinikum in Bonn wie folgt durchgeführt:

3.3.1. Probenaufarbeitung

Die Sterole in den Serumproben wurden zur gaschromatographischen Trennung mit anschließender Flammenionisationsdetektion oder massenselektiver Detektion zunächst in ihre freie Form gebracht. Danach werden die freien Sterole extrahiert und mittels eines Silylierungsreagenzes in einen Silylsterinäther umgewandelt.

- Die tiefgefrorenen Serumproben wurden bei Raumtemperatur aufgetaut.
- 1 µg Epicoprostanol (10 µl einer Stammlösung von 100 µg/ml in Cyclohexan), 50 µg 5a-Cholestan (50 µl einer Stammlösung von 1 mg/ml in Cyclohexan) wurden als interne Standards zu 100 µl der Serumprobe bei Raumtemperatur in einem Teflon-beschichteten Reagenzglas mit Schraubverschluss zugesetzt.
- Zur Vermeidung von autoxidativen Prozessen wurden außerdem noch 50 ng 3,5-di-*tert*-butyl-4-hydroxytoluene (BHT) (10 µl aus einer Stammlösung von 50 mg BHT/10 ml MeOH) zugesetzt.

- Zur alkalischen Hydrolyse wurde das Probengemisch nach Zusatz von 1 ml 90%-iger äthanolischer NaOH-Lsg. (1M) im Wasserbad bei 68°C über 1 Stunde inkubiert.
- Nach Abkühlen auf Raumtemperatur und Zusatz von 500 µl aqua bidest. wurden die freien Sterole zweimal in 3 ml Cyclohexan extrahiert.
- Die vereinigten organischen Phasen wurden unter Stickstoffbegasung bei 65°C getrocknet.
- Die Hydroxylgruppen der Sterole wurden nach Zugabe von 1 ml eines Trimethylsilylierungsreagenzes (Pyridin-Hexamethyldisilasan-Trimethylchlorosilan, 9:3:1; v/v/v) zum Rückstand nach 1-stündiger Inkubation bei 65°C zu Trimethylsilyläthern derivatisiert.
- Die restlichen Silylierungsreagenzien wurden daraufhin unter Stickstoffbegasung bei 65°C verdampft.
- Der Überstand wurde in 160 µl n-Dekan gelöst.
- 80 µl dieses Gemisches an Sterintrimethylsilyläthern in n-Dekan wurden in die Mikroeinsätze der Glasphiolen für die GC-MSD-Analyse überführt.
- Die übrigen 80 µl wurden mit 500 µl n-Dekan für die GC-FID-Analyse verdünnt.
- Die Glasphiolen wurden zur eindeutigen Identifizierung beschriftet.

3.3.2. Beschreibung der Analyseverfahren

Cholesterinorstufen und pflanzliche Sterole liegen im Serum in einer 10^3 -fach geringeren Konzentration als ihre Ausgangssubstanz Cholesterin vor. Daher wird die Konzentration des Cholesterins in Serumproben durch die weniger spezifische, selektive und sensitive Flammenionisationsdetektion bestimmt, während die

Cholesterinvorstufen und Phytosterole durch die hochspezifische massenselektive Detektion erfasst werden.

3.3.3. Durchführung der Analysen

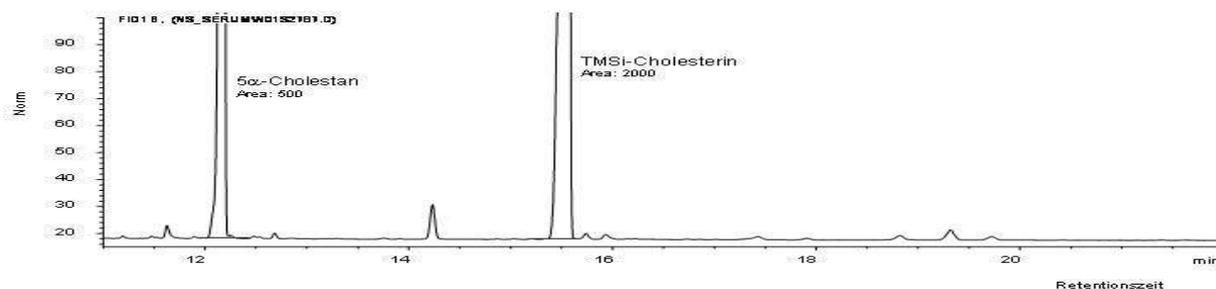
3.3.3.1. Durchführung der Analyse mittels Gaschromatographie-Flammenionisationsdetektion

Das Steroltrimethylsilyläthergemisch wurde mit einem HP 7683 Injektor auf eine vernetzte Methylsilikon DB-XXL 122-1232 Kapillarsäule (J&W, Folsom, USA) (30m x 0,25 mm Innendurchmesser x 0,25 µm Schichtdicke) in einem Hewlett Packard Gaschromatographen (HP 6890) nach splittloser Injektion bei 280°C injiziert. Der Trägergasfluss – in unserem Falle: Wasserstoff - betrug 1,1 ml/min. Die Ofentemperatur wurde zu Beginn für 3 min bei 150°C gehalten und dann die Temperatur mit einer Steigerungsrate von 30°C/min auf eine Endtemperatur von 290°C geführt. Diese Temperatur blieb über 33 min konstant. Der interne Standard 5 α -Cholestan wurde mit einer Retentionszeit von 12,0 min und der Cholesterintrimethylsilyläther mit einer Retentionszeit von 15,88 min im Flammenionisationsdetektor (FID) bei 280°C mit einem kombinierten konstanten Säulen- und Make-up-Fluss (Wasserstoff + Stickstoff; 30 ml/min) detektiert. Die Steuerung des Gaschromatographen und die Auswertung der Gaschromatogramme sowie die Quantifizierung erfolgte durch die HP GC ChemStation Software (Version 2.1.1.0) auf einem Kayak XA Pentium II-Computer. Abbildung 1 zeigt eine gaschromatographische Trennung von 5 α -Cholestan und Cholesterin. Zur **Quantifizierung** wird der integrierte Flächeninhalt des Cholesterinpeaks durch den Flächeninhalt des 5 α -Cholestanpeaks dividiert und mit dem vorgegebenen Gehalt

an internem Standard von 50 µg multipliziert. Dies ergibt den Gehalt an Cholesterin in µg pro Probe. Bei einer eingesetzten Menge von 200 µl muss man diesen Betrag noch auf 100 ml umrechnen, um die Cholesterinkonzentration in mg/dl anzugeben. Zur **Validierung dieser Einpunkt-Eichmethode** mit 5α-Cholestan als internem Standard wurden die Ergebnisse der Serumkonzentrationen von Cholesterin einer Einpunkt-Eichung gegenüber einer erstellten Eichgerade verglichen. Die Ergebnisse zeigten gute Übereinstimmung beider Eichverfahren. Abbildung 12 zeigt die Eichkurve für Cholesterin mit 5α-Cholestan als internem Standard in einem Konzentrationsbereich zwischen 0 und 200 µg/Probe. Zur **Präzision der Methode** wurde die gleiche Serumprobe sechsfach aufgearbeitet und gemessen (Wiederholbarkeit), sowie eine aufgearbeitete Probe nach Silylierung sechsmal hintereinander injiziert um die Stabilität des Messinstrumentes zu zeigen. Für die Wiederholbarkeit der Einpunkt-Methode ergab sich ein Variationskoeffizient von 1,45 (n=6) und für die Stabilitätsmessung des GC-FID ein Variationskoeffizient von 1,6 (n=6). Die **Nachweisgrenze einer Substanz** wird normalerweise ermittelt, indem man bekannte niedrige Konzentrationen des Analyten mit substanzfreiem Medium gegenüberstellt und die minimale Konzentration ermittelt, bei der der Analyt gerade noch erfasst werden kann. Ein Signal-Rausch-Verhältnis von 3:1 wird zur Bestimmung der Nachweisgrenze akzeptiert. Bei der Bestimmung von Cholesterin im Serum gibt es bezüglich der Nachweisgrenze für Cholesterin kein Problem. Daher wird die Nachweisgrenze (limit of detection) für die GC-FID-Methode auf < 0.1 mg/dl durch den niedrigsten Punkt unserer Eichkurve festgelegt. Für die **Bestimmungsgrenze** (Limit of quantitation) in biologischen Matrices wird ein Signal-Rausch-Verhältnis von 10:1 festgelegt. Der Einfluss der chromatographischen Basislinie kann für den Analyten Cholesterin vollständig vernachlässigt werden. Das Signal-Rausch-Verhältnis übersteigt hier die Bestimmungsgrenze erheblich. Die

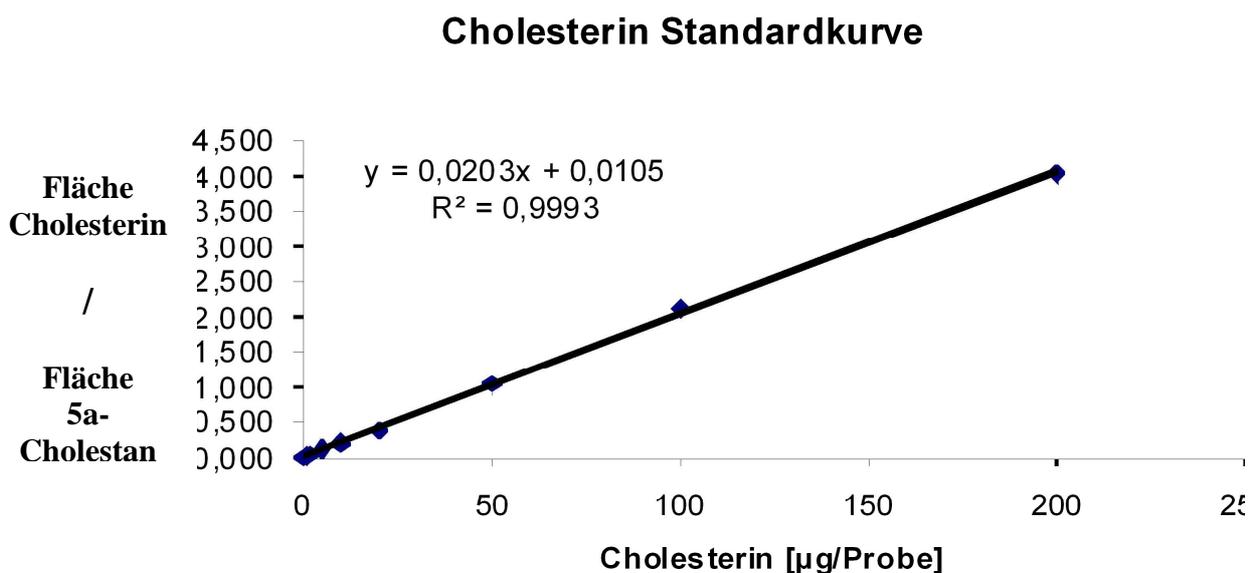
Reinheit der Referenzsubstanzen wurde mittels GC-FID und GC-MSD bestätigt und die Stammlösungen wurden bei 4°C unter Lichtausschluss aufbewahrt. Pipetten und Wägeeinheiten wurden turnusmässig validiert.

Abbildung 1



Gaschromatogramm eines Serumsterolgemisches zur Quantifizierung von Cholesterin mittels GC-FID.

Abbildung 2



Eichkurve für Cholesterin mit 5a-Cholestan als Internem Standard.

3.3.3.2 Durchführung der Analyse mittels Gaschromatographie-massenselektiver Detektion

Die säulenchromatographische Trennung des Sterol-/Stanolsilylgemisches erfolgte auf einer 30 m DB-XLB Kapillarsäule mit Helium als Trägergas. Der Trägergasfluss betrug 1.0 ml/min. Das Temperaturprogramm startete gleichfalls mit einer Temperatur von 150°C für 1 min und wurde mit einer Steigerungsrate von 30°C/min auf 290°C fortgeführt. Die Endtemperatur wurde über 30 Minuten gehalten. Die Injektor- und Transferlinientemperatur wurde auf 280°C fest eingestellt. Die Multiplierspannung lag bei 2700 Volt. Der Elektronenstrom an der Kathode betrug 220 mA und die Elektronenimpakt-Ionisationsspannung wurde auf 70eV festgelegt. Das Selected-Ion-Monitoring für ausgewählte selektive Ionen wurde im Daten-Acquirierungsprogramm so eingestellt, dass der Quadrupolmassenfilter mit einer Zyklusrate von 2,0 Zyklen/sek innerhalb der gewählten m/z-Werte arbeitete. Vor jeder größeren Analysensequenz wurde zur Optimierung der Messeigenschaften des MSD eine vorgegebene automatische Selbstjustierung mittels einer definierten Substanz (PFTBA) in Form eines „Autotunes“ durchgeführt. Der SIM-Modus wurde mit dem Ion m/z 370 für Epicoprostanol begonnen. In Tabelle 1 sind die Retentionszeiten und spezifischen Massen für jede gemessene Substanz aufgelistet.

Tabelle 1: Parameter zur gaschromatographischen Trennung und massenselektiven Detektion von Trimethylsilylsterin- und stanoläthern

No.	TMSi-Äther von	Kategorie	Retentionszeit [min]	m/z Werte
1	Epicoprostanol	ISTD	16,9	370
2	Cholestanol	Cholesterinmetabolit	18,9	306, 460
3	Lathosterol	Cholesterinvorstufe	20,3	458
4	Campesterol	Phytosterol	21,3	472
5	Sitosterol	Phytosterol	23,8	486

Für jedes zu messende Sterol wurde eine eigene Eichgerade erstellt, die darüber Aufschluss gab, ob integrierte Peakflächen und eingesetzte Substanzkonzentrationen linear verlaufen. Dies ist Voraussetzung für eine quantitative Bestimmung. Steigende Mengen an Sterolen, denen je gleiche Mengen an Epicoprostanol zugesetzt wurden, wurden mittels Gaschromatographie/Massenspektrometrie im SIM-Modus gemessen und das Verhältnis der Peakfläche des unmarkierten zu der des jeweiligen Internen Standards gegen die eingesetzten Substanzmengen (ng) aufgetragen.

Zur **Identifizierung** der jeweiligen Substanzen wurde die Identität der Massenspektren aller Substanzen, die mittels GC-MSD-SIM aus Serumproben bestimmt wurden, durch den Vergleich der Massenspektren mit authentischen Referenzsubstanzen bestätigt. Selbst Analyte, die gaschromatographisch nicht eindeutig voneinander abgetrennt werden konnten, konnten aufgrund ihrer spezifischen Massen voneinander unterschieden und quantifiziert werden. Die Linearität der Eichkurven, die **Spannweite** und die **Quantifizierungsgrenze** (QG)

wurde für jede einzelne Substanz überprüft und wir erhielten für die Sterole folgende Charakteristika:

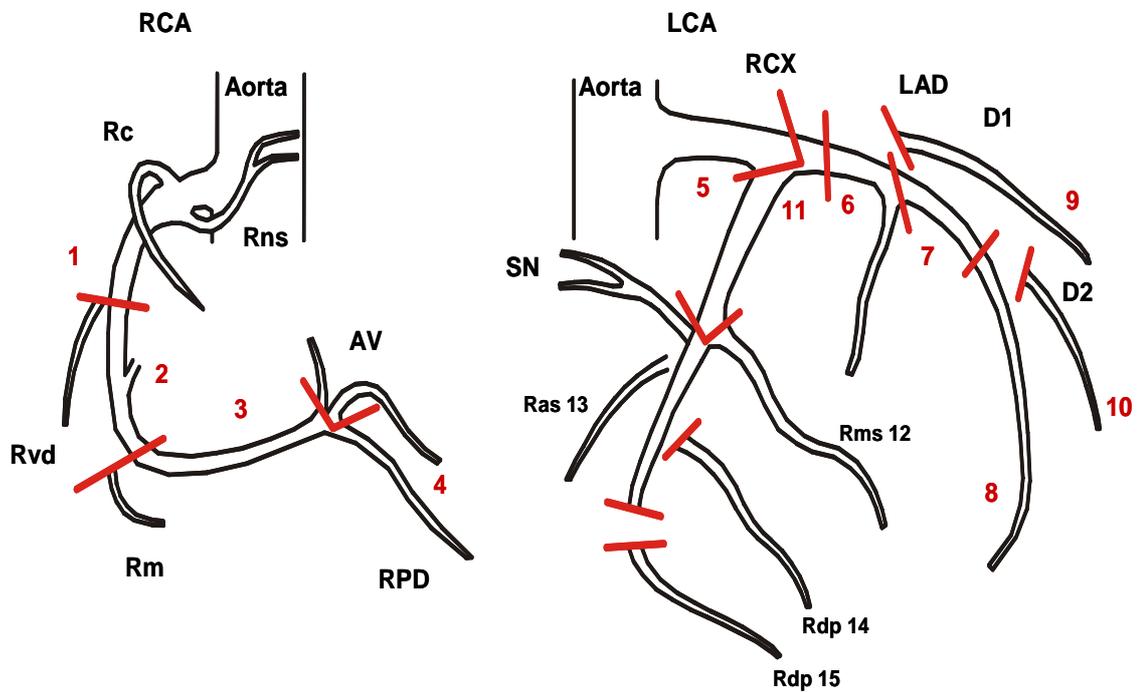
Tabelle 2: Eichgeradencharakteristika und Nachweisgrenzen

Analyt	Achsenabschnitt	Steigung	R ²	Spannweite	QG
Cholestanol	-0,0002	0,1486	0,9999	0,04-9.0 mg/dl	0,02 µg/dl
Lathosterol	-0,004	0,760	0,9999	0,01-3.2 mg/dl	0,02 µg/dl
Campesterol	-0,0025	0,2451	0,9999	0,02-55.6 mg/dl	0,02 µg/dl
Sitosterol	-0,0056	0,2221	0,9999	0.35-83.9 mg/dl	0,06 µg/dl

3.4. Evaluierung einer begleitenden KHK

Mit Hilfe der Koronarangiografie wurden Patienten auf eine gleichzeitig bestehende KHK untersucht. Der Befund der Koronarangiografie wurde im Fall einer mindestens 50%igen Stenose eines Gefäßes als pathologisch interpretiert. Eine Koronargefäßkrankung wurde im Koronarangiogramm als Ein-, Zwei- oder Drei-Gefäß-Erkrankung identifiziert. Zur detaillierten Auswertung des Ausmaßes der Koronargefäßkrankung errechneten wir ein „Koronarscore“ nach der Koronarsegmenteinteilung der *American Heart Association* (39). Hiernach wird das Koronargefäßsystem in 15 konsekutive Segmente unterteilt. Siehe Abbildung 3. Entsprechend dem jeweiligen Stenosegrad wurde jedem Koronarsegment ein Score von 0 bis 4 Punkten zugeordnet. Die Summe der für alle Koronargefäße angiografisch erhaltenen Punkte ergab den „Koronargefäß-Score“ für den jeweiligen Patienten. Der Koronargefäß-Score erlaubt einen detaillierten Rückschluss auf die Ausbildung atherosklerotischer Läsionen im gesamten Koronararteriensystem.

Abbildung 3



Einteilung der Koronarsegmente nach der *American Heart Association*.
 0 Punkte = keine Plaques; 1 < 50%; 2 = 50-70%; 3 > 70 %; 4 =
 Verschluss

3.5. Evaluierung des Ausmaßes einer Aortenklappenstenose

Zur Ermittlung der Schwere der AS wurde vor dem Ersatz der Aortenklappe deren Öffnungsfläche echokardiografisch bestimmt. Die Berechnung der Öffnungsfläche der Aortenklappe erfolgte mittels Kontinuitätsgleichung (40).

3.6. Statistische Methoden

Die Ergebnisse werden als Mittelwerte \pm SD angegeben. Die Testung auf Unterschiedlichkeit zweier Gruppen erfolgte unter Anwendung von zweiseitigen Student-T-Tests. Zur Prüfung auf Unterschiede zwischen mehr als zwei Gruppen diente die ANOVA-Analyse, gefolgt von der Durchführung des Bonferroni-Tests. Bei nicht normal verteilten Daten erfolgte eine logarhythmische Transformation mit dem Ziel der Varianzstabilisierung und konsekutiver Normalverteilung. *P*-Werte unterhalb von 0,05 galten als Indikatoren einer statistischen Signifikanz. Für die Quantifizierung von Korrelationen wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman verwendet. Mithilfe einer logistischen Regressionsanalyse wurde eine begleitende KHK in Relation zu anderen vorliegenden kardiovaskulären Risikofaktoren und insbesondere die Ausrichtung der Cholesterinhomöostase im Sinne einer vermehrten Cholesterinresorption und einer verminderten Cholesterinsynthese auf Signifikanz geprüft. Alle statistischen Verfahren wurden unter Einsatz von Software der Firma SPSS (Chicago, Illinois) vorgenommen.

4. Ergebnisse

4.1. Patientencharakteristika

Vierzig von 102 Patienten mit AS, die als Kandidaten für einen Aortenklappenersatz stationär in unsere Klinik aufgenommen wurden, erfüllten die Einschlusskriterien für die Studie. Zweiundsechzig Patienten wurden nicht in die Studie aufgenommen, da sie zur Senkung ihrer Serumcholesterinspiegel lipidmodifizierende Arzneimittel erhielten oder „funktionelle Lebensmittel“ verzehrten. Das Alter der Studienteilnehmer lag zwischen 44 und 83 Jahren, die echokardiografisch ermittelten Öffnungsflächen der Aortenklappen betrug zwischen 1,40 und 0,33 cm². Bei achtzehn Patienten war im Koronarangiogramm eine begleitende koronare Herzerkrankung zu erkennen. Bekannte kardiovaskuläre Risikofaktoren waren gleichmäßig auf die Patientengruppen mit und ohne koronare Herzerkrankung verteilt. In Tabelle 3 sind die demografischen Baselinedaten dargestellt.

Tabelle 3

Patientencharakteristika

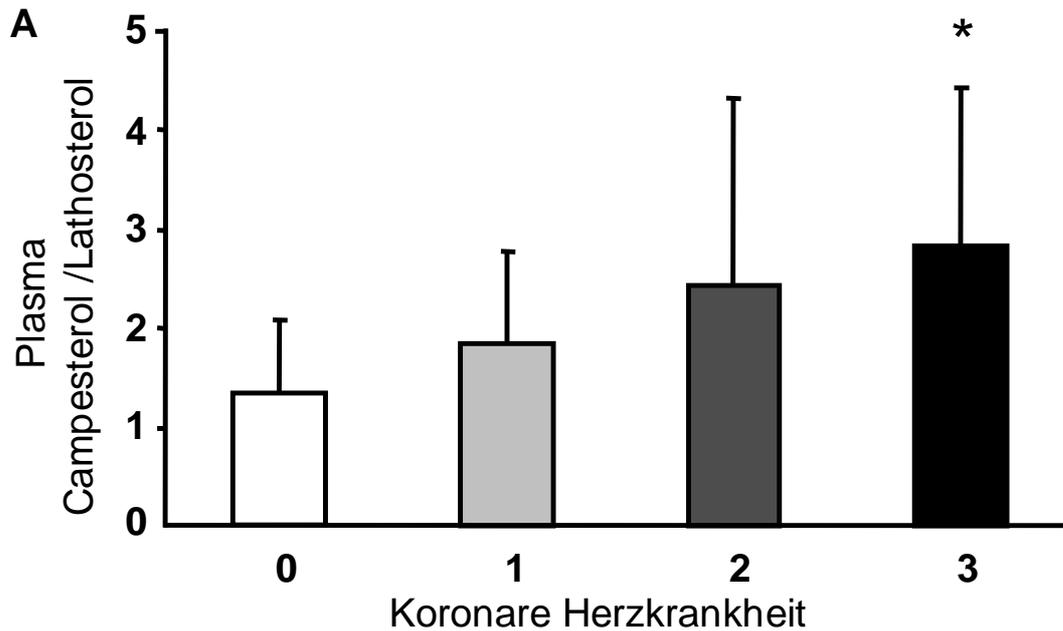
Patienten Charakteristika	Gesamt	keine KHK	1-Gefäß KHK	2-Gefäß KHK	3-Gefäß KHK
n	40	22	6	4	8
Alter (in Jahren)	71 ± 9	68 ± 11	71 ± 7.8	75 ± 9	73 ± 3.3
Männliches Geschlecht	29	18	1	3	7
Risikofaktoren	n (%)				
Diabetes mellitus	8 (20)	4 (50)	2 (25)	0 (0)	2 (25)
Hyperlipidemie	7 (17.5)	3 (42.9)	2 (28.6)	1 (14.3)	1 (14.3)
Arterielle Hypertonie	12 (30)	6 (50)	2 (16.6)	2 (16.6)	2 (16.6)
Rauchen	18 (45)	10 (55.5)	2 (11.1)	0 (0)	6 (33.3)
Positive Familienanamnese	16 (40)	7 (43.7)	4 (25)	1 (6.3)	4 (25)
Body Mass Index (kg/m ²)	27.2±4.0	26.8±3.7	26±5.1	27±4.8	29±4.3
Gesamtcholesterin (mg/dl)	187±59	198.3±49	214±86.1	171±43.4	143±56.5
Plasma Campesterol (mg/dl)	0.269±0.152	0.286±0.166	0.313±174	0.242±0.138	0.204±0.093
Plasma Lathosterol (mg/dl)	0.188±0.099	0.234±0.089	0.185±0.089	0.135±0.071	0.092±0.067*
Plasma Campesterol/Cholesterin	1.43±0.64	1.39±0.61	1.47±0.69	1.51±0.93	1.47±0.66
Plasma Lathosterol/Cholesterin	0.998±0.459	1.217±0.476	0.872±0.246	0.773±0.247	0.604±0.235*
Plasma Campesterol/Lathosterin	1.83±1.25	1.33±0.8	1.84±1.0	2.42±1.9	2.87±1.6*
LDL-Cholesterin im Plasma (mg/dl)	114.1±34.5	117.9±27.7	127.8±42.9	101.5±3	99.6±29.5
HDL-Cholesterin im Plasma (mg/dl)	49.8±13.4	50.6±10.2	48.8±18.7	53.5±1	46.3±18.3
Triglyceride im Plasma (mg/dl)	113.9±39.5	114.64±37.89	131.5±48.0	99.5±21.2	105.75±45.5
Aortenklappenöffnungsfläche (cm ²)	1.03±0.40	0.76±0.28	0.67±0.16	0.51±0.07	0.55 ±0.13

4.2. Zusammenhang zwischen Cholesterinresorption und -synthese und koronarer Herzkrankheit

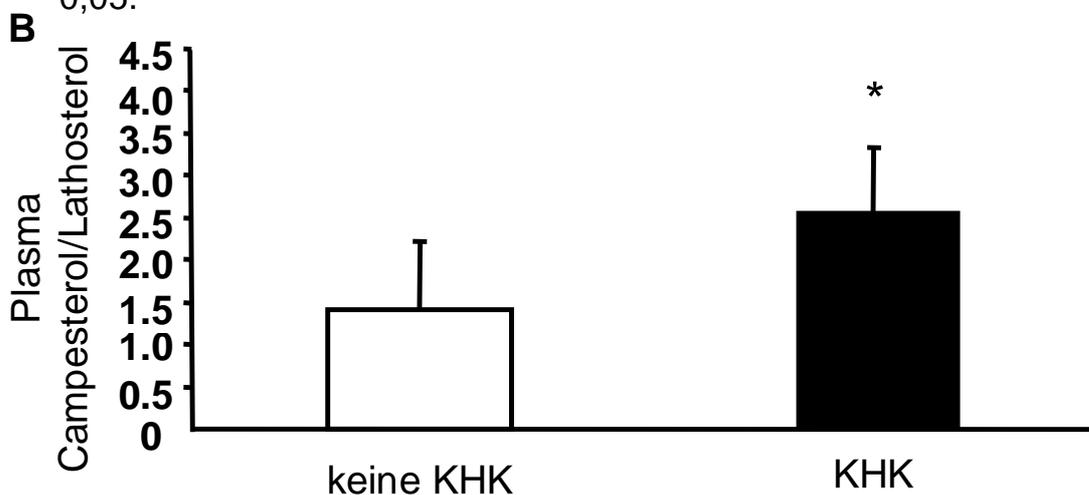
Bei achtzehn von vierzig Patienten wurde angiografisch eine begleitende KHK diagnostiziert. Sechs Patienten hatten eine koronare Eingefäßerkrankung, bei vier Patienten wurde eine koronare Zweigefäßerkrankung diagnostiziert und acht Patienten hatten eine koronare Dreigefäßerkrankung. Im Bezug auf die Plasmacholesterinspiegel zeigten sich bei Patienten mit und ohne koronare Herzkrankheit keine Unterschiede (siehe Tabelle 3). Die absoluten Plasmakonzentrationen von Phytosterolen (Campesterol, Sitosterol) und Lipoproteinfraktionen unterschieden sich nicht zwischen Patienten mit und ohne begleitende KHK (Tabelle 3). Das Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol nahm jedoch mit steigendem Ausmaß von atherosklerotischen Läsionen im Koronararteriensystem stetig und signifikant zu (p for trend < 0,005; Abb. 4). Diese signifikante Beziehung beruhte auf der mit zunehmendem Ausmaß der Koronargefäßerkrankung reduzierten Lathosterolkonzentration (p for trend < 0,001).

Für die Analyse der Beziehung zwischen Cholesterinmetabolismus und begleitender KHK wurde für jeden Patienten anhand der Koronarangiogramme der Koronargefäß-Score ermittelt. Die Analysen von Plasma- und Serumsterolkonzentrationen ließen keinen Schluss auf eine Korrelation zwischen Cholesterin und dem Ausmaß einer begleitenden KHK zu. Ebenso bestand keine Korrelation zwischen den absoluten Phytosterol-Plasmakonzentrationen sowie deren Quotient zu Cholesterin. Zwischen dem Quotient von Resorption und Synthese, deren Ausmaß durch Phytosterole (Resorption) und Lathosterol (Synthese)

Abbildung 4



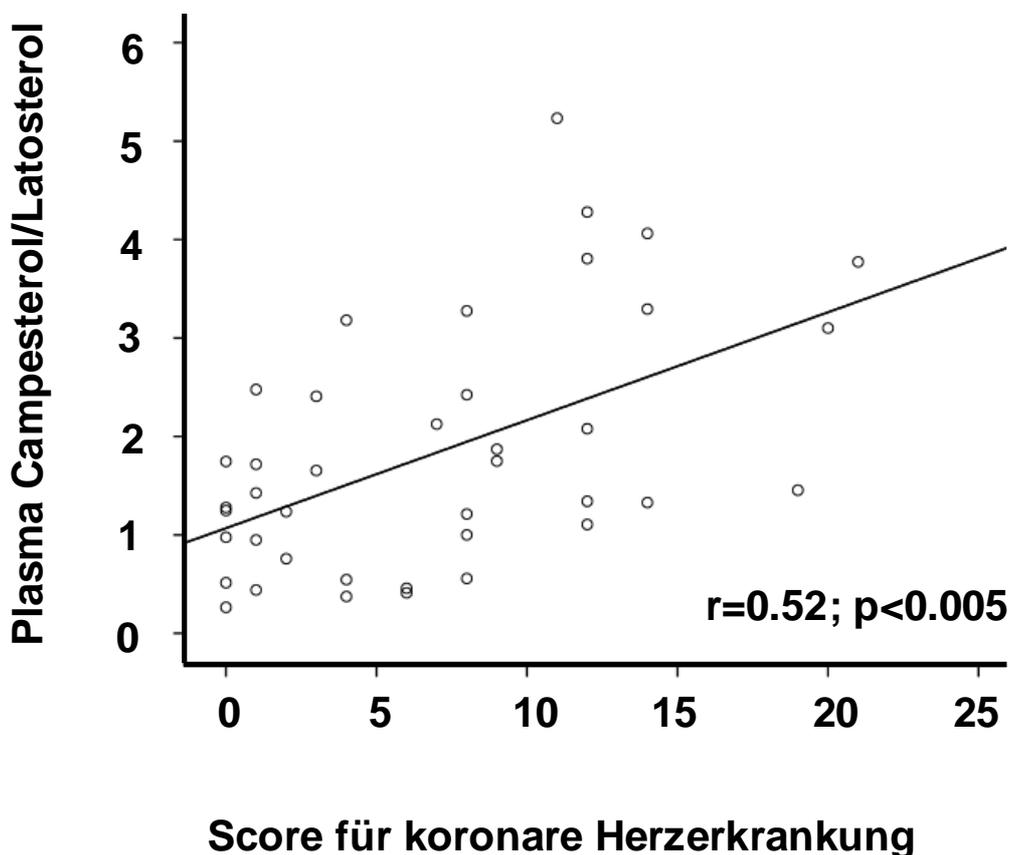
Plasma Campesterol/Lathosterol in Abhängigkeit von der koronaren Herzkrankheit. 0 - keine KHK, n=22, 1-koronare Eingefäßkrankung (n=6). 2 - koronare Zweigefäßkrankung (n=4). 3 - koronare Dreigefäßkrankung (n=8). *p for trend < 0,05.



Plasma Campesterol/Lathosterol bei Patienten mit (n=18) und ohne KHK (n=22). * p<0,05.

charakterisiert wird, in Plasma und Aortenklappentaschen bestand jedoch eine signifikante Korrelation. Dies traf sowohl für den Quotienten von Campesterol zu Lathosterol in Plasma ($r = 0,52$; $p < 0,001$) und den Aortenklappentaschen ($r = 0,33$; $p < 0,05$) als auch auf den Quotienten von Sitosterol zu Cholesterin im Plasma ($r = 0,57$; $p < 0,0005$) und den Aortenklappentaschen ($r = 0,37$; $p < 0,05$) zu (siehe auch Abbildung 5 für den Quotienten von Campesterol zu Lathosterol in Plasma).

Abbildung 5



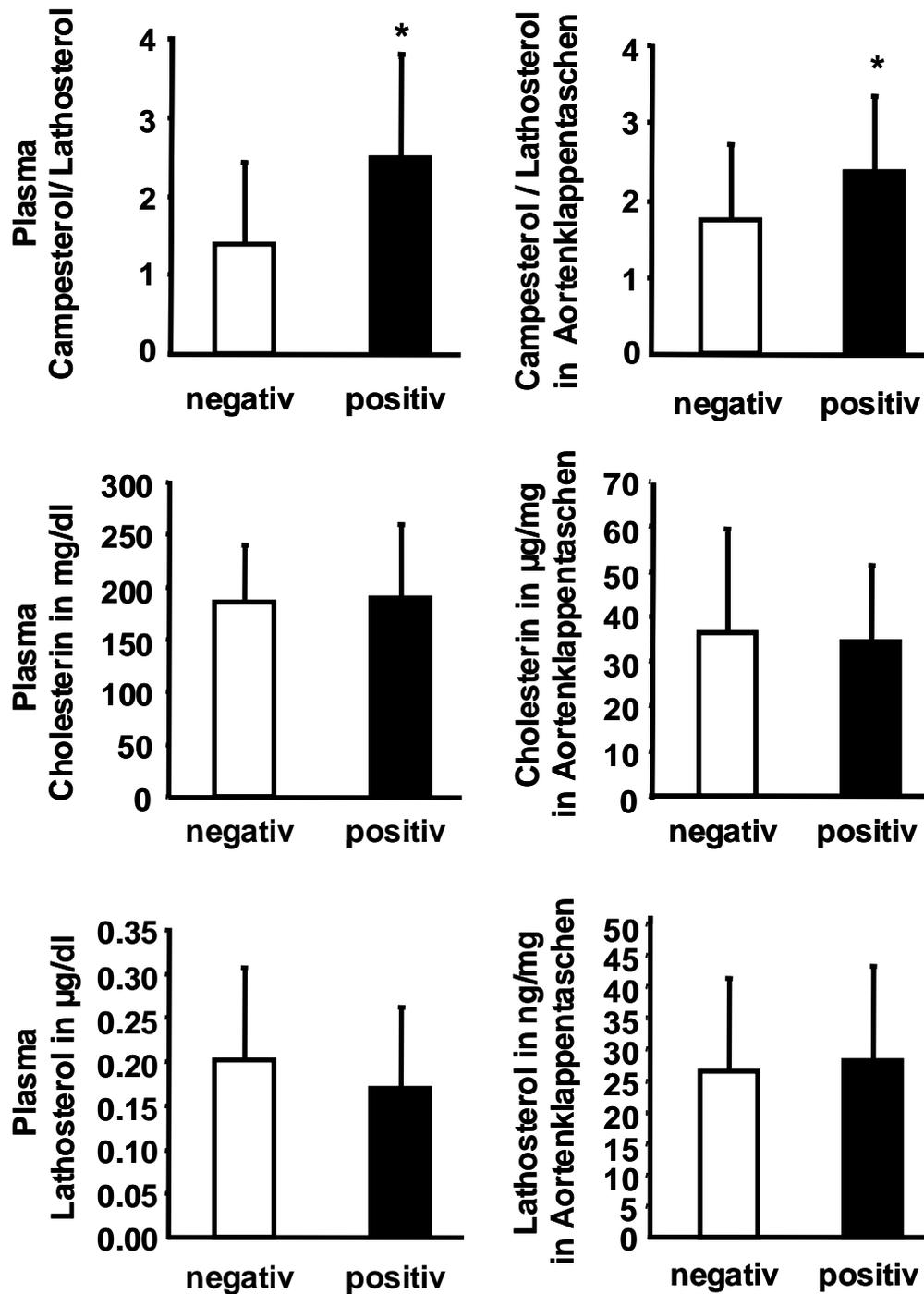
Plasma Campesterol/Lathosterol in Relation zu Schweregrad der begleitenden koronaren Herzerkrankung. $r=0.52$; $p<0,005$.

Wie in der vorausgehenden Analyse der Koronarangiogrammen gezeigt, lag dieser Beziehung der Plasmasterolkonzentrationen eine negative Korrelation der Synthese von Lathosterol im Serum zugrunde ($r = -0,59$; $p < 0,0005$). Für die absoluten Phytosterolkonzentrationen wurde keine Korrelation festgestellt (Campesterol in Plasma: $r = 0,016$; $p < 0,992$; Sitosterol in Plasma: $r = 0,09$; $p < 0,59$). Die Absolutkonzentrationen von Cholesterin ($r = 0,27$; $p < 0,1$) und Lathosterol ($r = -0,016$; $p < 0,92$) in Aortenklappentaschen und von Phytosterolen (Campesterol: $r = 0,25$; $p < 0,1$); Sitosterol: $r = 0,24$; $p < 0,1$) korrelierten nicht signifikant mit den in den Koronarangiogrammen erkennbaren atherosklerotischen Läsionen.

4.3. Beziehung zwischen Cholesterinresorption und -synthese und der Familienanamnese für koronare Herzkrankheiten

Fünfzehn von vierzig Patienten hatten eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen, definiert als Manifestation einer kardiovaskulären Erkrankung vor dem 55. Lebensjahr (männliche Studienteilnehmer) bzw. dem 65. Lebensjahr (weibliche Studienteilnehmer). Bei den Patienten mit positiver Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen ($n = 15$) wurde im Vergleich zu denen ohne eine solche Anamnese ein erhöhtes Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol im Plasma ($1,38 \pm 1,03$ vs. $2,48 \pm 1,29$; $p < 0,005$) und den Aortenklappentaschen ($1,72 \pm 0,99$ vs. $2,35 \pm 0,99$; $p < 0,05$) nachgewiesen. Siehe ebenfalls Abbildung 6. Interessanterweise bestand kein Unterschied zwischen den Konzentrationen von Cholesterin und dessen Vorläufer Lathosterol im Serum und in Aortenklappentaschen.

Abbildung 6



Campesterol/Lathosterol im Plasma und in Aortenklappentaschen abhängig von positiver Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen.

* $p < 0,05$.

4.4. Cholesterinresorption und -synthese und Prädiktion einer begleitenden koronaren Herzkrankheit im Vergleich zu etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren

Um zu ermitteln, ob Indikatoren der Cholesterinresorption und -synthese bei Patienten mit AS als Prädiktoren einer begleitenden KHK von Nutzen sind, führten wir eine logistische Regressionsanalyse durch. Mittels logistischer Regressionsanalyse wurde ebenfalls untersucht, inwieweit etablierte kardiovaskuläre Risikofaktoren (Alter, Geschlecht, BMI, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus, Rauchen, Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen sowie Gesamtcholesterin im Plasma) zur Vorhersage einer begleitenden KHK herangezogen werden können. Mit Ausnahme des Quotienten von Campesterol zu Lathosterol ($p < 0,016$; Tabelle 4) hatte keiner der etablierten kardiovaskulären Risikofaktoren eine signifikante Vorhersagekraft für das Auftreten einer begleitenden KHK.

4.5. Sterolkonzentrationen und Aortenklappenstenose

Die Öffnungsflächen der Aortenklappen wurden echokardiografisch bestimmt. Es wurde untersucht, ob die Ausrichtung des Cholesterinstoffwechsels im Sinne einer vermehrten Cholesterinresorption und einer verminderten Cholesterinsynthese mit der Schwere einer Aortenklappenstenose im Zusammenhang steht. Zu diesem Zweck wurden Sterolkonzentrationen im Plasma und in den Aortenklappentaschen mit der Aortenklappenöffnungsfläche korreliert. Es bestanden negative Korrelationen zwischen Sterolkonzentrationen in Aortenklappentaschen und der Öffnungsfläche der Aortenklappe (Tabelle 5). Es bestand jedoch keine Korrelation zwischen den

Tabelle 4

Kardiovaskuläre Risikofaktoren	Odds Ratio	95% Konfidenzintervall	Signifikanz
Alter	1.1	.973 - 1.200	0.147
Geschlecht	4.0	.446 - 36.278	0.215
Diabetes mellitus	0.4	.038 - 5.128	0.513
Plasma Gesamtcholesterin	1.0	.974 - 1.007	0.238
Arterielle Hypertonie	6.9	.451 - 107.010	0.165
Rauchen	0.9	.147 - 5.148	0.879
positive Familienanamnese	0.6	.063 - 4.844	0.591
BMI	1.2	.917 - 1.467	0.215
Campesterol/Lathosterol im Plasma	3.3	1.252 - 8.499	0.016

Odds Ratios für das Vorliegen einer begleitenden koronaren Herzerkrankung für etablierte kardiovaskuläre Risikofaktoren und Plasma Campesterol/Lathosterol.

Tabelle 5

Sterolkonzentration in Aortenklappentaschen	Korrelation zur Klappenöffnungsfläche	
Cholesterin	- 0.462;	p<0.005
Lathosterol	- 0.395;	p<0.05
Cholestanol	- 0.405;	p<0.05
Campesterol	- 0.342;	p<0.05
Sitosterol	- 0.372;	p<0.05

Sterolkonzentration in Aortenklappentaschen in Relation zur echokardiographisch ermittelten Klappenöffnungsfläche.

absoluten Plasmakonzentrationen von Campesterol ($r = 0,09$; $p < 0,59$), Sitosterol ($r = 0,07$; $p < 0,69$) und Cholestanol ($r = 0,05$; $p < 0,78$) und der Öffnungsfläche der Aortenklappe. Zwischen den absoluten Plasmakonzentrationen von Cholesterin ($r = 0,04$; $p < 0,84$) und Lathosterol ($r = -0,04$; $p < 0,80$) und der Öffnungsfläche der Aortenklappe zeigte sich ebenfalls keine signifikante Korrelation.

5. Diskussion

Die Ergebnisse deuten auf eine unabhängige Beziehung zwischen Änderungen der Cholesterinhomöostase und KHK bei Patienten mit AS hin. Das Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol, nicht jedoch etablierte kardiovaskuläre Risikofaktoren, war bei dieser Patientengruppe mit einer begleitenden KHK assoziiert. Darüber hinaus zeigten die Daten eine positive Korrelation zwischen dem Verhältnis von Campesterol zu Lathosterol im Plasma und in den Aortenklappentaschen und einer positiven Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen. Diese Beobachtung traf jedoch in dieser Patientengruppe für den etablierten kardiovaskulären Risikofaktor Cholesterin und dessen Vorläufer Lathosterol nicht zu. Aus diesen Ergebnissen geht daher hervor, dass das Profil der Cholesterinhomöostase mit Atherogenese und Manifestationen einer koronarer Herzkrankheiten assoziiert ist. Die vorliegende Dissertationsarbeit zeigte weiterhin eine Korrelation zwischen der Anreicherung von Phytosterolen in Aortenklappentaschen und der Öffnungsfläche der Aortenklappen, was auf die mögliche Rolle von Phytosterolen in der Pathogenese von Aortenklappenerkrankungen hindeutet.

5.1. Cholesterinhomöostase und koronare Herzerkrankung

Niedrige Lathosterol- und hohe Phytosterolquotienten im Plasma sind bei gesunden Menschen ohne lipidmodifizierende Medikation Anzeichen einer niedrigen Cholesterinsyntheserate sowie eines hohen Cholesterinresorptionsgrades. Es liegen jedoch nur wenige Studien vor, in denen die Cholesterinhomöostase im Bezug auf kardiovaskuläre Krankheiten untersucht wurde. Rajaratnam et al. wiesen einen Zusammenhang zwischen dem Cholesterinstoffwechsel und koronarer Herzkrankheit nach (41). In einer Fallkontrollstudie an postmenopausalen Frauen war der Quotient von Phytosterolen (Campesterol und Sitosterol) zu Cholesterin erhöht, und die Vorläufersterole (Lathosterol) sowie deren Quotient zu Cholesterin waren bei Patienten mit koronarer Herzkrankheit reduziert. Ähnliche Ergebnisse wurden von Strandberg et al. in der DEBATE (Drugs and Evidence-Based Medicine in the Elderly)-Studie berichtet (25). Aus dieser populationsbasierten Studie älterer Patienten mit vorausgehender kardiovaskulärer Erkrankung zogen die Autoren den Schluss, dass hohe Cholesterinresorption und eine niedrige Cholesterinsyntheserate die Häufigkeit wiederkehrender kardiovaskulärer Ereignisse erhöhten. In einer Subgruppenanalyse der 4S-Studie zeigten Miettinen et al., dass Patienten mit Cholesterinresorptionsmarkern im höchsten Quartil, nicht von einer Statintherapie profitierten (23). Bei Patienten mit Cholesterinresorptionsraten im höchsten Quartil war die Anzahl koronarer Ereignisse sogar um 15 % erhöht, während sie im niedrigsten Quartil um 38 % reduziert war (24). Auf der Basis dieser Ergebnisse klassifizierten Miettinen und Kollegen Patienten mit hohen Ausgangswerten für die Cholesterinsyntheserate als Responder auf eine Statintherapie und solche mit niedriger Cholesterinsyntheserate als Non-Responder. Erst kürzlich zeigten Silbernagel et al. (42) sowie Matthan et al. (43) Ergebnisse unterschiedlicher

Patientenpopulationen, die diese Beobachtungen unterstützten. In beiden Studien korrelierte das Verhältnis von Markern der Cholesterinresorption zu Markern der Cholesterinsynthese positiv mit KHK und einem erhöhten kardiovaskulären Risiko. SILBERNAGEL et al. berichteten darüber hinaus in einer Nachfolgeuntersuchung der LURIC-Studie, dass eine erhöhte Sterolresorption direkt mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität assoziiert ist (44). In einer kürzlich veröffentlichten großen Studie zeigten Teupser et al. an über 27.000 Patientenproben, dass zwischen dem Steroltransportergen ABCG8, Serumsterolkonzentration und koronarer Herzerkrankung ein direkter Zusammenhang besteht (45). Damit konnte erstmals eine direkte Verbindung zwischen den für den Transport von pflanzlichen Sterolen wesentlichen Lipidgenen und dem Risiko für koronare Herzerkrankung gezeigt werden.

Im Gegensatz dazu zeigten sowohl die EPIC-Norfolk-Studie (46), die LASA-Studie (47), wie auch die kürzlich veröffentlichten Daten der Homburger I like HOME-Studie (48), dass erhöhte Konzentrationen von Markern der Cholesterinresorption nicht mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert sind. Die untersuchten Kohorten dieser Studien unterschieden sich jedoch in den Baselinecharakteristika, was möglicherweise Auswirkungen auf das Krankheitsstadium und nachfolgend die Stärke und Richtung beobachteter Korrelationen hat.

Aus den Ergebnissen dieser Studie geht hervor, dass bei Patienten mit AS eine begleitende KHK und Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen mit hoher Cholesterinresorption und niedriger Cholesterinsyntheserate in Beziehung steht. Weiteren Analysedaten zufolge war der Quotient von Campesterol zu

Lathosterol ein besserer Prädiktor für eine begleitende KHK als etablierte kardiovaskuläre Risikofaktoren.

Eine, wenn auch spekulative, Erklärung für diese Ergebnisse ist die Tatsache, dass niedrige Cholesterinsyntheseraten mit hoher Cholesterinresorption einhergehen. Dadurch wird die lebenslange Plasmaphytosterolbelastung, die einen möglichen, potentiellen kardiovaskulären Risikofaktor darstellt, erhöht (49-53). Dies ist jedoch noch immer umstritten und erfordert weitere Untersuchungen in prospektiven Studien (54-56).

5.2. Cholesterinhomöostase und Aortenklappenstenose

Darüber hinaus zeigten die Ergebnisse dieser Studie eine Korrelation zwischen den Phytosterolkonzentrationen in Aortenklappentaschen und dem Grad der Aortenklappenstenose. Bei Patienten mit Sitosterolämie, einer seltenen, autosomal-rezessiv vererbten Erkrankung, sind die Phytosterol-Plasmakonzentrationen aufgrund erhöhter Resorption und verminderter biliärer Exkretion infolge eines Defekts der ABCG5- oder ABCG8-Transportergene erhöht. Damit sind frühzeitige Atheroskleroserkrankungen und erhöhte Risiken für Koronararterien- und Aortenklappenerkrankungen assoziiert (57-60).

In der vorliegenden Studie zeigte sich eine Korrelation zwischen Sterolkonzentrationen in Aortenklappentaschen und dem Schweregrad der Aortenklappenstenose, die auf eine mögliche Beteiligung von Cholesterin, dessen Vorläufern sowie Phytosterolen an der Pathogenese von Aortenklappenerkrankungen hindeutet. Diese Hypothese wurde durch eine bereits publizierte Studie unterstützt (61), konnte jedoch durch die kürzlich publizierten Ergebnisse der SEAS (Simvastatin and Ezetimibe in Aortic Stenosis)-Studie widerlegt werden (62). In der genannten Studie konnte eine lipidmodifizierende

Behandlung mit Simvastatin und Ezetimib, die zur Senkung der Serumkonzentrationen von Cholesterin und Phytosterolen führt, die Progression einer Aortenklappenstenose im Vergleich zu Placebo nicht aufhalten. Die Ergebnisse der Studie zeigten jedoch ebenfalls, dass die lipidmodifizierende Kombinationstherapie zur Reduzierung des sekundären Endpunkts (ischämische Ereignisse) führte, der sich aus den Komponenten nicht tödlicher Myokardinfarkt, koronare Bypass-Operation (CABG), PCI, stationäre Behandlung einer instabilen Angina, nicht-hämorrhagischer Schlaganfall und kardiovaskulärer Tod von Patienten mit Aortenstenose zusammensetzt. Aus diesem Grund sind für ein besseres Verständnis der Rolle von Phytosterolen bei kardiovaskulären Erkrankungen weitere Studien erforderlich.

5.3. Cholesterinhomöostase und Prädiktion von kardiovaskulärem Risiko

Trotz der geringen Studienpopulation dieser Querschnittsstudie und der Tatsache, dass eine logistische Regressionsanalyse wahrscheinlich aufgrund zu geringer statistischer Power keine signifikante Korrelation zwischen traditionellen Risikofaktoren und begleitender KHK nachweisen konnte, stellte der Quotient von Campesterol zu Lathosterol dennoch einen signifikanten Prädiktor für eine begleitende KHK dar. Größere epidemiologische Studien, wie die Framingham-Offspring-Studie und die LURIC-Studie, in denen unterschiedliche Patientenpopulationen untersucht wurden, bestätigen die Daten der vorliegenden Dissertation, denen zufolge Marker der Cholesterinhomöostase gute Prädiktoren einer KHK-Grunderkrankung und eines erhöhten kardiovaskulären Risikos sind (42-44).

5.4. Einschränkung der Studienergebnisse

Die Studie hat einige Einschränkungen: Die Ernährungsgewohnheiten der Studienteilnehmer wurden vor Studienbeginn nicht im Detail überprüft. Daher ist nicht auszuschließen, dass Variationen der Essgewohnheiten signifikante Auswirkungen auf die Konzentrationen der mit der Nahrung zugeführten Phytosterole haben. Darüber hinaus war eines der Einschlusskriterien für diese Studie eine mäßige bis schwere AS. Aus diesem Grund kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Ergebnisse nur auf Patienten mit Aortenklappenstenose zutreffen.

5.5 Potentielle klinische Bedeutung der Befunde

Die mögliche klinische Bedeutung der Ergebnisse der vorliegenden Dissertation ist, dass bei Patienten mit verminderter Cholesterinsyntheserate und hoher Cholesterinresorption das bestehende kardiovaskuläre Risiko reduziert werden kann, wenn nicht nur Wirksubstanzen der endogenen Cholesterinsynthesehemmung eingesetzt werden, sondern darüber hinaus in Kombination die Cholesterinresorption gehemmt wird (63). Diese Hypothese muß prospektiv klinisch geprüft werden (64).

Zusammenfassend ist festzuhalten, dass das Ausmaß einer begleitenden KHK sowie eine positive Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen positiv mit dem Verhältnis von Cholesterinresorption zu Cholesterinsynthese korreliert. Als Indikator dafür dient der Quotient von Campesterol zu Lathosterol im Serum und im kardiovaskulären Gewebe. Zudem war ein Cholesterinstoffwechsel mit niedriger Cholesterinsyntheserate und hoher Cholesterinresorption mit einer begleitenden KHK assoziiert. Die Ergebnisse der vorliegenden Dissertationsarbeit bestätigen daher, dass Änderungen der Cholesterinhomeostase im Sinne einer vermehrten Cholesterinresorption und einer verminderten Cholesterinsynthese bei Patienten mit

schwerer AS mit der Entwicklung einer begleitenden KHK assoziiert sind. Darüber hinaus besteht ein Zusammenhang zwischen erhöhten Ablagerungen von Sterolen im kardiovaskulären Gewebe und progressiver Aortenklappenstenose. Da das Profil der Cholesterinhomöostase Auswirkungen auf die Wirksamkeit einer cholesterinsenkenden Therapie hat, ist anzunehmen, dass die lipidmodifizierende Behandlung mit einem Statin in Kombination mit einer Hemmung der Cholesterinresorption insbesondere bei den Patienten mit bekanntlich geringer Cholesterinsyntheserate und hoher Cholesterinresorption zu einer Reduktion des kardiovaskulären Risikos führen könnte. Die Bestimmung der hier verwendeten Marker für Cholesterinsynthese und/-resorption könnten als Einschlusskriterien für eine solche Studie dienen.

Reference List

1. Castelli WP. Epidemiology of coronary heart disease: the Framingham study. *Am J Med* 1984; 76:4-12.
2. Wald NJ, Law MR. Serum cholesterol and ischaemic heart disease. *Atherosclerosis* 1995; 118 Suppl:S1-S5.
3. Weingärtner O, Laufs U. Primary and secondary prevention of the acute coronary syndrome. *Hamostaseologie* 2006; 26:158-66.
4. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994; 344:1383-9.
5. Shepherd J, Cobbe SM, Ford I, et al. Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group. *N Engl J Med* 1995; 333:1301-7.
6. Baigent C, Keech A, Kearney PM, et al. Efficacy and safety of cholesterol-lowering treatment: prospective meta-analysis of data from 90,056 participants in 14 randomised trials of statins. *Lancet* 2005; 366:1267-78.
7. Negre-Salvayre A, Dousset N, Ferretti G, Bacchetti T, Curatola G, Salvayre R. Antioxidant and cytoprotective properties of high-density lipoproteins in vascular cells. *Free Radic Biol Med* 2006; 41:1031-40.
8. Schmitz G, Grandl M. The molecular mechanisms of HDL and associated vesicular trafficking mechanisms to mediate cellular lipid homeostasis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009; 29:1718-22.
9. Al-Jarallah A, Trigatti BL. A role for the scavenger receptor, Class B Type I in high density lipoprotein dependent activation of cellular signaling pathways. *Biochim Biophys Acta* 2010.
10. Natarajan P, Ray KK, Cannon CP. High-density lipoprotein and coronary heart disease: current and future therapies. *J Am Coll Cardiol* 2010; 55:1283-99.
11. Brown MS, Goldstein JL. A receptor-mediated pathway for cholesterol homeostasis. *Science* 1986; 232:34-47.
12. Zhou L, Choi HY, Li W-P, Xu F, Herz J, 2009 LRP1 Controls cPLA2 Phosphorylation, ABCA1 Expression and Cellular Cholesterol Export. *PLoS ONE* 4(8): e6853. doi:10.1371/journal.pone.0006853

13. Weingärtner O, Laufs U, Böhm M, Lütjohann D. An alternative pathway of reverse cholesterol transport: the oxysterol 27-hydroxycholesterol. *Atherosclerosis* 2010; 209:39-41.
14. Poss J, Böhm M, Laufs U. HDL and CETP in atherogenesis. *Dtsch Med Wochenschr* 2010; 135:188-92.
15. Calpe-Berdiel L, Escola-Gil JC, Blanco-Vaca F. New insights into the molecular actions of plant sterols and stanols in cholesterol metabolism. *Atherosclerosis* 2009; 203:18-31.
16. Goldstein JL, Brown MS. Regulation of the mevalonate pathway. *Nature* 1990; 343:425-30.
17. Grundy SM. Cholesterol metabolism in man. *West J Med* 1978; 128:13-25.
18. Miettinen TA. Serum squalene and methyl sterols as indicators of cholesterol synthesis in vivo. *Life Sci* 1969; 8:713-21.
19. Miettinen TA. Detection of changes in human cholesterol metabolism. *Ann Clin Res* 1970; 2:300-20.
20. Tilvis RS, Miettinen TA. Serum plant sterols and their relation to cholesterol absorption. *Am J Clin Nutr* 1986; 43:92-7.
21. Miettinen TA, Tilvis RS, Kesaniemi YA. Serum plant sterols and cholesterol precursors reflect cholesterol absorption and synthesis in volunteers of a randomly selected male population. *Am J Epidemiol* 1990; 131:20-31.
22. Aikawa M. Effects of statin therapy on vascular dysfunction. *Coron Artery Dis* 2004; 15:227-33.
23. Miettinen TA, Gylling H, Strandberg T, Sarna S. Baseline serum cholestanol as predictor of recurrent coronary events in subgroup of Scandinavian simvastatin survival study. Finnish 4S Investigators. *BMJ* 1998; 316:1127-30.
24. Miettinen TA, Gylling H. Effect of statins on noncholesterol sterol levels: implications for use of plant stanols and sterols. *Am J Cardiol* 2005; 96:40D-6D.

25. Strandberg TE, Tilvis RS, Pitkala KH, Miettinen TA. Cholesterol and glucose metabolism and recurrent cardiovascular events among the elderly: a prospective study. *J Am Coll Cardiol* 2006; 48:708-14.
26. Miettinen TA, Strandberg TE, Gylling H. Noncholesterol sterols and cholesterol lowering by long-term simvastatin treatment in coronary patients: relation to basal serum cholestanol. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000; 20:1340-6.
27. Dujovne CA, Ettinger MP, McNeer JF, et al. Efficacy and safety of a potent new selective cholesterol absorption inhibitor, ezetimibe, in patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002; 90:1092-7.
28. Gagne C, Bays HE, Weiss SR, et al. Efficacy and safety of ezetimibe added to ongoing statin therapy for treatment of patients with primary hypercholesterolemia. *Am J Cardiol* 2002; 90:1084-91.
29. Miettinen TA, Puska P, Gylling H, Vanhanen H, Vartiainen E. Reduction of serum cholesterol with sitostanol-ester margarine in a mildly hypercholesterolemic population. *N Engl J Med* 1995; 333:1308-12.
30. Heinemann T, Axtmann G, von Bergmann K. Comparison of intestinal absorption of cholesterol with different plant sterols in man. *Eur J Clin Invest* 1993; 23:827-31.
31. Weststrate JA, Meijer GW. Plant sterol-enriched margarines and reduction of plasma total- and LDL-cholesterol concentrations in normocholesterolaemic and mildly hypercholesterolaemic subjects. *Eur J Clin Nutr* 1998; 52:334-43.
32. Thuluva SC, Igel M, Giesa U, Lutjohann D, Sudhop T, von Bergmann K. Ratio of lathosterol to campesterol in serum predicts the cholesterol-lowering effect of sitostanol-supplemented margarine. *Int J Clin Pharmacol Ther* 2005; 43:305-10.
33. Goldstein MR. Point/counterpoint: statins, plant sterol absorption, and increased coronary risk. *J Clin Lipidol*. 2008; 2: 304-308.
34. Weingärtner O, Lütjohann D, Ji S, et al. Vascular effects of diet supplementation with plant sterols. *J Am Coll Cardiol* 2008; 51:1553-61.
35. Thelen KM, Rentsch KM, Gutteck U, et al. Brain cholesterol synthesis in mice is affected by high dose of simvastatin but not of pravastatin. *J Pharmacol Exp Ther* 2006; 316:1146-52.

36. Siedel J, Hagele EO, Ziegenhorn J, Wahlefeld AW. Reagent for the enzymatic determination of serum total cholesterol with improved lipolytic efficiency. *Clin Chem* 1983; 29:1075-80.
37. Burstein M, Scholnick HR, Morfin R. Rapid method for the isolation of lipoproteins from human serum by precipitation with polyanions. *J Lipid Res* 1970; 11:583-95.
38. Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; 18:499-502.
39. Austen WG, Edwards JE, Frye RL, et al. A reporting system on patients evaluated for coronary artery disease. Report of the Ad Hoc Committee for Grading of Coronary Artery Disease, Council on Cardiovascular Surgery, American Heart Association. *Circulation* 1975; 51:5-40.
40. Skjaerpe T, Hegrenaes L, Hatle L. Noninvasive estimation of valve area in patients with aortic stenosis by Doppler ultrasound and two-dimensional echocardiography. *Circulation* 1985; 72:810-8.
41. Rajaratnam RA, Gylling H, Miettinen TA. Independent association of serum squalene and noncholesterol sterols with coronary artery disease in postmenopausal women. *J Am Coll Cardiol* 2000; 35:1185-91.
42. Silbernagel G, Fauler G, Renner W, et al. The relationships of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with the severity of coronary artery disease. *J Lipid Res* 2009; 50:334-41.
43. Matthan NR, Pencina M, Larocque JM, et al. Alterations in cholesterol absorption and synthesis characterize Framingham offspring study participants with coronary heart disease. *J Lipid Res* 2009; 50: 1927-35.
44. Silbernagel G, Fauler G, Hoffmann MM, et al. The associations of cholesterol metabolism and plasma plant sterols with all-cause- and cardiovascular mortality. *J Lipid Res* 2010; 51: 2384-93.
45. Teupser D, Baber R, Ceglarek U, et al. Genetic regulation of serum phytosterol levels and risk of coronary artery disease. *Circ Cardiovasc Genet* 2010; 3:331-9.
46. Pinedo S, Vissers MN, von Bergmann K, et al. Plasma levels of plant sterols and the risk of coronary artery disease: the prospective EPIC-Norfolk Population Study. *J Lipid Res* 2007; 48:139-44.

47. Fassbender K, Lütjohann D, Dik MG, et al. Moderately elevated plant sterol levels are associated with reduced cardiovascular risk--the LASA study. *Atherosclerosis* 2008; 196:283-8.
48. Weingärtner O, Pinsdorf T, Rogacev KS et al. The Relationships of Markers of Cholesterol Homeostasis with Carotid Intima-Media Thickness. *PLoS One* 2010 5(10): e13467. doi:10.1371/journal.pone.0013467
49. Sudhop T, von Bergmann K. Sitosterolemia--a rare disease. Are elevated plant sterols an additional risk factor? *Z Kardiol* 2004; 93:921-8.
50. Glueck CJ, Speirs J, Tracy T, Streicher P, Illig E, Vandegrift J. Relationships of serum plant sterols (phytosterols) and cholesterol in 595 hypercholesterolemic subjects, and familial aggregation of phytosterols, cholesterol, and premature coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands and their first-degree relatives. *Metabolism* 1991; 40:842-8.
51. Glueck CJ, Streicher P, Illig E. Serum and dietary phytosterols, cholesterol, and coronary heart disease in hyperphytosterolemic probands. *Clin Biochem* 1992; 25:331-4.
52. Weingärtner O., Ulrich C., Lütjohann D et al. Differential effects of cholesterol absorption inhibition by plant sterol and plant stanol esters in apoE -/-mice. *Cardiovasc Res.* 2011 epub ahead of print. doi: 10.1093/cvr/cvr020.
53. Patel MD, Thompson PD. Phytosterols and vascular disease. *Atherosclerosis* 2006; 186:12-9.
54. Weingärtner O. Prospective studies testing relevant clinical endpoints are needed. *BMJ* 2007. <http://www.bmj.com/cgi/eletters/334/7602/1037#171841>
55. Weingärtner O, Böhm M, Laufs U. Plant sterols as dietary supplements for the prevention of cardiovascular diseases. *Dtsch Med Wochenschr* 2008; 133:1201-4.
56. Weingärtner O, Böhm M, Laufs U. Controversial role of plant sterol esters in the management of hypercholesterolaemia. *Eur Heart J* 2009; 30:404-9.
57. Bhattacharyya AK, Connor WE. Beta-sitosterolemia and xanthomatosis. A newly described lipid storage disease in two sisters. *J Clin Invest* 1974; 53:1033-43.
58. Berge KE, Tian H, Graf GA, et al. Accumulation of dietary cholesterol in sitosterolemia caused by mutations in adjacent ABC transporters. *Science* 2000; 290:1771-5.

59. Lee MH, Lu K, Hazard S, et al. Identification of a gene, ABCG5, important in the regulation of dietary cholesterol absorption. *Nat Genet* 2001; 27:79-83.
60. Kidambi S, Patel SB. Sitosterolaemia: pathophysiology, clinical presentation and laboratory diagnosis. *J Clin Pathol* 2008; 61:588-94.
61. Helske S, Miettinen T, Gylling H, et al. Accumulation of cholesterol precursors and plant sterols in human stenotic aortic valves. *J Lipid Res* 2008; 49: 1511-8.
62. Rossebø AB, Pedersen TR, Boman K et al. Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. *N Engl J Med*. 2008; 359: 1343-56.
63. Weingärtner O, Lütjohann D, Böhm M, Laufs U. Relationship between cholesterol synthesis and intestinal absorption is associated with cardiovascular risk. *Atherosclerosis* 2010; 210: 362-5.
64. Weingärtner O, Lütjohann D, Böhm M, Laufs U. Cholesterol homeostasis and cardiovascular risk. *Dtsch Med Wochenschr*. 2011, 136: 34-38.

7. Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. med. Ulrich Laufs für die Überlassung des Themas und die Möglichkeit mich wissenschaftlich in seiner Arbeitsgruppe zu betätigen.

Meinem Ehemann Dr. med. Oliver Weingärtner danke ich für die leidenschaftliche und liebevolle Betreuung. Oliver stand mir bei allen Schwierigkeiten stets bei Seite.

Bedanken möchte ich mich ebenso bei Herrn Professor Dr. med. Michael Böhm für die Möglichkeit, die Dissertation in der Klinik für Innere Medizin III der Universität des Saarlandes erstellen zu können.

Herrn Professor Dr. med. Bruno Scheller danke ich für seine Hilfe bei der Etablierung des Koronar-Score-Systems sowie bei der Auswertung der Koronarangiogramme. Herrn Priv.-Doz. Stefan Gräber danke ich für seine Unterstützung bei der statistischen Auswertung. Mein ganz besonderer Dank gilt Herrn Professor Dr. Dr. rer. nat. Dieter Lütjohann. Dieter hat sich weit über das normale Maß hinaus für das Gelingen der vorgelegten Dissertationsarbeit eingesetzt. Ich danke ihm für die Durchführungen der GC/MS-Messungen, sowie für viele wertvolle Tipps und Ratschläge.

Bei Herrn Professor Dr. med. Hans-Joachim Schäfers und den Mitarbeitern der Klinik für Thorax- und Herz-Gefäßchirurgie bedanke ich mich für die sehr gute und stets angenehme Kooperation.

Schließlich gilt der Dank meiner Mutter ohne sie wären mir diese Möglichkeiten nie eröffnet worden.

8. Curriculum Vitae

Persönliche Angaben

Name: Weingärtner
Vorname: Nadezhda
Geburtsdatum: 29.07.1977
Geburtsort: Twer (Russland)
Familienstand: verheiratet, ein Kind

Schulische Ausbildung

1984-1994 Besuch der Mittelschule mit erweitertem Deutschunterricht in Twer (Russland) und Erreichen der Hochschulreife.
1994-1995 Gymnasium Stadt Bad - Iburg (Osnabrück)

Studium

1995-2001 Studium an der Staatlichen Medizinischen Akademie in Twer
Diplom für allgemeine Medizin.
2001-2002 Fortsetzung des Studiums an der Staatlichen Medizinischen Akademie in Twer. Postgraduierte Ausbildung in Psychiatrie.
1999-2003 Vorstand der staatlich anerkannten sozialen Einrichtung „Deine Wahl“ zur Prävention von HIV/AIDS und Suchterkrankungen in Twer (Russland).
2003-2003 Hospitation am Universitätsklinikum des Saarlandes, Abteilung für Psychiatrie und Psychotherapie. (DAAD-Stipendium)

- 2004-2005** Praktisches Jahr am Universitätsklinikum des Saarlandes
- Abteilung für Thorax- und Herz-Gefäßchirurgie
Abteilung für Allgemeine Chirurgie, Viszeral-, Gefäß- und Kinderchirurgie
Abteilung für Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin
Abteilung für Onkologie, Hämatologie, klinische Immunologie und Rheumatologie
Abteilung für Urologie und Kinderurologie
- April 2005** Dritter Abschnitt der Ärztlichen Prüfung am Universitätsklinikum des Saarlandes:
Gesamtnote „gut“
- September 2005** Beginn der Promotionsarbeit

Berufliche Tätigkeit

- Juli 2005-September 2006** Assistenzärztin am Universitätsklinikum des Saarlandes, Abteilung für Strahlentherapie und Radioonkologie
- Seit Oktober 2006** Assistenärztin am Evangelischen Krankenhaus Zweibrücken, Abteilung für Innere Medizin mit Schwerpunkt Kardiologie, Angiologie, Pneumonologie

Publikationen

1. **Weingärtner O., Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.**

Alterations in cholesterol homeostasis are associated with coronary heart disease in patients with aortic stenosis.

Coronary Artery Disease 2009; 20:376-382.

2. **Weingärtner O., Weingärtner N., Böhm M., Laufs U.**

Bad gut feeling: ACE-inhibitor induced intestinal angioedema.

BMJ Case Reports 2009; doi:10.1136/bcr.09.2008.0868.

Abstracts

1. **Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** Die Ratio Cholesterinabsorption zu Cholesterinsynthese ist ein Prädiktor für koronare Herzerkrankung bei Patienten mit Aortenstenose. A 53. Jahreskongress Saarländisch-Pfälzische Internistengesellschaft e.V., Neustadt an der Weinstrasse, 06.-08. März. 2008.

2. **Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** Die Ratio Cholesterinabsorption zu Cholesterinsynthese ist ein Prädiktor für koronare Herzerkrankung bei Patienten mit Aortenstenose. V 272. 74. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie; Mannheim, 27.03.-29.03.2008. *Clin Res Cardiol* 96: Suppl 1, A 4027.

- 3. Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** Relation of cholesterol absorption and synthesis is a predictor of concomitant coronary heart disease in patients with aortic stenosis. 114. Internistenkongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin 29. März bis 2. April 2008, Wiesbaden. *Med. Klin* 2008; 103: 100, A 288.
- 4. Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** The ratio of cholesterol absorption and synthesis predicts concomitant coronary heart disease in patients with aortic stenosis. European Society of Cardiology (ESC), 30.08. - 03.09.2008, München. *Eur Heart J* 2008; 29: 596, A 3659.
- 5. Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** The ratio of cholesterol absorption and synthesis predicts concomitant coronary heart disease in patients with aortic stenosis. 77. European Atherosclerosis Society Congress (EAS), 26.04-29-04-2008, Istanbul, Türkei. *Atherosclerosis Supplements* 2008; 27:320, A 724.
- 6. Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** Association of Cholesterol metabolism with coronary heart disease, family history of cardiovascular diseases and aortic stenosis. 3. *Deutscher Atherosklerosekongress* 18.09-20-09.2008, Mannheim. *Abstractband: 24, A 21.*
- 7. Weingärtner O. , Weingärtner N., Scheller B., Lütjohann D., Gräber S., Schäfers H.-J., Böhm M., Laufs U.** Die Ratio Cholesterinabsorption zu Cholesterinsynthese ist ein Prädiktor für koronare Herzerkrankung bei Patienten mit Aortenstenose. 37. *Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Angiologie, Gesellschaft für Gefäßmedizin e.V., Mannheim, 24.-27.09.2008. Abstractband: A 25.*