

Aus der Klinik für Pädiatrie mit Schwerpunkt Nephrologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Evaluation des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit
Phenylketonurie**

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Aline Azabdaftari
aus Berlin

Datum der Promotion: 07.12.2018

Inhaltsverzeichnis

1	Abstrakt.....	1
1.1	Deutsch.....	1
1.2	English.....	2
2	Einleitung	3
2.1	Phenylketonurie	3
2.2	Kardiovaskuläres Risiko.....	4
2.2.1	Endothelfunktion, Gefäßsteifigkeit und vaskuläre Diagnostik.....	4
2.2.2	Endotheliale Dysfunktion als Frühform der Atherosklerose.....	6
2.2.3	Entstehung und Konsequenzen der arteriellen Gefäßsteifigkeit.....	6
2.2.4	Inflammation als kardiovaskulärer Risikofaktor	7
2.2.5	Lipoproteinprofil und kardiovaskuläres Risiko	8
2.2.6	Oxidativer Stress und kardiovaskuläres Risiko	9
2.3	Fragestellung.....	11
3	Methoden.....	13
3.1	Studienpopulation.....	13
3.1.1	Patienten.....	13
3.1.2	Kontrollen	15
3.2	Nicht-invasive vaskuläre Diagnostik	15
3.2.1	Venenverschlussplethysmographie.....	15
3.2.2	Pulswellengeschwindigkeit	18
3.2.3	Blutdruckmessung	19
3.3	Laboranalysen.....	20
3.3.1	Routineblutentnahme	20
3.3.2	Blutentnahme für oxidative Stressmarker, Inflammationsmarker und Lipoproteinstatus.....	20
3.4	Phenylalanin-Variabilität	21
3.5	Kumulative Aminosäurezufuhr.....	21
3.6	Statistische Analysen.....	21
4	Ergebnisse.....	23
4.1	Untersuchungsergebnisse und Zusammenhang zu den anthropometrischen Daten	23
4.1.1	Gruppenbeschreibung und Anthropometrie	23
4.1.2	Gefäßdaten	24
4.1.3	Inflammation	28
4.1.4	Lipoproteinstatus	30
4.1.5	Oxidativer Stress	32
4.1.6	Phenylalanin-Blutkonzentration	33

4.1.7	Aminosäure-Zufuhr	34
4.2	Zusammenhänge	34
4.2.1	Gefäßwerte und Inflammation/oxidativer Stress	34
4.2.2	Lipoproteinstatus und Inflammation/oxidativer Stress bei Patienten mit PKU.....	35
4.2.3	Nierenparameter der Patienten und Einflussfaktoren	38
4.2.4	Phenylalanin-Blutkonzentration und Zusammenhänge	39
4.2.5	Aminosäurezufuhr und Einflussfaktoren	40
5	Diskussion	41
5.1	Zusammenfassung der Hauptergebnisse.....	41
5.2	Studiendesign und Methodik.....	41
5.3	Diskussion der Ergebnisse	42
5.3.1	Gefäßfunktion und Blutdruck.....	42
5.3.2	Inflammation bei Patienten mit PKU.....	44
5.3.3	Oxidativer Stress	45
5.3.4	Lipoproteinstatus	45
5.3.5	Nierenfunktionsparameter.....	47
5.3.6	Diät und Einnahme synthetischer Aminosäuren.....	48
5.3.7	Phenylalanin-Blutkonzentration	48
5.4	Schlussfolgerung	49
6	Literaturverzeichnis.....	51
7	Eidesstattliche Versicherung	59
8	Lebenslauf	61
9	Publikationsliste	62
10	Danksagung.....	63

Abkürzungsverzeichnis

3NT	3-Nitrotyrosin
5Jahres-Phe	Durchschnittswert der Phenylalanin-Konzentration der letzten 5 Jahre
Abb	Abbildung
ABCA1	ATP-binding cassette transporter 1
ACR	Albumin-Kreatinin-Quotient (<i>albumin-creatinine-ratio</i>)
Apo	Apolipoprotein
AUC	Area under curve
BMI	Body-Mass-Index
CKD-EPI-Formel	Formel zur Schätzung der glomerulären Filtrationsrate nach der <i>Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration</i>
CRP	C-reaktives Protein
EDGF	<i>Endothelial-derived growth factor</i>
eGFR	geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
HDL	<i>High density lipoprotein</i>
HDL-C	HDL-Cholesterin
IQ	Intelligenzquotient
KHK	Koronare Herzkrankheit
LBF	Ruhedurchblutung (<i>Low baseline bloodflow</i>)
LCAT	Lecithin-Cholesterin-Acyltransferase
LDL	<i>Low density lipoprotein</i>
LDL-C	LDL-Cholesterin
MAD	Mittlerer arterieller Druck
MDA	Malondialdehyd
MPO	Myeloperoxidase
p	Signifikanzwert
PAH	Phenylalaninhydroxylase
Phe	Phenylalanin
PIBF	Postischämischer Blutfluss
PIFR	Postischämische Flussreserve
PIPF	Postischämischer Spitzenfluss (<i>postischemic peakflow</i>)
PIVR	Postischämische Volumenreserve
PKU	Phenylketonurie

PWV	Pulswellengeschwindigkeit (<i>pulse wave velocity</i>)
r	Korrelationskoeffizient
R ²	Bestimmtheitsmaß
SAA	Serum Amyloid A
VLDL	<i>Very low density lipoprotein</i>
VVP	Venenverschlussplethysmographie

1 Abstrakt

1.1 Deutsch

Die Phenylketonurie (PKU) gehört zu den häufigsten angeborenen Stoffwechselerkrankungen. Um neurologische Komplikationen zu vermeiden, müssen Patienten lebenslang eine Phenylalanin-arme Diät einhalten und synthetische Aminosäuremischungen einnehmen. Die Zufuhr dieser synthetischen Aminosäuren wurde in mehreren Studien mit Nierenfunktionsstörungen und oxidativem Stress in Verbindung gebracht. Weiterhin wurde ein verändertes Lipoproteinprofil festgestellt. All das lässt vermuten, dass Patienten mit PKU im Langzeitverlauf ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko aufweisen könnten.

Das Ziel dieser Studie war es, das Ausmaß der kardiovaskulären Gefährdung von PKU-Patienten anhand nicht-invasiver Gefäßuntersuchungen zu beurteilen und diese mit verschiedenen etablierten ebenso wie neueren kardiovaskulären Risikomarkern zu korrelieren.

Hierfür wurden 23 erwachsene Patienten mit PKU (Alter: 18-47 Jahre; $30,8 \pm 8,4$ Jahre) und 28 gesunde Kontrollen (Alter: 18-47 Jahre; $30,1 \pm 9,1$ Jahre) untersucht und Blutdruck, Pulsfrequenz sowie BMI ermittelt. Neben der Beurteilung der Gefäßsteifigkeit (Pulswellengeschwindigkeit) und der Endothelfunktion (Venenschlussplethysmographie) wurde eine umfassende Analyse von Lipoproteinwerten, Inflammationsparametern und oxidativen Stressmarkern durchgeführt. Des Weiteren wurde die kumulative Zufuhr synthetischer Aminosäuren über 5 Jahre berechnet, um den Einfluss der Diät auf die Gefäßfunktion zu untersuchen.

Die Patienten mit PKU wiesen in dieser Studie signifikant erhöhte Pulsfrequenz- und Blutdruckwerte sowie eine signifikant erhöhte Gefäßsteifigkeit und eine endotheliale Dysfunktion auf. Außerdem konnten wir erhöhte SAA- und CRP-Werte als Marker der Inflammation, erhöhte MDA-Werte als oxidativen Stress-Parameter und verminderte HDL-C und HDL2C-Werte nachweisen. PKU-Patienten wiesen keine Nierenfunktionsstörungen auf und wir konnten keinen Zusammenhang zwischen der Zufuhr synthetischer Aminosäuren und der Gefäßfunktion feststellen.

Diese Studie zeigt somit, dass Patienten mit PKU eine beeinträchtigte Gefäßfunktion, höhere Blutdruck- und Pulsfrequenzwerte, ein vermehrtes Maß an Inflammation und oxidativem Stress sowie ein proatherogenes Lipoproteinprofil aufweisen. All diese Veränderungen sprechen für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei diesen Patienten. Den Ergebnissen unserer Pilotstudie sollte in umfangreicheren klinischen Studien nachgegangen werden. Sie weisen auf die Notwendigkeit

hin, bei Patienten mit PKU schon im jungen Erwachsenenalter Strategien zur Prävention kardiovaskulärer Erkrankungen zu planen.

1.2 Englisch

Phenylketonuria (PKU) is the most common inborn error of amino acid metabolism. In order to prevent neurological complications, patients have to keep a lifelong phenylalanine-restricted diet supplemented by synthetic amino acids. Previous studies have suggested diet-associated renal impairment and oxidative stress in PKU patients and described an altered lipoprotein profile, indicating a higher risk for cardiovascular disease.

The purpose of this study was to assess the cardiovascular risk in patients with PKU by non-invasive examination of arterial functions and risk-specific serum markers. In 23 adult PKU patients (age: 18-47y; 30,8± 8,4y) and 28 healthy controls (age: 18-47y; 30,1 ± 9,1y) we performed venous occlusion plethysmography (VVP) to assess endothelial function and measured the carotid to femoral pulse wave velocity (PWV), an indicator of arterial stiffness. We further analyzed blood pressure, resting heart rate, BMI, inflammatory markers, oxidative stress markers and the lipoprotein profile. To assess the influence of the diet on vascular parameters we calculated the cumulative intake of synthetic amino acids over the last 5 years.

We found increased arterial stiffness and endothelial dysfunction in patients with PKU as well as higher blood pressure and resting heart rate compared to healthy controls . The SAA, CRP and MDA serum levels, markers of inflammation and oxidative stress, respectively, were increased while levels of HDL-C and HDL2C were lower compared to the control group. PKU patients showed no renal impairment and no association of the cumulative intake of synthetic amino acids with arterial function parameters.

In conclusion, we found that PKU patients exhibited vascular pathologies, elevated blood pressure and resting heart rate, elevated biomarkers of inflammation, oxidative stress and an atherogenic lipoprotein profile. This indicates a higher risk for cardiovascular disease in these patients. The results of our pilot study call for further investigations and stresses the need for early preventive measures against cardiovascular disease in young patients with PKU.

2 Einleitung

2.1 Phenylketonurie

Die Phenylketonurie (PKU) zählt durch eine niedrige Inzidenz von 1:5500 in Deutschland zur Gruppe der seltenen Erkrankungen und ist dabei dennoch die häufigste Störung des Aminosäurestoffwechsels ¹⁻³.

Es handelt sich um eine autosomal-rezessiv vererbare Erkrankung, der ein Defekt des Enzyms Phenylalaninhydroxylase (PAH) zugrunde liegt ⁴. Die PAH ist für den Abbau von Phenylalanin zu Tyrosin verantwortlich und ein Mangel dieses Enzyms führt zur Akkumulation von Phenylalanin und entsprechenden Metaboliten im Gewebe. Klinisch äußert sich die Erkrankung durch eine geistige Entwicklungsretardierung, einen verminderten Intelligenzquotienten (IQ) und neurologische Störungen, deren Pathophysiologie noch nicht vollständig geklärt ist ^{4,5}.

Abhängig von der Restaktivität des Enzyms wird zwischen verschiedenen Formen der PKU unterschieden. Eine klassische PKU zeichnet sich durch einen kompletten oder fast kompletten Verlust der Enzymaktivität aus, bei einer milden PKU oder einer milden Hyperphenylalaninämie dagegen besteht eine Restaktivität ⁵. Diese verschiedenen Formen sind auf unterschiedliche Genmutationen zurückzuführen, wovon derzeit über 500 bekannt sind ⁶.

Die Diagnose der PKU wird anhand einer erhöhten Phenylalaninkonzentration im Blut gestellt ⁴. Zur Früherkennung und Prävention der Komplikationen wurde 1971 das Neugeborenen-Screening für PKU in Deutschland flächendeckend eingeführt ⁷. Voraussetzungen hierfür waren die Einführung eines massentauglichen diagnostischen Tests, des Guthrie-Tests, sowie die Erkenntnis, dass durch eine frühzeitige Therapie die Komplikationen der PKU verhindert werden können ^{4,8,9}. Die Therapie besteht aus einer lebenslangen proteinarmen Diät, um die Akkumulation von Phenylalanin zu vermeiden. Der Bedarf an Aminosäuren wird über eine zusätzliche regelmäßige Einnahme einer synthetischen phenylalaninfreien Aminosäuremischung gedeckt ^{4,5}.

Durch die frühe Diagnosestellung mittels Neugeborenen-Screening und die anschließende therapeutische Diät kann das Auftreten von neurologischen Komplikationen vermindert werden und auch der IQ der Patienten scheint nur leicht niedriger zu sein als derjenige einer gesunden Bevölkerungsgruppe ⁴. Dennoch besteht auch bei früh diagnostizierten Patienten weiterhin eine leichte psychomotorische Retardierung ⁴.

Die Pathogenese verschiedener neurologischer Erkrankungen sowie anderer angeborener Stoffwechselerkrankungen wurde in mehreren Studien mit erhöhtem oxidativen Stress in Zusammenhang gebracht ^{10,11}. Deshalb wurde in den letzten Jahren vermehrt der oxidative Stress und dessen Verbindung zur Pathogenese der Erkrankung untersucht ^{12,13}.

In mehreren Studien wurde bei PKU-Patienten erhöhter oxidativer Stress gemessen, der bei unzureichender Diät zunimmt und wahrscheinlich mit den neurologischen Symptomen bei PKU zusammenhängt ¹²⁻¹⁴. Weiterhin wurde gezeigt, dass die Patienten einen veränderten antioxidativen Status aufweisen, der mit der verminderten Einnahme natürlicher Antioxidantien aufgrund der strengen therapeutischen Diät im Zusammenhang steht ^{12,14}.

Obwohl die Diät der PKU-Patienten einer vegetarisch-veganen Diät ähnlich ist, die bekanntermaßen in der Allgemeinbevölkerung mit einem normalen Lipid- und Lipoproteinprofil einhergeht, wurde bei PKU-Patienten in verschiedenen Studien ein proatherogen verändertes Lipidprofil festgestellt ^{4,15,16}.

Zusammengefasst zeigen frühere Studien, dass PKU-Patienten verschiedene kardiovaskuläre Risikofaktoren, wie oxidativen Stress und ein proatherogenes Lipoproteinprofil, aufweisen, die im Zusammenhang mit der Aminosäurediät der Patienten stehen könnte. Somit könnte im Langzeitverlauf durch eine Schädigung von Blutgefäßen ein vermehrtes Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen bestehen. Das kardiovaskuläre Risiko bei PKU-Patienten wurde bisher noch nicht eingehend untersucht.

2.2 Kardiovaskuläres Risiko

Kardiovaskuläre Erkrankungen sind die führende Todesursache weltweit und verantwortlich für bis zu 45% aller Todesfälle ¹⁷. Zu den wichtigsten kardiovaskulären Erkrankungen gehören die koronare Herzkrankheit und zerebrovaskuläre Erkrankungen ¹⁷. Als Ursache wurde eine Vielzahl an Risikofaktoren identifiziert. Neben den traditionellen Risikofaktoren, wie männliches Geschlecht, erhöhtes *Low Density Lipoprotein* (LDL) im Serum, arterielle Hypertonie, Rauchen oder Diabetes mellitus, werden aufgrund einer bislang ungenügenden Risikovorhersage zunehmend weitere neue prädiktive Parameter untersucht ^{18,19}. Hierzu gehören die Beurteilung der Endothelfunktion, der Gefäßsteifigkeit sowie die Untersuchung von Entzündungsparametern, von oxidativen Stressmarkern und des Lipoproteinstatus ²⁰⁻²⁴.

2.2.1 Endothelfunktion, Gefäßsteifigkeit und vaskuläre Diagnostik

Die Endothelfunktion und die Gefäßsteifigkeit können mittels nicht-invasiver Diagnostik bestimmt werden und geben Informationen über die Funktionsfähigkeit der arteriellen Gefäße.

Das Endothel bedeckt als einschichtiger Verband die Innenseite aller Blutgefäße und ist durch die Freisetzung verschiedener vasodilatatorischer und vasokonstriktorischer Mediatoren imstande, den Gefäßtonus und somit die Durchblutung zu regulieren ²⁵. Der wichtigste vasodilatatorische Mediator ist das Stickstoffmonoxid, das zunächst auch als *Endothelial-derived growth factor* (EDGF) bekannt wurde ²⁶. Neben der gefäßregulatorischen Eigenschaft hat das Endothel weitere

wichtige Funktionen: Es hemmt die Adhäsion von Leukozyten und Thrombozyten und wirkt somit anti-inflammatorisch und anti-thrombotisch. Es verhindert außerdem die Hypertrophie der Gefäßwand, indem es die Proliferation glatter Muskelzellen in der Arterienwand hemmt. Es wirkt also insgesamt gefäßprotektiv ²⁷.

Bei einer endothelialen Dysfunktion ist die vasodilatatorische Funktion des Endothels eingeschränkt ^{28,29}. Sie ist Teil des physiologischen Alterungsprozesses, wurde aber auch im Frühstadium verschiedener kardiovaskulärer Erkrankungen sowie Erkrankungen mit kardiovaskulären Komplikationen, wie Diabetes mellitus Typ 1 oder Adipositas, nachgewiesen ^{27,29,30}. Da die endotheliale Dysfunktion auch in der Entstehung der Atherosklerose eine wichtige Rolle spielt, nimmt die klinische Untersuchung der Endothelfunktion einen hohen Stellenwert ein und kann zur Früherkennung eines erhöhten kardiovaskulären Risikos genutzt werden ^{21,31}. Die Untersuchung erfolgt mittels Venenverschlussplethysmographie, bei der durch die Messung der reaktiven Hyperämie einer Extremität die endothelabhängige Vasodilatation und somit die Endothelfunktion eingeschätzt werden kann ³².

Eine weitere Methode der nicht-invasiven Gefäßdiagnostik ist die Messung der Gefäßsteifigkeit anhand der Fortleitungsgeschwindigkeit der zentralen Pulswelle. Die aortale Gefäßwand enthält in der Tunica Media neben glatten Muskelzellen und Kollagen auch einen hohen Anteil elastischer Fasern. Diese dienen dazu, die durch die Herzkontraktionen verursachten Druckschwankungen zu dämpfen, indem ein Teil des Blutvolumens kurzfristig in der Aorta durch dessen Elastizität gespeichert wird. Man spricht von der Windkesselfunktion ³³. Sowohl während des natürlichen Alterungsprozesses als auch im Rahmen von Erkrankungen, wie Niereninsuffizienz, Diabetes mellitus oder arterielle Hypertonie, kann es durch strukturelle Veränderungen in der Gefäßwand zu einem Verlust der Elastizität kommen ^{34,35}. Das führt zu einer erhöhten Gefäßsteifigkeit, zu einer Abnahme der Windkesselfunktion und somit zu einer Zunahme der Blutdruckamplitude. Durch eine erhöhte Gefäßsteifigkeit wird die arterielle Druckwelle schneller fortgeleitet, was sich als erhöhte Pulswellengeschwindigkeit messen lässt. Die Messung zwischen A. Carotis und A. Femoralis stellt den Goldstandard zur Beurteilung der Gefäßsteifigkeit dar und konnte als unabhängiger prädiktiver Parameter für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen etabliert werden ^{36,37}.

Bei Patienten mit PKU wurden bisher keine Messungen der Endothelfunktion oder der Gefäßsteifigkeit durchgeführt, was allerdings zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos wichtig sein könnte.

2.2.2 Endotheliale Dysfunktion als Frühform der Atherosklerose

Dem Endothel kommt in der Entstehung der Atherosklerose eine Schlüsselfunktion zu. Erst dessen Schädigung führt durch einen chronischen Entzündungsprozess und darauffolgende Lipideinlagerungen zum atherosklerotischen Gefäßumbau.

Die Entstehung atherosklerotischer Plaques basiert nach dem *Response-to-injury*-Modell auf einer Schädigung des Endothels³⁸. Diese kann durch mechanische Beanspruchung oder schädigende Substanzen entstehen, die beispielsweise im Rahmen von Diabetes mellitus, oxidativem Stress, metabolischem Syndrom, Infektionen oder durch das Rauchen von Zigaretten vorkommen. Chronische oder wiederholte Schädigungen führen zu einer Störung der Endothelfunktion, auf die eine subendotheliale Ablagerung von vor allem Apolipoprotein-B-enhaltenden Lipoproteinen, wie dem Low-density-Lipoprotein (LDL), folgt²⁸. Ohne protektive Stoffe aus dem Blutplasma kommt es zur Oxidation der abgelagerten Lipoproteine. Hierdurch werden die Endothelzellen aktiviert, woraufhin sie vermehrt adhäsive Glykoproteine an ihrer Oberfläche exprimieren sowie verschiedene Zytokine ausschütten²⁸. Monozyten und T-Lymphozyten werden auf diese Weise angezogen. Sie binden sich an das Endothel, wandern hindurch und häufen sich subendothelial an³¹. Die dorthin eingewanderten Monozyten reifen zu Makrophagen und phagozytieren die abgelagerten modifizierten Lipoproteine. Dies führt zu zytoplasmatischen Lipidablagerungen in den Makrophagen, die dann aufgrund ihrer mikroskopischen Darstellung als Schaumzellen bezeichnet werden³⁹. Die Schaumzellen tragen zu einem Fortschreiten der Entzündungsreaktion bei, es kommt zur weiteren Einwanderung von Immunzellen und zur Proliferation glatter Muskelzellen in der Tunica Media und deren Migration in die Tunica Intima. Dort produzieren sie extrazelluläre Matrix und bilden somit eine fibröse Kappe über der Schaumzellansammlung³⁹. Im Laufe des Entzündungsprozesses kommt es in der Läsion zur Apoptose von Makrophagen, T-Lymphozyten und glatten Muskelzellen. Es entstehen nekrotische Areale, Lipide und Zelldetritus werden freigesetzt, was die Entzündung weiter aufrecht erhält⁴⁰. Die Stabilität solch einer Plaque hängt von der Größe des Lipidkerns, der Dicke der bedeckenden fibrösen Kappe sowie der Anzahl der darin enthaltener Makrophagen ab⁴¹.

2.2.3 Entstehung und Konsequenzen der arteriellen Gefäßsteifigkeit

Während die Atherosklerose zunächst eine Erkrankung der Tunica Intima ist, entsteht eine erhöhte arterielle Gefäßsteifigkeit vor allem durch pathologische Prozesse in der Tunica Media. Die Verhärtung der Gefäßwand kommt einerseits durch einen strukturellen Umbau, andererseits durch Ablagerung von Calcium zustande⁴².

Die Stabilität und Elastizität der Gefäßwand wird maßgeblich durch das Gleichgewicht zweier Proteine der Tunica Media bestimmt: das Kollagen und das Elastin. Wenn dieses Gleichgewicht

zu Gunsten des Kollagens gestört wird, nimmt die Gefäßsteifigkeit zu, wie es im physiologischen Alterungsprozess der Fall ist ⁴². Durch Fragmentierung von Elastin-Molekülen nimmt die Elastizität ab und die Zunahme des Kollagens führt zu einem Remodeling der Tunica Media. Weiterhin hypertrophieren die glatten Muskelzellen, wodurch die Intima-Media-Dicke zunimmt⁴². Diese Veränderungen kommen besonders in den großen elastischen Gefäßen vor, während die distalen Gefäße meist ausgespart werden ⁴³.

Eine weitere Veränderung, die zu erhöhter Gefäßsteifigkeit führt, ist die Kalziumablagerung in der arteriellen Gefäßwand. Eine Kalzifikation der Tunica Media nimmt mit dem Alter zu, unabhängig vom Vorhandensein atherosklerotischer Plaques ⁴⁴.

Der Verlust an Elastizität, der fibröse Gefäßumbau sowie die Zunahme an Calciumablagerungen in der Tunica Media führen somit zu einer erhöhten Gefäßsteifigkeit. Die arterielle Gefäßsteifigkeit ihrerseits führt zur arteriellen Hypertonie und ist mit einem erhöhten Vorkommen kardiovaskulärer Ereignisse assoziiert ³⁷.

Auch wenn die Ätiologie der Gefäßsteifigkeit und der Atherosklerose unterschiedlich ist, konnte dennoch eine Assoziation zwischen beiden Veränderungen gezeigt werden. Einerseits prädisponieren die strukturellen Veränderungen, die mit der Gefäßsteifigkeit einhergehen, zur Atherosklerose, andererseits trägt die Atherosklerose zu einer Gefäßversteifung bei ⁴⁵.

2.2.4 Inflammation als kardiovaskulärer Risikofaktor

Die Atherosklerose ist eine inflammatorische Erkrankung ²⁹. Seitdem diese These anerkannt wurde, haben Inflammationsmarker vermehrt an Bedeutung zur Risikoeinschätzung für kardiovaskuläre Ereignisse gewonnen. Relevante Entzündungsparameter sind unter anderem das C-reaktive Protein (CRP) und das Serum-Amyloid-A (SAA) ⁴⁶.

Das Akute-Phase-Protein CRP wird in der Leber produziert und ist ein etablierter Parameter zur Überwachung der Aktivität infektiöser und rheumatischer Erkrankungen ⁴⁷. Es ist ferner assoziiert mit kardiovaskulären Risikofaktoren wie Adipositas, arteriellem Hypertonus, erhöhtem LDL und Cholesterin und erniedrigtem HDL sowie auch mit dem Auftreten koronarer Herzkrankheit ⁴⁸.

Das Serum Amyloid A (SAA) ist ebenfalls ein Akute-Phase-Protein, das von der Leber produziert wird und dessen Relevanz im Zusammenhang mit kardiovaskulären Erkrankungen in den letzten Jahren zunehmend erkannt wurde.

Erhöhte SAA-Werte scheinen mit dem Ausmaß der Atherosklerose im Zusammenhang zu stehen und korrelieren mit dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse ^{49,50}. SAA ist außerdem ein Marker

für metabolische Zustände, wie Adipositas oder ein verändertes Lipoproteinprofil, die ihrerseits ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen mit sich tragen ⁵¹.

Sowohl SAA als auch CRP konnten in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden und scheinen direkt am inflammatorischen Prozess der Atheroskleroseentstehung beteiligt zu sein ^{50,52}.

Neben ihren proatherogenen Eigenschaften tragen SAA und CRP auch zur Destabilisierung von bestehenden Plaques bei ⁴⁹. Weiterhin scheinen erhöhte SAA-Werte den reversen Cholesterintransport sowie die HDL-Funktionalität beeinflussen zu können, was wiederum ein erhöhtes Risiko kardiovaskulärer Erkrankungen nach sich zieht ⁵³.

Bei Patienten mit PKU wurde durch Testung verschiedener Interleukine bereits ein erhöhtes inflammatorisches Potential diskutiert ^{54,55}. Über SAA als Entzündungsparameter ist bei PKU-Patienten bisher nichts bekannt, was allerdings zur Beurteilung des kardiovaskulären Risikos von Belang sein könnte.

2.2.5 Lipoproteinprofil und kardiovaskuläres Risiko

2.2.5.1 Lipoproteine und reverser Cholesterintransport

Bei Lipoproteinen handelt es sich um Aggregate, bestehend aus Proteinen (Apolipoproteinen) und Lipiden, die für den Transport hydrophober Lipide im Blut zuständig sind. Der Aufbau eines Lipoproteins ist ähnlich dem einer Mizelle mit einem hydrophilen Anteil an der Außenseite und einem lipophilen Kern. Die Lipoproteine werden mit ansteigender Dichte in vier verschiedene Klassen unterteilt: Chylomikronen, *very low density lipoproteins* (VLDL), *low density lipoproteins* (LDL) und *high density lipoproteins* (HDL). Diese haben jeweils eine spezifische Zusammensetzung von Lipiden und Apolipoproteinen (Apo). Während VLDL und LDL besonders reich an Apo B sind, enthält HDL vor allem Apo A1 und Apo E ⁵⁶.

Ein veränderter Lipoproteinstatus, vor allem erhöhte LDL-Cholesterin-Werte sowie verminderte HDL-Cholesterin-Werte, tragen durch Endothelschädigungen zur Atheroskleroseentstehung bei und sind mit erhöhtem Vorkommen kardiovaskulärer Ereignisse vergesellschaftet ^{57,58}.

HDL spielt eine wichtige Rolle für den reversen Cholesterintransport. Hierunter versteht man die Rückführung von Cholesterin aus extrahepatischem Gewebe zur Leber, die für dessen Ausscheidung verantwortlich ist ⁵⁶. Besonders der HDL-vermittelte Cholesterinrücktransport aus atherosklerotischen Schaumzellen senkt die Inflammation in der Gefäßwand und wirkt somit gefäßprotektiv ⁵⁹.

HDL verbessert außerdem die Endothelfunktion durch Stimulation der NO-Ausschüttung und durch eine endotheliale antiapoptotische Wirkung ²⁴. Es reduziert die Oxidation von LDL im Atherosklerose-Prozess ⁶⁰ und wirkt antiinflammatorisch durch Verminderung der Expression von Adhäsionsmolekülen auf dem Endothel und auf Leukozyten ⁶¹. Hohe HDL-Werte konnten nicht

nur mit einer geringeren Atheroskleroseentwicklung, sondern auch mit einer geringeren Rate kardiovaskulärer Erkrankungen in Verbindung gebracht werden ⁶². HDL wirkt also kardio- und gefäßprotektiv ^{24,60}.

2.2.5.2 Entstehung und Bedeutung von HDL-Subtypen

Im Blut zirkulierendes HDL lässt sich anhand der Form sowie des Lipid- und Apolipoproteinanteils weiter in Subklassen einteilen: Prä-β-HDL, HDL2 und HDL3. Der Stoffwechsel des HDL spielt sich folgendermaßen ab: Durch Bindung von Lipiden an das in der Leber produzierte Apolipoprotein A1 mithilfe eines ATP-abhängigen Transporters (ABCA1) entsteht das diskoidale Prä-β-HDL. Durch Interaktion mit dem Enzym Lecithin-Cholesterin-Acyl-Transferase (LCAT) nimmt der Gehalt an Cholesterinestern zu, die Partikeldichte nimmt ab und es entsteht zunächst HDL3. Bei fortbestehender Interaktion entsteht aus HDL3 dann das noch weniger dichte und größere HDL2 ^{56,60}.

HDL2 besitzt eine gefäßprotektive Wirkung. Es korreliert negativ mit dem Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen sowie mit der Ausprägung von Koronarverkalkungen und athrosklerotischen Plaques, wodurch es als unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen gewertet wurde ⁶³⁻⁶⁵.

Insgesamt wird davon ausgegangen, dass die Beurteilung der HDL-Subklassen zusätzlich zur Gesamt-HDL-Konzentration weiteren Aufschluss über das kardiovaskuläre Risiko gibt ⁶³.

2.2.5.3 Lipoproteinprofil bei PKU-Patienten

Bei Patienten mit PKU ist ein verändertes Lipoproteinprofil bekannt. In verschiedenen Studien wurden verminderte Werte des kardioprotektiven HDL sowie geringere Gesamtcholesterinwerte festgestellt ^{15,66}.

Zu der Verteilung in die verschiedenen HDL-Subklassen ist bei PKU-Patienten bisher noch nichts bekannt.

2.2.6 Oxidativer Stress und kardiovaskuläres Risiko

Beim oxidativen Stress handelt es sich um ein Ungleichgewicht zwischen Oxidantien und Antioxidantien zugunsten der Oxidantien. Diese entstehen im physiologischen Stoffwechsel, können aber auch vermehrt durch pathologische Prozesse generiert werden ⁶⁷.

Der oxidative Stress nimmt einen wichtigen Stellenwert in der Entstehung der Atherosklerose ein und wird über eine gefäßschädigende und inflammatorische Wirkung mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko in Verbindung gebracht. Des Weiteren kann er zur Entstehung einer endothelialen Dysfunktion beitragen ²³.

Bei Patienten mit PKU konnte bereits erhöhter oxidativer Stress nachgewiesen werden^{13,14}. Um diesen mit der Gefäßfunktion und anderen kardiovaskulären Risikofaktoren bei PKU-Patienten in Zusammenhang zu bringen, wurden in dieser Studie ebenfalls Analysen zum oxidativen Stress durchgeführt.

2.2.6.1 Myeloperoxidase

Die Myeloperoxidase (MPO) ist ein Häm-Protein, das von Neutrophilen, Monozyten und Makrophagen bei deren Aktivierung ausgeschüttet wird⁶⁸. Sie spielt eine wichtige Rolle in der Abwehr von Mikroorganismen, kann bei einer Überaktivierung aber auch zu einer Entzündungsreaktion beitragen. Die MPO konnte in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden und fördert deren Entwicklung und Destabilisierung unter anderem durch eine erhöhte Vasokonstriktion und durch Oxidierung von prothrombotischen Lipoproteinen^{69,70}. Sie konnte mit dem Vorkommen kardiovaskulärer Erkrankungen in Zusammenhang gebracht werden und wird als prognostischer Biomarker für kardiovaskuläre Ereignisse angesehen^{68,69,71}. Das erhöhte kardiovaskuläre Risiko durch die MPO wird unter anderem auf eine Beeinträchtigung des reversen Cholesterintransports zurückgeführt²⁴. Ob die MPO bei PKU erhöht ist, ist bisher nicht bekannt.

2.2.6.2 Malondialdehyd

Das Malondialdehyd (MDA) ist ein Abbauprodukt mehrfach ungesättigter Fettsäuren und ein wichtiger Biomarker für oxidativen Stress⁷². MDA scheint über die Modifizierung von LDL und über zytotoxische Effekte auf Endothelzellen zur Atheroskleroseentstehung beizutragen und wird deshalb als Marker für kardiovaskuläre Erkrankungen angesehen^{73,74}. Weiterhin wurde gezeigt, dass MDA über die Oxidierung von Apo A1 den reversen Cholesterintransport einschränken und auch so zu einem erhöhten kardiovaskulären Risiko beitragen kann⁷⁵. Die genauen Wirkungsmechanismen von MDA sind allerdings noch nicht ganz geklärt⁷⁴. Erhöhtes MDA als Marker für oxidativen Stress bei PKU wurde bereits im Tiermodell sowie bei Menschen nachgewiesen^{76,77}.

2.2.6.3 3-Nitrotyrosin

Durch das Einwirken von reaktiven Sauerstoffradikalen und nachfolgend von Peroxinitrit auf die Aminosäure Tyrosin kann es zur Entstehung von 3-Nitrotyrosin (3NT) kommen. Es handelt sich hierbei um eine nicht proteinogene Aminosäure, die als oxidativer Stressmarker gewertet wird⁷⁸. 3-nitrotyrosinhaltige Proteine konnten in atherosklerotischen Plaques nachgewiesen werden, sowohl im Mausmodell als auch in Endothelien, Schaumzellen und Immunzellen von menschlichen atherosklerotischen Koronarplaques^{78,79}. Eine wichtige Rolle spielt 3NT besonders im späten Stadium der Atherosklerose und kann mit Plaque-Instabilität und Thrombusbildung in Zusammenhang gebracht werden^{78,80}. Insgesamt betrachtet lässt sich daraus schließen, dass 3NT

eine wichtige Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose und der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen zukommt ⁷⁸. Ob 3NT als oxidativer Stressmarker auch bei Phenylketonurie eine Rolle spielt, ist bisher nicht bekannt.

2.2.6.4 Telomerlänge

Telomere sind Nukleoproteine, die sich am Ende jedes Chromosoms befinden. Während jeder Zellteilung und somit mit steigendem Alter werden die Telomersequenzen kürzer. Daher werden sie als Biomarker des Alterungsprozesses angesehen ⁸¹. Oxidativer Stress scheint ebenfalls zu einer Telomerverkürzung beizutragen. So konnte unter dem Einfluss von Antioxidantien eine verlangsamte Telomerkürzung *in vitro* an humanen Endothelzellen beobachtet werden ^{81,82}. Andere Einflussfaktoren auf die Telomerlänge sind genetische Faktoren, Entzündungszustände und veränderte Lipidwerte. Verkürzte Telomere wurden auch wiederholt mit dem Vorkommen von kardiovaskulären Erkrankungen und Atherosklerose in Verbindung gebracht ⁸¹. Zhang et al. zeigten, dass bei Patienten mit Atherosklerose erhöhte Homocystein-Werte zu einer Telomerverkürzung in Leukozyten beitragen ⁸³. Hohe Homocystein-Werte wurden auch bei PKU-Patienten nachgewiesen ⁸⁴. Die Telomerlänge wurde bei dieser Erkrankung bislang allerdings nicht untersucht.

2.3 Fragestellung

In früheren Untersuchungen unserer Arbeitsgruppe wurde nachgewiesen, dass Patienten mit einer langbestehenden PKU teilweise renale Symptome, wie Nierenfunktionseinschränkungen, Proteinurie, Mikroalbuminurie und arterielle Hypertonie, aufweisen ⁸⁵. Zudem wurde bei Patienten mit PKU wiederholt oxidativer Stress nachgewiesen ^{13,14}. Dieser ist möglicherweise bedingt durch die Ernährung mit synthetischen Aminosäuregemischen, die einen Großteil der zugeführten Nahrung ausmachen, aber möglicherweise auch durch einen Mangel an Mikronährstoffen oder durch hohe Konzentrationen von Phenylalanin und dessen Abbauprodukten. Ferner konnte in einigen Studien ein verändertes Lipoproteinprofil im Sinne einer verringerten Konzentration des kardioprotektiven HDL gezeigt werden ^{15,66}.

Zusammengefasst deuten Nierensymptomatik (als eigenständiger kardiovaskulärer Risikofaktor), Nachweis von vermehrtem oxidativen Stress und eine erhöhte Zufuhr synthetischer Aminosäuren mit unbekanntem oxidativen Potential darauf hin, dass Patienten mit PKU im Langzeitverlauf ein erhöhtes Risiko für die Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen haben könnten. Entsprechende Untersuchungen wurden bisher nicht durchgeführt.

In dieser Studie sollte mittels nicht-invasiver Diagnostik das Ausmaß der endothelialen Dysfunktion und der Gefäßsteifigkeit bei Patienten mit länger bestehender PKU untersucht werden. Zur besseren Beurteilung des kardiovaskulären Risikos der Patienten wurde außerdem eine umfassende Analyse von oxidativem Stress, Lipoproteinstatus und Entzündungswerten durchgeführt. Weiterhin wurde die kumulative Einnahme der Aminosäuremischung der Patienten berechnet und die Serum-Phenylalaninfluktuationen der letzten Jahre bewertet, um den Einfluss dieser Faktoren auf die Gefäßfunktion zu untersuchen.

3 Methoden

3.1 Studienpopulation

3.1.1 Patienten

Die Studie wurde durch die zuständige Ethikkommission genehmigt (Nummer: EA2/091/13). Alle teilnehmenden Patienten befanden sich in regelmäßiger Betreuung durch das interdisziplinäre Stoffwechsel-Centrum, eine Ambulanz der Charité-Universitätsmedizin Berlin, im Campus Virchow Klinikum. Die Untersuchungen fanden zwischen dem 19.05.2014 und 22.07.2015 statt. Im Folgenden werden die Ein- und Ausschlusskriterien erläutert:

Einschlusskriterien:

- Phenylketonurie
(Phenylalanin-Hydroxylase-Defizienz)
- Alter \geq 16 Jahre
- Vorliegende Einverständniserklärung
des Patienten

Ausschlusskriterien:

- Raucher
- Fehlende Geschäftsfähigkeit
(mentale Retardierung bei spät erkannter PKU)
- Schwangerschaft
- Akute Erkrankung am Untersuchungstag

Insgesamt kamen 123 Patienten mit Phenylketonurie zur Teilnahme an der Studie in Frage. Unter Beachtung der Ein- und Ausschlusskriterien, unter Berücksichtigung einiger organisatorischer Einschränkungen sowie nach ausführlicher Aufklärung der Patienten durch den behandelnden Arzt des Stoffwechsel-Centrums blieben 29 Patienten übrig, die an der Studie teilnahmen. Weitere 6 Patienten wurden nachträglich ausgeschlossen: Bei drei Patienten stellte sich während der Untersuchung heraus, dass sie rauchten bzw. anderweitig nicht den Ein- und Ausschlusskriterien entsprachen und weitere drei Patienten lehnten die Teilnahme aus zeitlichen Gründen spontan ab (Abbildung 1). Insgesamt wurden 23 Patienten im Alter von 18 bis 47 Jahren (Mittelwert 31 Jahre) in die Studie miteingeschlossen, davon 13 Männer und 10 Frauen.

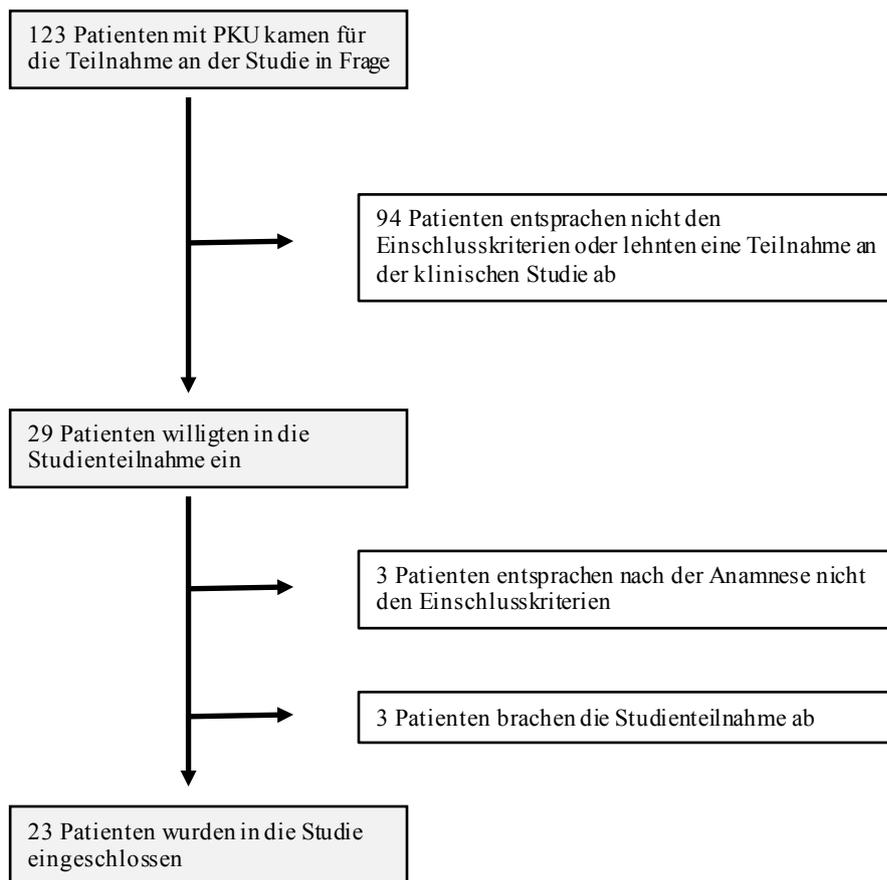


Abbildung 1: Flussdiagramm zum Einschluss der Patienten in die klinische Studie

Im Vorfeld der Untersuchung wurden die Patienten durch die betreuende Ernährungsberaterin über die Studie informiert und gebeten, vor dem Studientermin über drei Tage hinweg ein Ernährungsprotokoll anzufertigen. Außerdem erhielten sie ein Informationsschreiben über die klinische Studie, wurden von ihrem behandelnden Arzt aufgeklärt und willigten schriftlich in die Studienteilnahme ein.

Die Patienten erschienen am Tag der Untersuchung nüchtern und ohne vorherigen Konsum koffeinhaltiger Getränke zu ihren routinemäßigen Terminen in der Ambulanz. Es erfolgte die übliche Blutentnahme des Stoffwechsel-Centruns sowie die zusätzliche Abnahme von zwei Blutentnahmeröhrchen (ein EDTA, ein Serum) zu Studienzwecken für die Bestimmung von oxidativen Stressparametern, Inflammationsmarkern und Lipoproteinprofil. Weiterhin erfolgte eine ebenfalls routinemäßige Untersuchung des Spontanurins.

Im Anschluss erfolgten die Untersuchungen für die Studie durch immer denselben Untersucher: Erfassung von Größe und Gewicht mit einer einheitlichen Waage, Errechnen des BMI, Messung des Blutdruckes, der Endothelfunktion (Venenschlussplethysmographie) sowie der Pulswellengeschwindigkeit. Für die Gewichtsmessung trugen die Patienten keine Schuhe, keine Jacke, keinen Pullover, die Hosentaschen waren entleert. Neben den Messwerten wurden folgende

Informationen mit aufgenommen: Vorerkrankungen, aktuelle Diät mit genauen Angaben zur Einnahme von Aminosäuremischungen und von weiteren Medikamenten, Uhrzeiten der letzten Medikamenteneinnahme und Nahrungsaufnahme sowie Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen. Die Daten wurden in pseudonymisierter Form (3-stellige Codes) erfasst und ausgewertet.

3.1.2 Kontrollen

Um Vergleichswerte zu erhalten, wurde eine Gruppe gesunder Kontrollpersonen ohne chronische Erkrankung untersucht. Die Teilnahme an der Studie war freiwillig. Es nahmen 28 Probanden im Alter von 18 und 47 Jahren (Mittelwert 30 Jahre) an der Studie teil, davon 11 Männer und 17 Frauen.

Die Probanden erhielten im Vorfeld per E-Mail ein Informationsschreiben über die Studie. Nach eingehender Aufklärung erfolgte die schriftliche Einwilligung vor Ort am Tag der Untersuchung. Die Probanden erschienen nüchtern und ohne vorherigen Konsum koffeinhaltiger Getränke zum Termin. Nach dem gleichen Schema wie für die Patientengruppe erfolgte die Messung von Gewicht, Größe und Blutdruck durch denselben Untersucher und an denselben Geräten, die auch für die Patienten benutzt wurden. Eine Blutentnahme von zwei Blutentnahmeröhrchen (ein EDTA, ein Serum) für oxidative Stressparameter, Inflammationsmarker und den Lipoproteinstatus wurde durchgeführt. Messungen der Endothelfunktion (Venenschlussplethysmographie) und der Pulswellengeschwindigkeit wurden nach gleichem Schema und von dem gleichen Untersucher durchgeführt wie in der Patientengruppe. Des Weiteren wurden Informationen über Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme, Uhrzeiten der letzten Nahrungsaufnahme und Familienanamnese für kardiovaskuläre Erkrankungen mit aufgenommen. Auch die Daten der Kontrollgruppe wurden in pseudonymisierter Form (3-stelliger Code) erfasst und ausgewertet.

3.2 Nicht-invasive vaskuläre Diagnostik

3.2.1 Venenschlussplethysmographie

Die Venenschlussplethysmographie (VVP) stellt eine nicht-invasive Methode zur Bestimmung der arteriellen Durchblutung sowie der arteriellen Reserve einer Extremität dar und gibt somit Aufschluss über die Endothelfunktion⁸⁶. Mittels einer pneumatischen Manschette am proximalen Oberschenkel, die kurzzeitig auf 60mmHg aufgeblasen wird, kommt es zu einer Unterbrechung des venösen Rückflusses. Da hierbei der Blutfluss der Arterien unverändert bleibt, führt der kurze venöse Abflussstopp zu einer Volumenzunahme der distalen Extremität, die durch einen

quecksilberhaltigen Messfühler erfasst wird ³⁶ (Abbildung 2). Das Gerät berechnet anhand der distalen Umfangszunahme die Durchblutung der Extremität in ml pro 100ml Gewebe pro Minute.

Die Messungen wurden mit dem Gerät Compactus (Sogut Medical, Königsburg) durchgeführt. Die Patienten waren nüchtern und lagen mindestens zehn Minuten vor Messbeginn auf dem Rücken. Lagerung und Untersuchungsprotokoll richteten sich nach Voruntersuchungen derselben Arbeitsgruppe ⁸⁷. Mittels Schaumstoffklötzen und -keilen unter den proximalen Oberschenkeln und unter den Knöcheln wurden beide Beine oberhalb des Herzniveaus gelagert, um eine Entleerung der Venen zu gewährleisten. Die pneumatischen Manschetten wurden so proximal wie möglich an beiden Oberschenkeln und jeweils ein Messfühler an der breitesten Stelle der Unterschenkel platziert. Die Messungen wurden an beiden Beinen gleichzeitig durchgeführt. Nach Kalibrierung wurde die Ruhedurchblutung gemessen. Hierfür wurden die Oberschenkelmanschetten im Minutentakt für je 6 Sekunden auf 60 mmHg aufgeblasen. Durch die Messung der Umfangszunahme des Unterschenkels während dieser 6 Sekunden wurde vom Gerät die Ruhedurchblutung in ml pro 100 ml Gewebe pro Minute errechnet ⁸⁷ (Abbildung 2). Nach Ausschluss von Messfehlern verwendeten wir den Durchschnittswert von sechs bis neun Messungen für die Ruhedurchblutung.

Im Anschluss wurde die arterielle Durchblutungsreserve gemessen. Hierfür wurden die Oberschenkelmanschetten für 3 Minuten auf 180 mmHg bzw. auf mindestens 50 mmHg über den systolischen Blutdruck zur Erzeugung einer Ischämiewirkung aufgeblasen ^{87,88}. Hierauf folgten fünf Einzelmessungen der endothelabhängigen reaktiven Hyperämie (in ml pro 100ml Gewebe pro Minute) im Abstand von 10 Sekunden mit einem Manschettendruck von 60 mmHg über einen Zeitintervall von 5 Sekunden (Abbildung 2). Jede Einzelmessung erfasst die Umfangszunahme des Unterschenkels, woraus der postischämische Blutfluss (PIBF) während des jeweiligen Zeitintervalls (in ml pro 100ml Gewebe pro Minute) ermittelt wird (Abbildung 3). Der postischämische Spitzenfluss (*post-ischemic peakflow*, PIPF) entspricht dem höchsten Volumenstrom während der postischämischen Phase.

Das Verhältnis des PIPF zur Ruhedurchblutung (*low baseline bloodflow*, LBF) entspricht der postischämischen Flussreserve (PIFR):

$$PIFR = \frac{PIPF}{LBF}$$

$$[PIFR] = \frac{[PIPF]}{[LBF]} = \frac{\left[\frac{ml}{min \times 100ml \text{ Gewebe}} \right]}{\left[\frac{ml}{min \times 100ml \text{ Gewebe}} \right]}$$

Das Verhältnis des postischämisch geflossenen Blutvolumens zum geflossenen Blutvolumen in Ruhe (Abbildung 3) wurde aus dem Verhältnis der Integrale des postischämischen Blutflusses (AUC_{PIBF}) und der Ruhedurchblutung (AUC_{LBF}) über 45 Sekunden berechnet und entspricht der postischämischen Volumenreserve (PIVR):

$$PIVR = \frac{AUC_{PIBF}}{AUC_{LBF}} = \frac{\int_{0s}^{20s} PIBF(t) dt}{\int_{0s}^{20s} LBF(t) dt}$$

$$[PIVR] = \frac{\int \left[\frac{ml}{min \times 100ml \text{ Gewebe}} \right] d[min]}{\int \left[\frac{ml}{min \times 100ml \text{ Gewebe}} \right] d[min]}$$

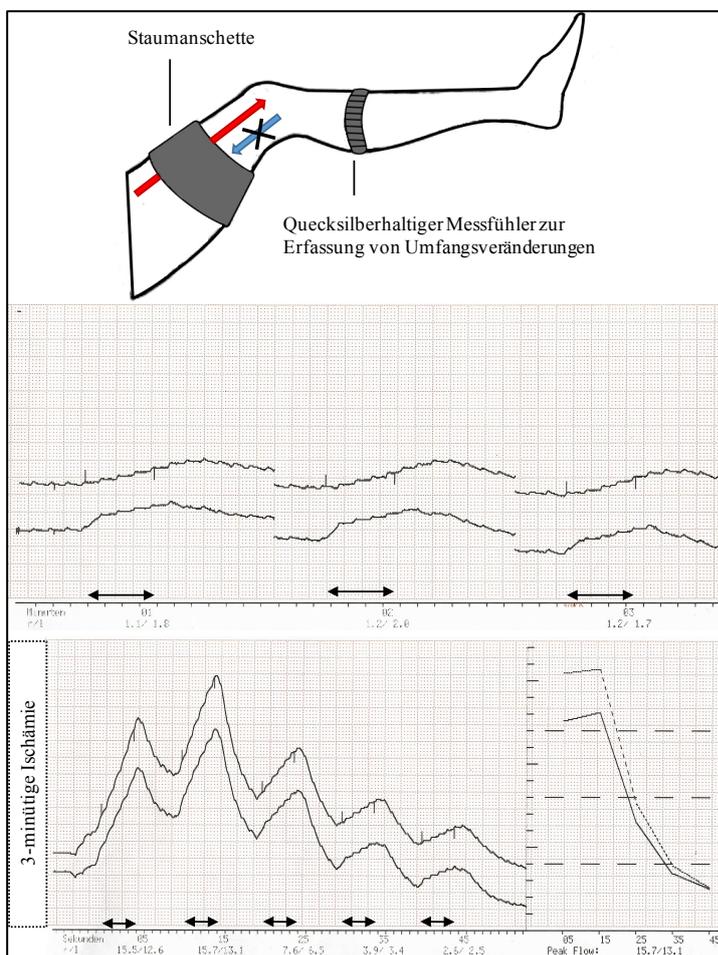


Abbildung 2: Oben: Schematische Darstellung der VVP-Messung am Bein. Während der Messungen wird der Druck in der Staumanschette konstant zwischen arteriellem und venösem Blutdruck gehalten, sodass arterielles Blut weiter ins Bein strömt (roter Pfeil), venöses Blut aber nicht abfließen kann (blauer Pfeil). Anhand der Volumenzunahme des Beines wird die arterielle Durchblutung berechnet. **Mitte und unten:** Plethysmographiekurven: Dargestellt sind die Volumenveränderungen des rechten und des linken Beins pro 100 ml Gewebe in Abhängigkeit von der Zeit. Die schwarzen Pfeile stellen den Zeitraum der Stauung dar. **Mitte:** Messung der Ruhedurchblutung: Gestaut wird im Minutentakt für je 6 Sekunden.

Unten: Messung nach 3-minütiger Ischämie: Gestaut wird alle 10 Sekunden für eine Dauer von 5 Sekunden. Die rechte Kurve stellt den postischämischen Blutfluss im Verlauf der Zeit dar. Der Spitzenfluss wird in dieser Kurve während der zweiten Messung erreicht.

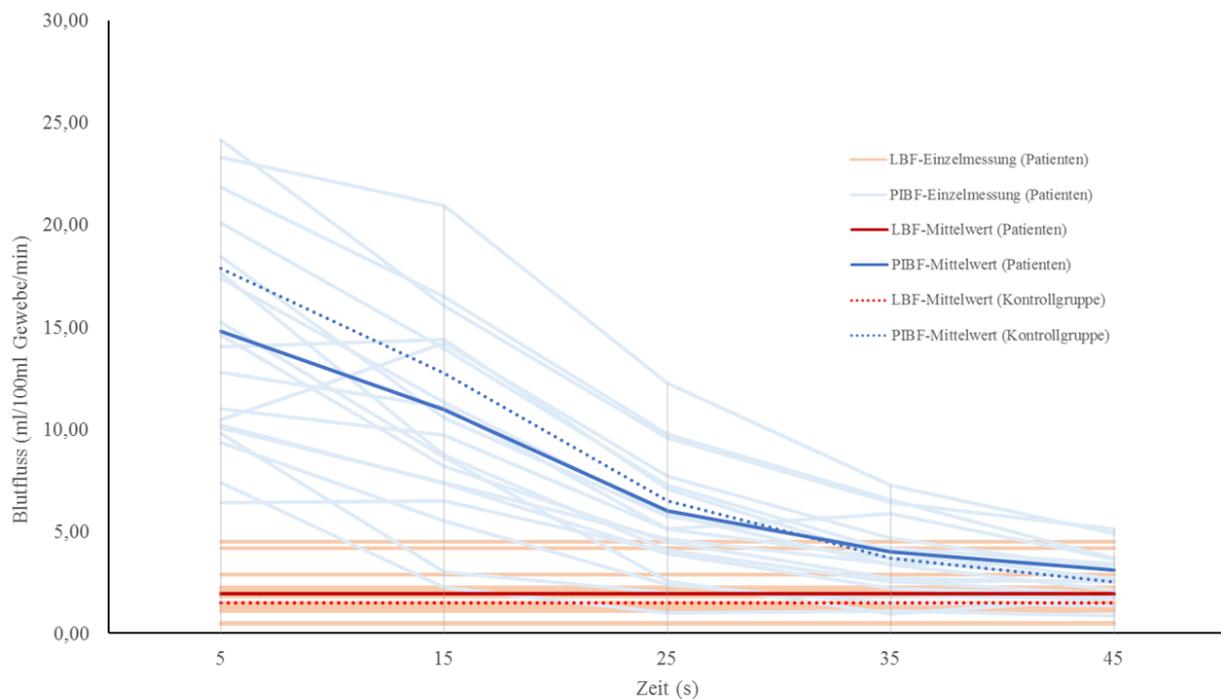


Abbildung 3: VVP Messung des Blutflusses der PKU-Patienten in der postischämischen Phase und in der Ruhephase im Verhältnis zur Zeit. Die hellblauen Linien stellen den postischämischen Blutfluss nach 3-minütiger Ischämie (PIBF) jedes einzelnen Patienten dar, der durchschnittliche PIBF der PKU-Patienten entspricht der dunkelblauen Linie, die blau gepunktete Linie zeigt den durchschnittlichen PIBF der Kontrollgruppe. Einzelmessung der Kontrollen sind nicht dargestellt. Der Postischämische Spitzenfluss (PIPF) entspricht dem maximalen PIBF innerhalb der ersten 15 Sekunden nach Ischämie. Die orangenen Linien stellen die Ruhedurchblutung (LBF) jedes einzelnen Patienten dar (teilweise nicht unterscheidbar). Die durchschnittliche LBF der PKU-Patienten entspricht der roten Linie, die durchschnittliche LBF der Kontrollgruppe der rot gepunktete Linie.

3.2.2 Pulswellengeschwindigkeit

Die Pulswellengeschwindigkeit ist ein relevanter Parameter zur Beurteilung der arteriellen Gefäßsteifigkeit. Die Messung zwischen A. Carotis und A. Femoralis, wie wir sie in dieser Studie durchführten, gilt hierfür als Goldstandard³⁶.

Alle Messungen wurden mit dem Vicorder (SMT Medical, Würzburg) von immer demselben Untersucher durchgeführt. Die Probanden waren zum Zeitpunkt der Untersuchung nüchtern und lagen mindestens zehn Minuten vor Untersuchungsbeginn ruhig auf dem Rücken. Eine pneumatische Manschette wurde zur Pulswellenaufzeichnung der rechten A. Femoralis so

proximal wie möglich am rechten Oberschenkel befestigt, eine weitere Manschette wurde zur Aufzeichnung der Pulswelle der rechten A. Carotis um den Hals gelegt. Die Distanzen von der Oberschenkelmanschette über den Bauchnabel zum Sternoklavikulargelenk und vom Sternoklavikulargelenk bis zur Halsmanschette wurden manuell ausgemessen ⁸⁹ (Abbildung 4). Der Vicorder detektierte die Latenz zwischen den aufgezeichneten Pulswellen und errechnete nach Eingabe der Distanzen zwischen den Manschetten die Pulswellengeschwindigkeit in Meter pro Sekunde. Für die Auswertung errechneten wir den Mittelwert aus 3 bis 5 Messungen. Ausgeschlossen wurden Messungen, die über weniger als sechs Schläge aufgezeichnet wurden.

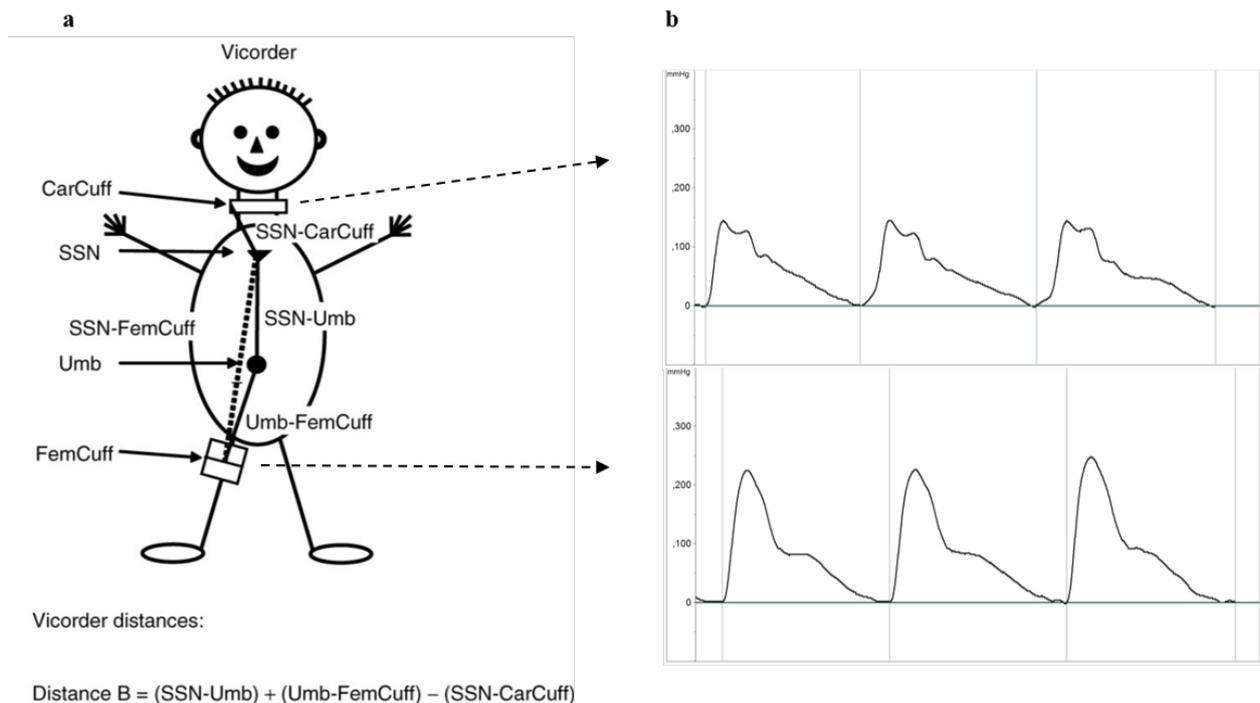


Abbildung 4: a: Schematische Darstellung der Messung der Pulswellengeschwindigkeit (Modifiziert nach Kracht et al.⁸⁹). Mittels Vicorder wird die Pulswelle an der Halsmanschette auf Höhe der Arteria Carotis (CarCuff) und an der Oberschenkelmanschette auf Höhe der Arteria Femoralis (FemCuff) gemessen. Während der Vicorder die Latenzzeiten der Pulswellen zwischen den beiden Messorten erfasst, wird die Distanz nach manueller Ausmessung anhand der gegebenen Formel (Distance B) berechnet. Der Vicorder errechnet dann anhand dieser Informationen die Pulswellengeschwindigkeit in Meter pro Sekunde. Abkürzungen: SSN: Jugulum (*suprasternal notch*), Umb: Bauchnabel (*umbilicus*) b: Durch den Vicorder gemessene Pulsdruckkurven. Oben: Pulswellen der Arteria Carotis. Unten: Pulswellen der Arteria Femoralis.

3.2.3 Blutdruckmessung

Die Blutdruckmessung sowie die Messung der Pulsfrequenz erfolgte im Liegen nach zehnmütiger Ruhezeit mit einem Dinamap® Pro 100V2-Monitor. Die Blutdruckmanschetten wurden nach Messung des Armumfangs adäquat ausgewählt. Erfasst wurden die Mittelwerte von

zwei aufeinanderfolgenden Messungen. Der mittlere arterielle Druck (MAD) wurde gemäß der DGAUM-Leitlinien nach folgender Formel berechnet ⁹⁰:

$$MAD = \text{diastolischer Blutdruck} + \frac{1}{3} * (\text{systolischer Blutdruck} - \text{diastolischer Blutdruck})$$

3.3 Laboranalysen

3.3.1 Routineblutentnahme

Folgende Parameter wurden in die Auswertung der Studie miteinbezogen: Phenylalanin-Serumkonzentration, Tyrosin-Serumkonzentration, Kreatinin, Selen, Urin-Albumin/Kreatinin-Quotient (ACR). Die Analysen wurden durch das Labor Berlin durchgeführt.

3.3.2 Blutentnahme für oxidative Stressmarker, Inflammationsmarker und Lipoproteinstatus

Die Blutentnahme erfolgte nüchtern am Untersuchungstag (siehe Absatz 2.1). Direkt im Anschluss wurde das Blut mit einer Sigma 2-16K Kühlzentrifuge (Thermo Fisher Scientific, Waltham, USA) mit 1000g bei 10°C für 15 Minuten zentrifugiert. Das Blutplasma wurde in 0,5 ml Portionen aliquotiert und bei -80°C bis zum Moment der laborchemischen Testungen eingefroren. Die Laboranalysen wurden von der *Renal and Vascular Research Group* der Charité Universitätsmedizin Berlin (Leitung: Herr Professor Markus van der Giet) durchgeführt.

3.3.2.1 Bestimmung der Gesamtcholesterin-, HDL-Cholesterin-, LDL-Cholesterin-, Triglycerid- und Phospholipidkonzentrationen

Das Gesamtcholesterin, HDL-Cholesterin (HDL-C), LDL-Cholesterin (LDL-C), Triglyceride und Phospholipide wurden mit kommerziell erhältlichen Assay-Kits der Firma Diasys (Holzeim, Deutschland) nach Herstellerinstruktionen gemessen. Hierfür wurden eine Mikrotiterplatte und ein Spektralphotometer (Skan IT software, version 2.4.4, Thermo Scientific, Langenselbold, Deutschland) verwendet.

Zur Bestimmung des HDL2C/3C-Quotienten wurde die HDL3C-Fraktion mittels des Quantolip reagent B (Technoclone, Wien, Austria) aus dem Serum ausgefällt und HDL2C wurde berechnet.

3.3.2.2 Bestimmung von Apolipoprotein A1, Serum Amyloid A, C-reaktivem Protein, Myeloperoxidase

Apolipoprotein A1, Serum Amyloid A (SAA), C-reaktives Protein (CRP) und Myeloperoxidase (MPO) wurden mit der Luminex™ Technik mittels kommerziell erhältlicher Assay-Kits nach

Herstellereinstruktionen (Merck Millipore, Darmstadt, Deutschland) bestimmt. Alle Messungen wurden mit einem Bio-Plex®-Gerät mit Bio-Plex®-Software (version 6.1) durchgeführt (Biorad, München, Deutschland).

3.3.2.3 Bestimmung von Malondialdehyd und 3-Nitrotyrosin

Malondialdehyd (MDA) und 3-Nitrotyrosin (3NT) wurden kalorimetrisch mittels Enzyme-linked Immunosorbent Assay (ELISA) nach Herstellerprotokoll bestimmt (MDA: Cloud-Clone Corp., Houston, TX, USA und 3NT: MyBioSource, San Diego, CA, USA).

3.3.2.4 Telomerlänge

Die Messung der Telomerlänge wurde durch die Arbeitsgruppe von Frau Professor Anette Melk (Medizinische Hochschule Hannover) mittels quantitativer Echtzeit-Polymerase-Kettenreaktion durchgeführt ⁹¹

3.4 Phenylalanin-Variabilität

Die Phenylalanin-Blutkonzentrationen der letzten 5 Jahre wurden aus den Patientenakten ermittelt und mit in die Auswertung aufgenommen. Als Phenylalanin-Fluktuation der letzten 5 Jahre wurde die Standardabweichung der Phenylalanin-Serumkonzentrationen verwendet.

3.5 Kumulative Aminosäurezufuhr

Die Zufuhr synthetischer Aminosäuren wurde anhand der Daten zur Verschreibung von Aminosäuregemischen der letzten Jahre ermittelt, wobei alle kontinuierlichen Verschreibungen verwendet wurden. Die Einnahme natürlicher Proteine wurde durch die Auswertung regelmäßig erfasster Ernährungsprotokolle analysiert. Aus der Summe hieraus ergab sich dann der Wert der Gesamtproteinzufuhr. In die Auswertung wurden folgende Parameter miteinbezogen: Die aktuelle Zufuhr synthetischer Aminosäuren pro Tag (g/d) sowie die aktuelle Gesamtproteinzufuhr pro Tag (g/d) zum Zeitpunkt der Untersuchung. Weiterhin wurde die durchschnittliche Zufuhr synthetischer Aminosäuren und die durchschnittliche Gesamtproteinzufuhr der letzten 5 Jahre pro Kilogramm Körpergewicht (g/d/kgKG) miteinbezogen. Als weiterer Wert wurde die kumulative Zufuhr synthetischer Aminosäuren (kg) miteinbezogen. Hierbei handelt es sich um die Summe der zu sich genommenen synthetischen Aminosäuren der letzten 5 Jahre.

3.6 Statistische Analysen

Vor Beginn der Studie führten wir eine Fallzahlplanung durch, der die Messergebnisse einer klinischen Studie zugrunde lagen, die dieselbe Methodik zur Beurteilung der

Pulswellengeschwindigkeit verwendete ⁹². In dieser Studie zeigten Kinder und Jugendliche nach Nierentransplantation eine signifikant höhere Pulswellengeschwindigkeit ($5,43 \pm 0,9$ m/s) als die Kontrollgruppe ($4,68 \pm 0,7$ m/s). Wir wählten die Ergebnisse dieser klinischen Studie zur Fallzahlplanung aus, da wir annahmen, dass PKU-Patienten eine erhöhte Gefäßsteifigkeit haben könnten, die möglicherweise auf eine Nierenfunktionsstörung zurückzuführen ist ⁸⁵. Die Teststärke (Power) wurde auf 80% festgelegt und sicherheitshalber der Einschluss von 30% mehr gesunden Kontrollen als PKU-Patienten geplant, um eine niedrigere Streuung der Vergleichswerte zu erhalten. Die errechnete Fallzahl betrug somit n=21 Patienten mit PKU und n=28 gesunde Kontrollen. Um trotz zu erwartender Studienabbrücher eine ausreichend große Patientengruppe in die Auswertung miteinbeziehen zu können, wurde eine 10% größere Fallzahl, daher n=23 Patienten, für die Studie rekrutiert.

Die Auswertung wurde mit dem Programm *Statistical Package for the Social Sciences* (SPSS) Version 24 durchgeführt. Probanden wurden auch bei einzelnen fehlenden Daten mit in die Auswertung einbezogen. Die Gruppenvergleiche für die unterschiedlichen Parameter wurden aufgrund der geringen Stichprobe und einiger nicht normalverteilter Daten mit dem nicht-parametrischen Mann-Whitney-U-Test analysiert.

Das Signifikanzniveau wurde bei einem p-Wert von 0,05 gesetzt. Aufgrund von multiplen Testen nach Bonferoni wurde für die Haupthypothese (Auswertung der drei Gefäßparameter PWV, PIFR, PIVR) das Signifikanzniveau auf 0,0167 gesenkt.

Um Korrelationen zwischen verschiedenen Parametern darzustellen, wurde bei nicht normalverteilten Daten die Korrelationsanalyse nach Spearman-Rho, bei normalverteilten Daten die Korrelationsanalyse nach Pearson gewählt.

Mittels multipler linearer Regressionsanalysen mit Einschluss-Modell wurden die Einflüsse unterschiedlicher freier Variablen auf die Gefäßparameter und die Lipoproteine analysiert. Bei jedem Regressionsmodell wurde auf Ausreißer und einflussstarke Fälle (mittels studentisierter Residuen und Cook-Distanz) sowie auf Normalverteilung, Varianzhomogenität, Unabhängigkeit der Residuen und Multikollinearität der unabhängigen Variablen getestet ⁹³.

Zur Veranschaulichung der Daten wurden Punkte-, Linien- und Boxplot-Diagramme sowie Tabellen verwendet.

4 Ergebnisse

4.1 Untersuchungsergebnisse und Zusammenhang zu den anthropometrischen Daten

4.1.1 Gruppenbeschreibung und Anthropometrie

In diese Studie wurden 23 Patienten mit Phenylketonurie im Alter von 18 bis 47 Jahren (Mittelwert 31 Jahre, Median 30 Jahre) eingeschlossen, davon waren 13 Männer (57%) und 10 Frauen (43%). In die Kontrollgruppe wurden 28 Probanden ebenfalls im Alter von 18 und 47 Jahren (Mittelwert 30 Jahre, Median 25 Jahre) eingeschlossen, davon 11 Männer (39%) und 17 Frauen (61%).

Die Tabelle 1 zeigt die Mittelwerte mit Standardabweichungen sowie den Median mit Interquartilsabstand der Patientengruppe und der Kontrollgruppe folgender Messwerte an: Alter, Body-Mass-Index (BMI), Pulsfrequenz, mittlerer arterieller Druck (MAD), systolischer Blutdruck, diastolischer Blutdruck und Blutdruckamplitude. Aufgrund einer kleinen Stichprobe und aufgrund von nicht in allen Fällen gegebener Normalverteilung wurden die Gruppenunterschiede mittels des nichtparametrischen Mann-Whitney-U-Tests geprüft. Es zeigten sich bei der Patientengruppe signifikant höhere Werte des BMI, mittleren arteriellen Drucks, systolischen und diastolischen Blutdrucks und der Pulsfrequenz im Vergleich zur Kontrollgruppe. 14% der Patienten (3 von 21 Patienten) wiesen nach deutschen Leitlinien eine arterielle Hypertonie auf (systolischer Blutdruck ≥ 140 mmHg und/oder diastolischer Blutdruck ≥ 90 mmHg)⁹⁴. Da aus Studien bekannt ist, dass BMI und Blutdruck in engem Zusammenhang stehen⁹⁵, wurde auf Zusammenhänge zwischen diesen Parametern getestet. In der Korrelationsanalyse nach Pearson zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI und den Blutdruckwerten bei den Patienten mit PKU. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen dem BMI und der Pulsfrequenz bestand ebenfalls nicht.

Weiterhin hatten die Patienten ein im Median höheres Alter, dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant.

	Patientengruppe			Kontrollgruppe			Gruppenunterschied im Mann-Whitney-U-Test (p)
	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	
Alter (Jahre)	30,8 (8,4)	30,0 (25,0-37,0)	23	30,1 (9,1)	25,0 (24,0-39,5)	28	0,507
BMI (kg/m ²)	27,6 (5,4)	26,3 (23,2-31,9)	21	23,4 (6,4)	22,2 (20,7-24,3)	28	0,000
Pulsfrequenz (min ⁻¹)	72,8 (10,5)	72,0 (65,0-78,5)	21	62,1 (9,9)	61,0 (56,0-66,0)	27	0,001
Mittlerer arterieller Druck (mmHg)	90,0 (7,5)	89,0 (85,0-93,5)	21	84,5 (7,1)	85,0 (78,3-88,8)	28	0,014
Systolischer Blutdruck (mmHg)	124,6 (10,4)	123,0 (118,5-130,0)	21	116,1 (10,7)	117,5 (106,3-123,8)	28	0,012
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	72,5 (6,9)	71,0 (67,0-75,0)	21	68,6 (7,3)	66,5 (65,0-73,5)	28	0,023
Blutdruckamplitude (mmHg)	52,1 (7,1)	52,0 (47,0-57,0)	21	47,5 (10,1)	46,5 (40,5-54,0)	28	0,059

Tabelle 1: Klinische Charakteristika der Patienten- und Kontrollgruppe. Abkürzungen: SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand.

4.1.2 Gefäßdaten

Um der Hypothese nachzugehen, dass Patienten mit Phenylketonurie steifere Gefäße und eine endotheliale Dysfunktion haben, wurden Messungen der Pulswellengeschwindigkeit (PWV) und Messungen mittels Venenverschlussplethysmographie (VVP) durchgeführt. Zur Prüfung auf signifikante Unterschiede der Gefäßwerte zwischen beiden Gruppen wurde der nicht-parametrische Mann-Whitney-U-Test angewandt.

Es zeigte sich eine signifikant höhere Pulswellengeschwindigkeit bei den Patienten mit PKU (Median 6,0m/s) im Vergleich zur Kontrollgruppe (Median 5,2 m/s; p = 0,001) (Abbildung 5, Tabelle 2).

In der Korrelationsanalyse nach Pearson, die hier aufgrund von normalverteilten Werten angewandt wurde, zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang der Pulswellengeschwindigkeit mit dem Alter (Tabelle 3). Um den Einfluss des Alters und der Gruppenzugehörigkeit auf die Pulswellengeschwindigkeit zu untersuchen, führten wir eine multiple lineare Regressionsanalyse durch (Tabelle 4). Das Modell zeigte sich mit einem Bestimmtheitsmaß von $R^2 = 0,494$ als gut brauchbar. Es wurde auf Ausreißer und einflussstarke Fälle geprüft (studentisierte Residuen min: -1,599, max.: 4,001; maximale Cook-Distanz=0,647). Weiterhin wurde auf Varianzhomogenität und Unabhängigkeit der Residuen (Durbin-Watson-Test: 2,239) getestet. Es bestanden lineare Beziehungen zwischen der abhängigen Variable und den unabhängigen Variablen, eine Multikollinearität lag nicht vor. Es zeigte sich ein starker und signifikanter Einfluss sowohl der Gruppenzugehörigkeit ($\beta = -0,48^{***}$) als auch des Alters ($\beta = 0,55^{***}$) auf die Ergebnisse der Pulswellengeschwindigkeit.

Die Messungen der Venenverschlussplethysmographie ergaben eine signifikant geringere postischämische Flussreserve (PIFR) und postischämische Volumenreserve (PIVR) bei den Patienten mit PKU im Vergleich zur Kontrollgruppe im Mann-Whitney-U-Test (Abbildung 5, Tabelle 2). Die PIFR war im Median 9,4-fache Steigerung zur Ruhedurchblutung in der Patientengruppe und eine 15,5-fache Steigerung in der Kontrollgruppe ($p=0,006$). Die PIVR war um das 4-fache gesteigert in der Patientengruppe im Verhältnis zur Ruhedurchblutung und um das 6-fache in der Kontrollgruppe ($p=0,020$). Somit war die PIFR um 65% höher und die PIVR um 50% höher bei der Kontrollgruppe im Vergleich zur Patientengruppe. Diese Ergebnisse sind gleichbedeutend mit einer starken Abnahme der endothelabhängigen dilatativen Kapazität („endotheliale Dysfunktion“) bei den Patienten mit PKU. Abbildung 6 zeigt eine höhere postischämische Durchblutungssteigerung bei der Kontrollgruppe im Vergleich zur Patientengruppe.

In der Korrelationsanalyse nach Pearson, die aufgrund normalverteilter Werte angewandt wurde, zeigte sich eine Assoziation zwischen der PIFR und dem BMI sowie dem MAD und ein Zusammenhang der PIVR zum BMI und MAD unter Einschluss beider Gruppen (Tabelle 3).

Wie zuvor für die PWV soll der Einfluss der assoziierten freien Variablen auf die Ergebnisse der VVP anhand eines multiplen Regressionsmodells getestet werden. Der PIFR als abhängige Variable soll auf den Einfluss des BMI, des MAD und der Gruppenzugehörigkeit getestet werden (Tabelle 4). Es wurde auf Ausreißer und einflussstarke Fälle geprüft (studentisierte Residuen min: -1,895, max.: 2,268; maximale Cook-Distanz=0,167). Weiterhin wurde auf Normalverteilung, Varianzhomogenität und Unabhängigkeit der Residuen (Durbin-Watson-Test: 1,994) getestet. In dem Regressionsmodell zeigte sich lediglich der BMI als signifikanter Einflussfaktor auf die PIFR ($\beta = -0,45^{**}$). Die Gruppenzugehörigkeit und der MAD zeigten keinen signifikanten Einfluss auf die PIFR.

Weiterhin sollte der Einfluss von BMI, MAD und der Gruppenzugehörigkeit auf die PIVR betrachtet werden (Tabelle 4). Das Bestimmtheitsmaß des Regressionsmodells war $R^2=0,306$ und das Modell somit brauchbar. Es wurde auf Ausreißer und einflussstarke Fälle geprüft (studentisierte Residuen min: -1,508, max.: 3,107; maximale Cook-Distanz=0,181). Weiterhin wurde auf Normalverteilung, Varianzhomogenität und Unabhängigkeit der Residuen (Durbin-Watson-Test: 2,099) getestet. Es bestanden lineare Beziehungen zwischen der abhängigen Variable und den unabhängigen Variablen, eine Multikollinearität lag nicht vor. Der BMI und der MAD zeigen sich als signifikante Einflussfaktoren auf PIVR (BMI: $\beta = -0,45^{**}$; MAD: $\beta = -0,35^*$). Die Gruppenzugehörigkeit zeigte sich in diesem Modell erneut nicht als signifikanter Einflussfaktor.

Die signifikant höheren Ergebnisse der Patientengruppe bei der PWV im Mann-Whitney-U-Test spricht für eine erhöhte Gefäßsteifigkeit bei den Patienten mit PKU im Vergleich zur Kontrollgruppe. Im multiplen Regressionsmodell zeigte sich, dass die Gefäßsteifigkeit sowohl von der Gruppenzugehörigkeit als auch vom Alter der Probanden abhängt.

Die im Mann-Whitney-U-Test errechneten niedrigeren Werte der PIFR und der PIVR bei Patienten mit PKU sprechen für eine schlechtere Endothelfunktion bei diesen Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe. In der multiplen Regressionsanalyse unter Einbeziehen des BMI und des Blutdruckes kann dieser Zusammenhang jedoch als ein Effekt dieser Faktoren erklärt werden. Somit kann eine endotheliale Dysfunktion bei der Patientengruppe mit PKU zwar nachgewiesen werden, scheint aber nicht durch die Erkrankung selbst, sondern durch einen höheren BMI vermittelt zu sein. Als weiterer unabhängiger Faktor hatte der Blutdruck zumindest grenzwertig einen signifikanten Einfluss auf die endotheliale Funktion ($p=0,015$ für PIVR; $p=0,050$ für PIFR).

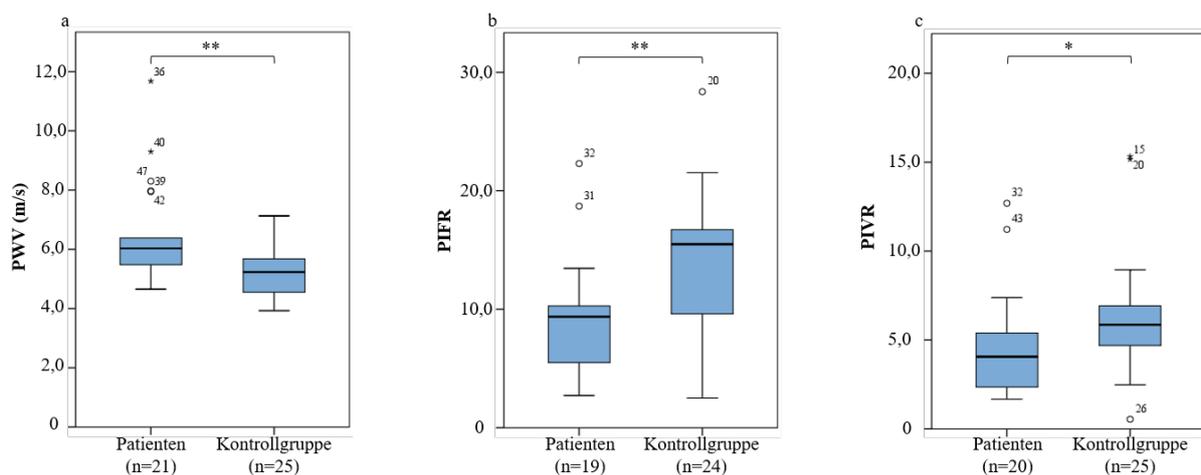


Abbildung 5: Boxplot-Darstellung der Pulswellengeschwindigkeit (PWV) und der Ergebnisse der Venenverschlussplethysmographie (PIFR, PIVR) der Patienten- und der Kontrollgruppe. Abkürzungen: PIFR: Postischämische Flussreserve, PIVR: Postischämische Volumenreserve, *: $p \leq 0,05$; **: $p \leq 0,01$; ***: $p \leq 0,001$ (Mann-Whitney-U-Test)

	Patientengruppe			Kontrollgruppe			Gruppenunterschied im Mann-Whitney-U-test (p-Wert)
	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	
PWV (m/s)	6,5 (1,7)	6,0 (5,4-7,2)	21	5,1 (0,8)	5,2 (4,4-5,7)	25	0,001
PIFR	9,2 (4,9)	9,4 (5,4-10,3)	19	14,1 (5,5)	15,5 (9,4-16,8)	24	0,006
PIVR	4,7 (3,0)	4,1 (2,3-5,5)	20	6,3 (3,2)	5,9 (4,7-7,0)	25	0,020

Tabelle 2: Ergebnisse der Gefäßuntersuchungen der Patienten- und Kontrollgruppe. Abkürzungen: PWV: Pulswellengeschwindigkeit, PIFR: Postischämische Flussreserve, PIVR: Postischämische Volumenreserve, SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand.

		PWV	PIFR	PIVR
Alter	r	0,537	-0,210	-0,130
	p	0,000	0,176	0,396
	n	46	43	45
BMI	r	0,239	-0,580	-0,502
	p	0,109	0,000	0,000
	n	46	43	45
MAD	r	0,233	-0,436	-0,451
	p	0,119	0,003	0,002
	n	46	43	45
PIFR	r	-0,314	-	0,884
	p	0,049	-	0,000
	n	40	-	43
PIVR	r	-0,253	0,884	-
	p	0,106	0,000	-
	n	42	43	-

Tabelle 3: Korrelationskoeffizienten nach Pearson (r) zur Darstellung der Zusammenhänge zwischen der Gefäßfunktion und den klinischen Charakteristika aller Probanden. Signifikante Zusammenhänge sind grün hinterlegt. Abkürzungen: MAD: Mittlerer arterieller Druck, PIFR: Postischämische Flussreserve, PIVR: Postischämische Volumenreserve, PWV: Pulswellengeschwindigkeit

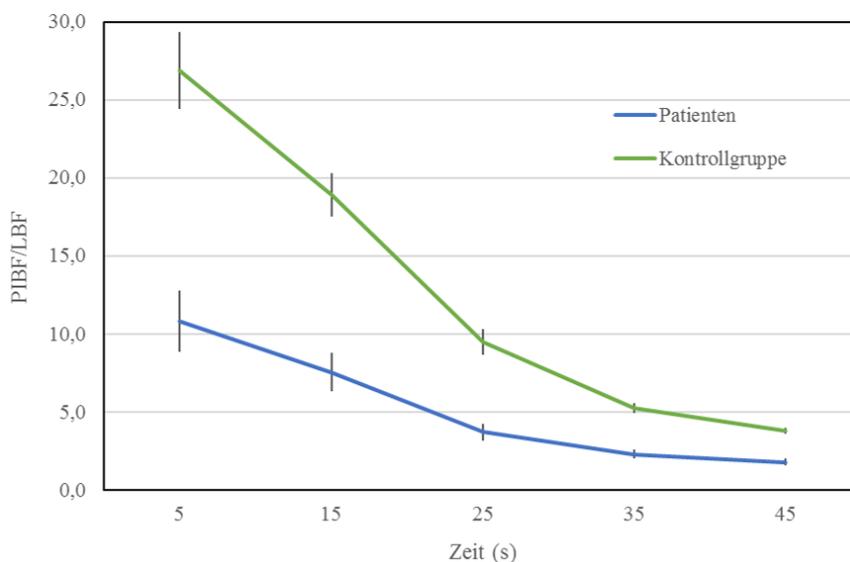


Abbildung 6: Postischämische Durchblutungssteigerung (mit Standardfehler) im Verhältnis zur Zeit nach 3-minütiger Ischämie. Die Postischämische Durchblutungssteigerung wurde aus dem Verhältnis des postischämischen Blutflusses (PIBF) und der Ruhedurchblutung (LBF) berechnet. Die blaue Kurve stellt die durchschnittliche postischämische Durchblutungssteigerung der Patienten dar und die grüne Kurve die der Kontrollen.

Abhängige Variable	Unabhängige Variablen	Angepasstes R ²	Koeffizienten			
			B (CI)	SE B	β	p
PWV		0,494	K: 3,76 (2,61; 4,90)	0,57		0,000
	Gruppe		-1,38 (-1,99; -0,76)	0,31	-0,48	0,000
	Alter		0,09 (0,06; 0,12)	0,02	0,55	0,000
PIFR		0,371	K: 41,86 (23,16; 60,55)	9,24		0,000
	BMI		-0,57 (-0,94; -0,19)	0,19	-0,45	0,004
	MAD				-0,27	0,050
	Gruppe			-0,10	0,530	
PIVR		0,306	K: 26,01 (15,22; 36,95)	5,38		0,000
	BMI		-0,32 (-0,54; -0,01)	0,11	-0,45	0,005
	MAD		-0,14 (-0,25; -0,03)	0,06	-0,35	0,015
	Gruppe				-0,10	0,499

Tabelle 4: Multiples Regressionsmodell zur Testung des Einflusses von klinischen Charakteristika auf die Gefäßfunktion. Variablen mit nicht-signifikanten Beta-Koeffizienten sind in grau dargestellt. Abkürzungen: MAD: Mittlerer arterieller Druck, PIFR: Postischämische Flussreserve, PIVR: Postischämische Volumenreserve, PWV: Pulswellengeschwindigkeit, R²: Bestimmtheitsmaß, B: nicht standardisierter Regressionskoeffizient, CI: Konfidenzintervall, SE: Standardfehler, β : standardisierter Regressionskoeffizient

4.1.3 Inflammation

Die Inflamationsparameter CRP und SAA wurden bei allen Probanden getestet mit der Vermutung, erhöhte Inflammation als Hinweis auf erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei den Patienten mit PKU zu finden.

Gruppenvergleiche wurden mithilfe des Mann-Whitney-U-Tests durchgeführt. Wir wählten einen nichtparametrischen Test aufgrund der geringen Stichprobenzahl und aufgrund von vorhandenen Ausreißern und nicht normalverteilten Daten. Es zeigten sich signifikant höhere CRP- ($p=0,010$) und SAA-Werte ($p=0,010$) bei den Patienten mit Phenylketonurie (Abbildung 7, Tabelle 5). Weiterhin zeigte sich eine starke Korrelation zwischen dem CRP und dem SAA ($R=0,793^{***}$, Tabelle 6). Da die Patientengruppe einen signifikant höheren BMI aufwies als die Kontrollgruppe (siehe Abschnitt 4.1.1) und ein hoher BMI mit erhöhten Entzündungsparametern einhergehen kann⁹⁶, sollte der Einfluss des BMI auf das CRP und SAA getestet werden. Beide Werte zeigten in der Korrelation nach Spearman einen signifikanten Zusammenhang zum BMI unter Einschluss beider Gruppen (Tabelle 6). Innerhalb der Patientengruppe zeigte sich keine signifikante Korrelation nach Spearman des BMI mit CRP oder SAA. Aufgrund von nicht normalverteilten Werten des SAA und des CRP konnte in diesem Fall keine multiple lineare Regressionsanalyse durchgeführt werden, um den Einfluss des BMI auf die CRP- und SAA-Werte zu testen.

Es zeigten sich weiterhin Unterschiede der SAA- und CRP-Werte zwischen den Geschlechtern im Mann-Whitney-U-Test. Bei Frauen waren die Werte signifikant höher in Vergleich zu den Männern (SAA: $p=0,016$, CRP: $p=0,003$). Da in der Kontrollgruppe der Frauenanteil höher ist als der Männeranteil, aber in Kontrollgruppe die SAA- und CRP-Werte geringer sind als in der Patientengruppe, erklärt die Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppen nicht die unterschiedlichen Inflammationswerte zwischen den beiden Gruppen.

Weiterhin wurde bei der Patientengruppe ein signifikant höherer Blutdruck als bei der Kontrollgruppe festgestellt (Abschnitt 4.1.1). Um den Einfluss des Blutdruckes auf die Inflammation zu testen wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman-Rho durchgeführt. Hierbei zeigte sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen CRP und MAD ($r=-0,029$, $p=0,948$) und SAA und MAD ($r=0,004$, $p=0,981$; Tabelle 6).

Bei den Patienten mit PKU ließ sich also ein inflammatorischer Phänotyp mit deutlich erhöhten CRP- und SAA-Werten im Vergleich zur Kontrollgruppe nachweisen. Diese erhöhten Entzündungsparameter waren unabhängig vom Blutdruck der Probanden. Der Einfluss des BMI konnte statistisch nicht untersucht werden.

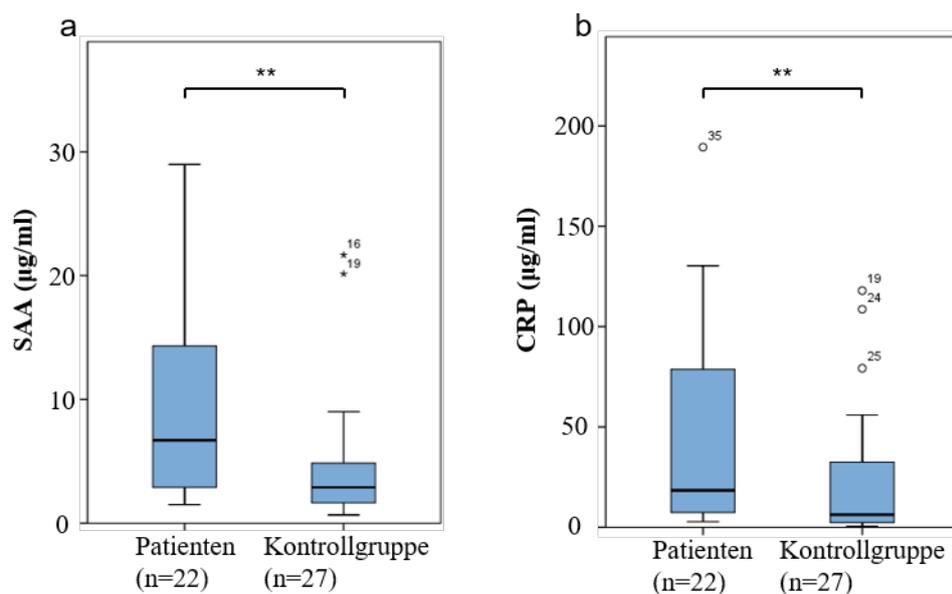


Abbildung 7: Boxplot-Diagramm zur Darstellung der Inflammationsmarker CRP und SAA der Patienten- und der Kontrollgruppe. Abkürzungen: CRP: C-reaktives Protein, SAA: Serum Amyloid A; **: $p \leq 0,01$ (Mann-Whitney-U-Test)

	Patientengruppe			Kontrollgruppe			Gruppenunterschied im Mann-Whitney-U-test (p)
	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	
CRP (µg/ml)	45,5 (53,4)	18,4 (7,3-83,3)	22	22,4 (33,7)	6,33 (2,0- 42,1)	27	0,010
SAA (µg/ml)	9,0 (7,8)	6,7 (2,8- 14,4)	22	4,6 (5,3)	2,9 (1,5- 5,2)	27	0,010

Tabelle 5: Inflammationsmarker CRP und SAA der Patienten- und Kontrollgruppe. Abkürzungen: CRP: C-reaktives Protein, SAA: Serum Amyloid A, SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand.

		CRP	SAA
Alter	r	0,239	0,139
	p	0,098	0,341
	n	49	49
BMI	r	0,426	0,322
	p	0,003	0,027
	n	47	47
MAD	r	-0,029	0,004
	p	0,849	0,981
	n	47	47
SAA	r	0,739	-
	p	0,000	-
	n	49	-

Tabelle 6: Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho (r) zur Darstellung der Zusammenhänge zwischen den Inflammationsmarkern und den klinischen Charakteristika aller Probanden. Signifikante Zusammenhänge sind grün hinterlegt. Abkürzungen: MAD: Mittlerer arterieller Druck, SAA: Serum Amyloid A, CRP: C-reaktives Protein.

4.1.4 Lipoproteinstatus

Als weiterer Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen wurde der Lipoproteinstatus der Patienten- und der Kontrollgruppe ausgewertet.

Tabelle 7 zeigt die Lipoprotein- und Lipidwerte der Patienten und der Kontrollen. Das Gesamtcholesterin, der LDL-C/HDL-C-Quotient sowie das Nicht-HDL-Cholesterin waren signifikant höher bei den Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe im Mann-Whitney-U-Test (Cholesterin: $p=0,003$; LDL-C/HDL-C-Quotient: $p=0,012$; Nicht-HDL-Cholesterin: $p=0,000$). Es zeigten sich bei den Patienten weiterhin nicht signifikant höhere Werte für LDL-C, Triglyceride, Phospholipide und Apo A1 (Tabelle 7). Außerdem waren die HDL-C-Werte der Patienten mit PKU signifikant niedriger ($p=0,047$). Das HDL-C wurde weiter in Subgruppen eingeteilt. Hierbei fiel im Mann-Whitney-U-Test ein signifikant niedrigeres HDL2C ($p=0,008$) und HDL2C/3C-Quotient ($p=0,011$) in der Patientengruppe auf. Beim HDL3C konnte kein klarer Unterschied beobachtet werden (Tabelle 7).

Da Lipoproteinwerte mit dem BMI im Zusammenhang stehen und die Patientengruppe einen signifikant höheren BMI aufwies (Abschnitt 4.1.1), wurde der Zusammenhang in der

Korrelation nach Pearson bei normalverteilten Werten dargestellt unter Einschluss beider Gruppen (Tabelle 8). Lediglich der LDL-C/HDL-C-Quotient korrelierte signifikant mit dem BMI.

Um den Einfluss der Gruppenzugehörigkeit und des BMI auf den LDL-C/HDL-C-Quotienten zu testen, wurde eine multiple lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Es wurde auf Ausreißer und einflussstarke Fälle geprüft (Standardisierte Residuen min: -1,461, max.: 3,178; maximale Cook-Distanz=0,747). Weiterhin wurde auf Varianzhomogenität und Unabhängigkeit der Residuen (Durbin-Watson-Test: 1,858) getestet. Das Regressionsmodell erreichte nur ein geringes Bestimmtheitsmaß von $R^2=0,09$. Die Gruppenzugehörigkeit zeigte einen signifikanten Einfluss auf den LDL-C/HDL-C-Quotienten ($\beta = -0,33^{**}$), der BMI dagegen nicht ($\beta = 0,20$, $p=0,172$).

Weiterhin wurden die Lipoprotein- und Lipidwerte nach Geschlechtsaufteilung betrachtet. Sowohl bei den Männern als auch bei den Frauen zeigten sich bei den Patienten weiterhin ein höheres Cholesterin, LDL-C, LDL-C/HDL-C-Quotient im Vergleich zur Kontrollgruppe. Unterschiedliche Trends zwischen den Geschlechtern zeigten sich nur bezüglich der Triglyceride und Phospholipide, diese waren bei den weiblichen Patienten höher und bei den männlichen Patienten niedriger als bei den entsprechenden Kontrollen. HDL2C und der HDL2C/3C-Quotient waren weiterhin bei beiden Geschlechtern niedriger in der Patientengruppe. HDL-C zeigt nur geringe Gruppenunterschiede. Bis auf die Phospholipide und Triglyceride war also der Trend der Lipoproteinwerte bei beiden Geschlechtern der gleiche.

In der Korrelationstabelle nach Pearson (Tabelle 8) konnte weiterhin ein starker Zusammenhang zwischen den Blutdruckwerten und HDL-C, HDL2C, HDL3C, dem HDL2C/3C-Quotient und dem LDL-C/HDL-C-Quotient nachgewiesen werden.

Es zeigte sich also bei der Patientengruppe mit PKU ein veränderter Lipoproteinstatus. Die Patienten wiesen signifikant erhöhte Cholesterinwerte und verringerte HDL-C-Werten auf. Vor allem HDL2C und somit auch der HDL2C/3C-Quotient waren bei den Patienten mit PKU signifikant niedriger als bei der Kontrollgruppe. Diese Veränderungen waren unabhängig vom BMI und ließen sich auch nicht durch die unterschiedliche Geschlechterverteilung innerhalb der Gruppen erklären.

	Patientengruppe (n=23)		Kontrollgruppe (n=28)		Gruppenunterschied im Mann-Whitney-U- test (p)
	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	
Cholesterin (mmol/l)	4,32 (0,59)	4,38 (3,80-4,77)	3,81 (0,55)	3,68 (3,35-4,06)	0,003
LDL-C (mmol/l)	2,77 (0,67)	2,74 (2,23-3,38)	2,60 (0,84)	2,49 (1,93-3,02)	0,256
HDL-C (mmol/l)	1,39 (0,34)	1,28 (1,10-1,70)	1,59 (0,28)	1,59 (1,31-1,83)	0,047
ApoA1 (mg/ml)	2,01 (0,70)	1,90 (1,59-2,32)	1,83 (0,31)	1,79 (1,54-2,15) ¹	0,329
Triglyceride (mmol/l)	1,33 (0,84)	1,01 (0,84-1,74)	1,14 (0,62)	1,05 (0,62-1,45)	0,460
Phospholipide (mmol/l)	2,67 (0,57)	2,56 (2,17-3,14)	2,58 (0,41)	2,46 (2,23-2,85)	0,835
HDL2C (mmol/l)	0,60 (0,30)	0,52 (0,34-0,88)	0,81 (0,24)	0,77 (0,59-1,02)	0,008
HDL3C (mmol/l)	0,76 (0,08)	0,76 (0,68-0,80)	0,78 (0,07)	0,77 (0,73-0,84)	0,325
HDL2C/3C-Quotient	0,78 (0,33)	0,73 (0,50-1,11)	1,05 (0,32)	0,99 (0,82-1,23)	0,011
LDLC/HDLC-Quotient	2,05 (0,52)	2,01 (1,66-2,25)	1,68 (0,56)	1,62 (1,20-2,02)	0,012
Nicht-HDL-Cholesterin (mmol/l)	2,93 (0,44)	2,91 (2,63-3,38)	2,22 (0,62)	2,24 (1,58-2,69)	0,000

Tabelle 7: Lipoprotein- und Lipidstatus der Patienten- und Kontrollgruppe. Abkürzungen: SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand, ¹ n=16.

		Cholesterin	LDL-C	HDL-C	LDLC/HDLC- Quotient	Triglyceride	Phospholipide	HDL2-C	HDL3-C	HDL2/3- Quotient	Nicht-HDL- Cholesterin
BMI	r	0,105	0,125	-0,224	0,287	0,109	0,008	-0,203	-0,172	-0,188	0,209
	p	0,473	0,394	0,122	0,046	0,458	0,957	0,161	0,237	0,195	0,150
Systolischer Blutdruck	r	-0,075	0,128	-0,499	0,436	0,092	-0,116	-0,546	-0,163	-0,567	0,170
	p	0,608	0,380	<0,001	<0,001	0,529	0,428	<0,001	0,262	<0,001	0,242

Tabelle 8: Korrelationskoeffizienten nach Pearson (r) zur Darstellung der Zusammenhänge zwischen den Lipoprotein- und Lipidwerten und den klinischen Charakteristika aller Probanden (n=49). Signifikante Zusammenhänge sind grün hinterlegt.

4.1.5 Oxidativer Stress

Um möglichen Einflussfaktoren auf die Endothelfunktion und die Gefäßsteifigkeit nachzugehen, wurde untersucht, ob PKU-Patienten erhöhten oxidativen Stress haben. Analysiert wurden die Parameter Myeloperoxidase (MPO), 3-Nitrotyrosin (3NT), Malondialdehyd (MDA) und die Telomerlänge.

Die Patientengruppe wies signifikant höhere MDA-Werte im Mann-Whitney-U-Test (p=0,010) auf. MDA zeigte keine signifikante Korrelation mit den Selenwerten, die sich in der Patientengruppe im unteren Normbereich befanden ($0,85 \pm 0,18 \mu\text{mol/l}$). 3NT zeigte keinen eindeutigen Unterschied zwischen den Gruppen. MPO war in der Kontrollgruppe höher als in der Patientengruppe jedoch auch nicht signifikant. Die Telomerlänge, die durch oxidativem Stress verkürzt werden kann und ein Indikator der vaskulären Alterung ist, zeigte sich leicht reduziert in

der Patientengruppe, ein signifikanter Unterschied bestand allerdings nicht (Abbildung 8, Tabelle 9) ⁸¹.

In der Korrelationsanalyse nach Pearson zeigte sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen MPO und MAD ($r=0,324$, $p=0,034$). Die anderen oxidativen Stressmarker zeigten keinen signifikanten Zusammenhang zum Blutdruck. Weiterhin bestand kein signifikanter Zusammenhang zwischen oxidativem Stress und BMI in unseren Daten.

Der einzige Hinweis auf oxidativen Stress bei PKU-Patienten waren die signifikant erhöhten MDA-Werte in der Patientengruppe.

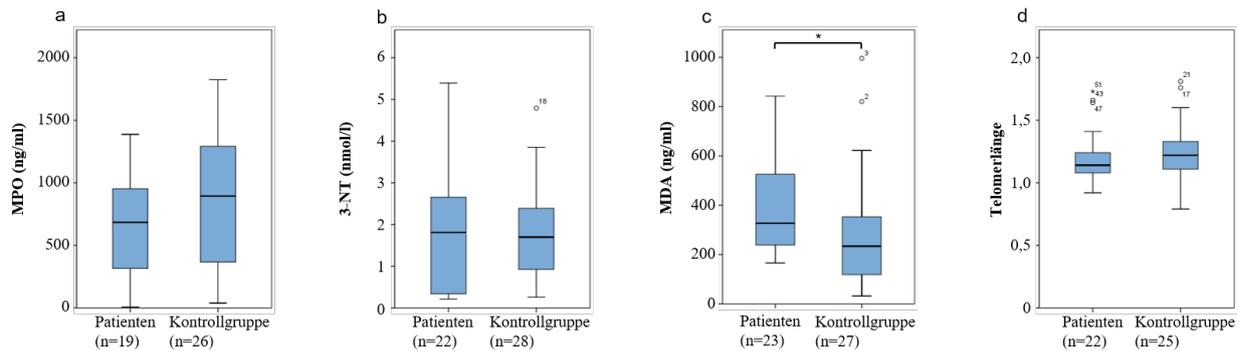


Abbildung 8: a-d: Boxplot-Diagramme zur Darstellung der oxidativen Stressparameter der Patienten- und der Kontrollgruppe. Abkürzungen: MPO: Myeloperoxidase, 3NT: 3-Nitrotyrosin; MDA: Malondialdehyd, *: $p \leq 0,05$ (Mann-Whitney-U-Test)

	Patientengruppe			Kontrollgruppen			Gruppenunterschied im Mann-Whitney-U-test (p-Wert)
	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n	
MPO (ng/ml)	685,7 (425,0)	684,0 (292,9-968,8)	19	870,9 (566,8)	893,7 (340,6-1328,2)	26	0,323
3NT (nmol/l)	1,7 (1,4)	1,8 (0,3-2,7)	22	1,8 (1,2)	1,7 (0,9-2,4)	28	0,506
MDA (ng/ml)	397,9 (208,1)	326,7 (231,9-590,3)	23	293,1 (242,2)	233,9 (115,4-381,1)	27	0,027
Telomerlänge	1,2 (0,2)	1,1 (1,1-1,2)	22	1,2 (0,3)	1,2 (1,1-1,3)	25	0,529

Tabelle 9: Oxidative Stressparameter der Patienten- und Kontrollgruppe. Abkürzungen: MPO: Myeloperoxidase, 3NT: 3-Nitrotyrosin; MDA: Malondialdehyd; SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand.

4.1.6 Phenylalanin-Blutkonzentration

Es wurden bei den Patienten die aktuellen Phenylalanin- sowie Tyrosin-Blutkonzentrationen am Untersuchungstag gemessen. Weiterhin wurde anhand der Patientenakten die durchschnittliche Phenylalanin-Blutkonzentration der vorausgegangenen 5 Jahre ermittelt (Tabelle 10).

	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n
Phenylalanin (mg/dl)	19,3 (6,3)	18,3 (14,1-24,6)	21
Tyrosin (mg/dl)	1,4 (0,6)	1,3 (0,9-2,0)	21
Phenylalanin 5J-Schnitt (mg/dl)	17,0 (4,3)	16,0 (14,3-20,6)	22

Tabelle 10: Serumkonzentrationen von Phenylalanin und Tyrosin, sowie der Phenylalanin 5-Jahres Durchschnitt der Patientengruppe. Abkürzungen SD: Standardabweichung, IQR: Interquartilsabstand.

4.1.7 Aminosäure-Zufuhr

Die Zufuhr von Aminosäuren wurde für die Patientengruppe ausgewertet. Die Ergebnisse sind in Tabelle 11 dargestellt. Es zeigte sich kein Zusammenhang zwischen der Aminosäurezufuhr und dem Blutdruck bei den Patienten. Die Gesamtproteinzufuhr sowie die Zufuhr synthetischer Aminosäuren der letzten fünf Jahre wurden pro Kilogramm Körpergewicht berechnet. Hier zeigt sich eine negative Korrelation nach Spearman-Rho mit dem BMI (Gesamtproteinzufuhr: $r = -0,855$, $p = 0,000$; Zufuhr synthetischer Aminosäuren: $r = -0,705$, $p = 0,002$). Die Patienten schienen also weniger Aminosäuren pro Kilogramm Körpergewicht zu sich genommen zu haben, je höher ihr BMI war.

	Mittelwert (SD)	Median (IQR)	n
Aktuelle Gesamtproteinzufuhr (g/d)	72,8 (12,4)	70,0 (62,3-80,0)	19
Aktuelle Zufuhr synthetischer AS (g/d)	58,1 (14,2)	58,5 (49,5-63,0)	19
Gesamtproteinzufuhr 5J (g/kg/d)	0,9 (0,2)	0,9 (0,7-1,1)	18
Zufuhr synthetischer AS 5J (g/kg/d)	0,8 (0,2)	0,7 (0,6-0,9)	18
Kumulative AS-Zufuhr 5J (kg)	98,1 (22,7)	96,4 (80,5-110,3)	18

Tabelle 11: Proteinzufuhr und Zufuhr synthetischer Aminosäuren der Patientengruppe. Abkürzungen: AS: Aminosäuren; 5J: 5-Jahres Durchschnitt, SD: Standardabweichung; IQR: Interquartilsabstand.

4.2 Zusammenhänge

4.2.1 Gefäßwerte und Inflammation/oxidativer Stress

Nachdem Gruppenunterschiede bezüglich der Gefäßfunktion festgestellt wurden, sollten anschließend Zusammenhänge zu möglichen Einflussfaktoren auf die Gefäßfunktion überprüft werden. Ausgehend von der Idee, dass sowohl Inflammation als auch oxidativer Stress einen Einfluss auf die Endothelfunktion und die Gefäßsteifigkeit haben könnten, sollte dessen Einfluss auf die Ergebnisse der PWV und der VVP geprüft werden.

Aufgrund der kleinen Stichprobe und der nicht normalverteilten Daten wurde die Korrelation nach Spearman-Rho angewandt. Betrachtete man ausschließlich die PKU-Gruppe ließ sich kein signifikanter Zusammenhang zwischen den Ergebnissen der PWV und der VVP und den

Inflationsparametern herstellen. Eine signifikante Korrelation zu den oxidativen Stressmarkern bestand nur zwischen dem 3-Nitrotyrosin und der PIVR ($r = -0,516$; $p = 0,024$). Da es sich bei Patientengruppe um eine kleine Stichprobe handelte, wurde als nächstes die Gesamtkohorte auf die eben genannten Korrelationen geprüft, um tendenzielle Zusammenhänge besser darstellen zu können. Tabelle 12 stellt die Zusammenhänge zwischen den Ergebnissen der PWV, der VVP und den Inflammationsparametern sowie den oxidativen Stressparametern dar, bei denen bereits Unterschiede zwischen den Gruppen festgestellt wurden. Die PIVR korrelierte signifikant mit den SAA-Werten ($r = -0,338^*$). Weiterhin ließ sich ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Pulswellengeschwindigkeit und dem CRP darstellen ($r = 0,368$). Es zeigte sich somit wie vermutet ein Zusammenhang zwischen Inflammation und Gefäßfunktion, allerdings nur unter Einbeziehen beider Gruppen. Ein Zusammenhang zwischen Gefäßfunktion und oxidativem Stress konnte nicht nachgewiesen werden.

		PWV	PIFR	PIVR
CRP	r	0,368	-0,243	-0,225
	p	0,014	0,126	0,146
	n	44	41	43
SAA	r	0,256	-0,297	-0,338
	p	0,094	0,059	0,027
	n	44	41	43
MPO	r	-0,027	-0,099	-0,227
	p	0,867	0,554	0,165
	n	41	38	39
3NT	r	-0,157	-0,226	-0,349
	p	0,303	0,151	0,020
	n	45	42	44
MDA	r	0,066	0,054	0,043
	p	0,666	0,730	0,778
	n	45	43	45
Telomerlänge	r	-0,181	0,030	0,046
	p	0,235	0,856	0,773
	n	45	39	41

Tabelle 12: Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho zur Darstellung der Zusammenhänge zwischen den Gefäßmessungen und den Inflammations- und oxidativen Stressmarkern aller Probanden. Alle signifikanten Zusammenhänge sind grün hinterlegt. Abkürzungen: CRP: C-reaktives Protein, SAA: Serum Amyloid A, MPO: Myeloperoxidase, 3NT: 3-Nitrotyrosin, MDA: Malondialdehyd, PWV: Pulswellengeschwindigkeit, PIFR: Postischämische Flussreserve, PIVR: Postischämische Volumenreserve.

4.2.2 Lipoproteinstatus und Inflammation/oxidativer Stress bei Patienten mit PKU

In den Abschnitten 4.1.3 bis 4.1.5 wurde gezeigt, dass Patienten mit PKU einen veränderten Lipoproteinstatus, erhöhten oxidativen Stress sowie erhöhte Inflammationswerte aufwiesen. Nun sollte geklärt werden, ob diese Auffälligkeiten miteinander im Zusammenhang stehen.

In der Patientengruppe wurden erhöhtes MDA sowie erniedrigtes HDL-C festgestellt (Abschnitte 4.1.4 und 4.1.5). Es sollte nun geprüft werden, ob diese Werte miteinander in Verbindung stehen. In der Korrelationsanalyse nach Spearman-Rho wurde eine starke Korrelation zwischen MDA-Werten und den HDL-Werten deutlich (Tabelle 13). Besonders stark war der Zusammenhang zwischen MDA und HDL2C ($r = -0,584^{**}$) bei der Patientengruppe (Abbildung 9, Tabelle 13). Weiterhin sollte der Einfluss der Phenylalanin-Blutkonzentration zum Zeitpunkt der Untersuchung auf eben diese Werte überprüft werden. Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen der aktuellen Phenylalaninkonzentration und dem HDL2C/3C-Quotienten ($r = -0,449$; $p = 0,041$) und ein nicht signifikanter Zusammenhang zum HDL2C ($r = -0,432$; $p = 0,051$). Ein Zusammenhang zum MDA konnte nicht festgestellt werden. In der linearen Regressionsanalyse sollte der Einfluss von MDA und der Phenylalaninkonzentration auf HDL2C überprüft werden (Tabelle 14). Es wurde auf Ausreißer und einflussstarke Fälle geprüft (studentisierte Residuen min: -2,000 max.: 1,502; maximale Cook-Distanz=0,230). Weiterhin wurde auf Normalverteilung, Varianzhomogenität und Unabhängigkeit der Residuen (Durbin-Watson-Test: 1,512) getestet. Es bestanden lineare Beziehungen zwischen der abhängigen Variable und den unabhängigen Variablen, eine Multikollinearität lag nicht vor. Aufgrund eines ausreichend hohen Bestimmtheitsmaßes ($R^2 = 0,508$) konnte das Regressionsmodell interpretiert werden. MDA und die Phenylalaninkonzentration hatten einen starken Einfluss auf die Werte des HDL2C (MDA: $\beta = -0,57^{**}$; Phenylalaninkonzentration: $\beta = -0,50^{**}$; Tabelle 14). Weiterhin zeigten sich in der Korrelationsanalyse nach Spearman-Rho bei PKU-Patienten Zusammenhänge des Cholesterins mit dem CRP ($r = 0,484$, $p = 0,022$), dem SAA ($r = 0,512$, $p = 0,014$) und negativ mit der Telomerlänge ($r = -0,463$, $p = 0,030$). Außerdem korrelierten die MPO-Werte signifikant mit dem LDL ($r = 0,489$, $p = 0,034$).

		SAA	CRP	MDA
Cholesterin	r	0,514	0,484	-0,284
	p	0,014	0,022	0,190
	n	22	22	23
LDL-C	r	0,432	0,484	-0,222
	p	0,045	0,022	0,308
	n	22	22	23
HDL-C	r	0,365	0,274	-0,466
	p	0,095	0,217	0,025
	n	22	22	23
Apo A1	r	0,491	0,293	-0,179
	p	0,020	0,186	0,414
	n	22	22	23
Phospholipide	r	0,436	0,461	-0,347
	p	0,042	0,031	0,105
	n	22	22	23
HDL2C	r	0,517	0,218	-0,58
	p	0,014	0,330	0,004
	n	22	22	23
HDL3C	r	0,643	0,336	-0,44
	p	0,001	0,126	0,036
	n	22	22	23
HDL2C/3C-Quotient	r	0,443	0,151	-0,621
	p	0,039	0,503	0,002
	n	22	22	23

Tabelle 13: Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho (r) zur Darstellung der Zusammenhänge zwischen Lipoprotein bzw. Lipiden, Inflammationsmarkern und oxidativem Stress in der Patientengruppe. Signifikante Zusammenhänge sind grün hinterlegt.

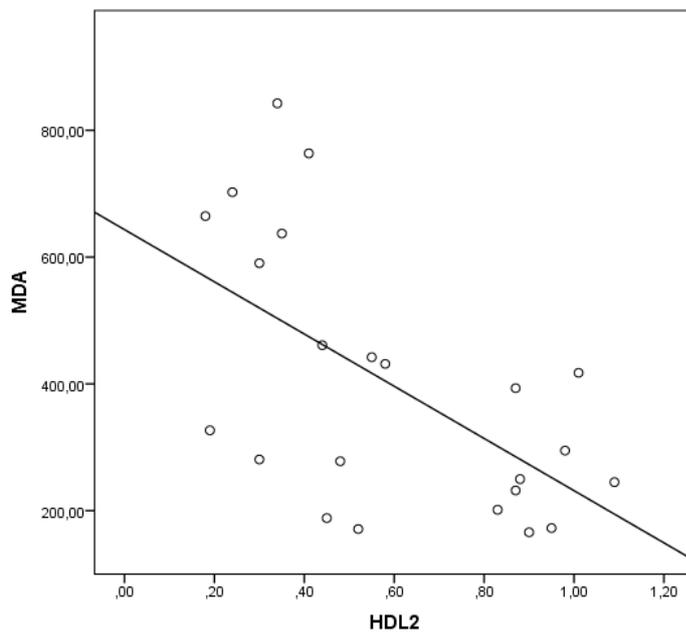


Abbildung 9: Darstellung des MDA im Verhältnis zum HDL2-C in der Patientengruppe $n=23$. $r = -0,584$, $p=0,003$. Abkürzungen: MDA: Malondialdehyd.

Abhängige Variable	Unabhängige Variablen	Pearson Korrelation		Angepasstes R ²	Koeffizienten			
		r	p		B (CI)	SE B	β	p
HDL2-C				0,507	K: 53,62 (39,12; 68,13)	6,91		0,000
	MDA	-0,554	0,005		-0,03 (-0,05; -0,01)	0,01	-0,57	0,002
	Phe	-0,484	0,013		-0,92 (-1,53; -0,31)	0,29	-0,50	0,005

Tabelle 14: Multiples Regressionsmodell zur Testung des Einflusses von MDA und der Phenylalanin-Blutkonzentration (Phe) auf das HDL2-C bei Patienten mit PKU. Abkürzungen: MDA: Malondialdehyd, R²: Bestimmtheitsmaß, B: nicht standardisierter Regressionskoeffizient, CI: Konfidenzintervall, SE: Standardfehler, β : standardisierter Regressionskoeffizient.

4.2.3 Nierenparameter der Patienten und Einflussfaktoren

Um die Rolle der Nierenfunktion und Gefäßfunktion, sowie den Einfluss von Lipoproteinen und Inflammation auf letztere zu testen, wurde eine Korrelationsanalyse nach Spearman-Rho durchgeführt. Zur Einschätzung der Nierenfunktion wurde eine GFR-Schätzung mit der CKD-EPI-Formel (Median: 114,9 ml/min, Interquartilsabstand: 101-123 ml/min) sowie der Albumin/Kreatinin-Quotient (ACR) im Urin (Median: 5,5, Interquartilsabstand: 4,0-15,8) mit in die Auswertung einbezogen.

Es zeigte sich eine signifikante negative Korrelation zwischen der Pulswellengeschwindigkeit und der geschätzten GFR ($r = -0,540$; $p = 0,011$; Abbildung 10a). Weiterhin wies der Urin-Albumin/Kreatinin-Quotient (ACR) eine signifikante Korrelation mit den Entzündungsparametern CRP ($r = 0,542$; $p = 0,045$) und SAA ($r = 0,735$; $p = 0,003$; Abbildung 10b) sowie auch mit dem HDL3C ($r = 0,801$; $p = 0,001$) auf. Ein Zusammenhang der Nierenparameter zur Phenylalanin-Blutkonzentration, zu den oxidativen Stressparametern oder zur Aminosäureeinnahme konnte nicht hergestellt werden.

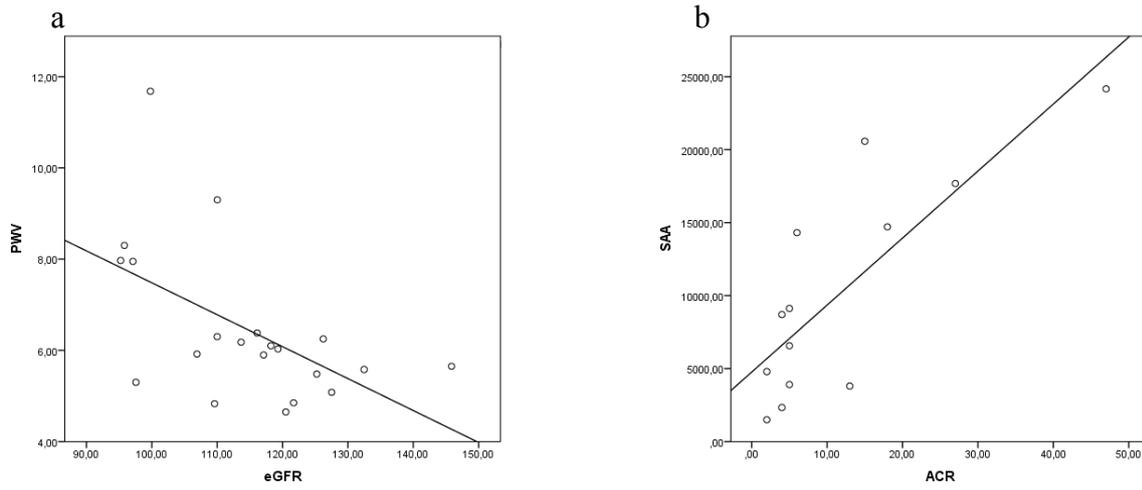


Abbildung 10: **a:** Darstellung der Pulswellengeschwindigkeit (PWV) im Verhältnis zur geschätzten GFR nach CKD-EPI (eGFR) bei Patienten ($r = -0,523$, $p = 0,010$, $n = 21$). **b:** Darstellung des SAA im Verhältnis zum ACR bei Patienten ($r = 0,801$, $p = 0,001$, $n = 13$). Abkürzungen: SAA: Serum Amyloid A, ACR: Albumin-Kreatinin-Quotient, r : Korrelationskoeffizient nach Spearman-Rho.

4.2.4 Phenylalanin-Blutkonzentration und Zusammenhänge

Die Phenylalanin-Blutkonzentration sollte auf mögliche Zusammenhänge zur Gefäßfunktion und zu anderen etablierten Risikoparametern getestet werden. Es zeigten sich allerdings keine Zusammenhänge mit der Gefäßfunktion, den Inflammationsmarkern, den oxidativen Stressparametern oder den Nierenwerten. Es zeigten sich dagegen signifikante Korrelationen der aktuellen Phenylalanin-Blutkonzentration und der durchschnittlichen 5-Jahres-Phenylalanin-Blutkonzentration mit dem BMI ($r = 0,632^{**}$; $r = 0,651^{**}$), den Triglyceriden ($r = 0,560^{**}$; $r = 0,506^*$), dem LDL-C/HDL-C-Quotient ($r = 0,524^*$; $r = 0,542^{**}$) und der von ärztlicher Seite notierten Non-Compliance der Patienten ($r = 0,537^*$; $r = 0,699^{**}$; Tabelle 15). Die Phenylalaninfluktuation der letzten 5 Jahre korrelierte mit dem BMI ($r = 0,472^*$) und der Non-Compliance der Patienten ($r = 0,700^{**}$).

		Phenylalanin aktuell	Phenylalanin 5J-Schnitt	Phe- Fluktuation
BMI	r	0,632	0,651	0,472
	p	0,004	0,002	0,035
	n	19	20	20
Triglyceride	r	0,56	0,506	0,372
	p	0,008	0,016	0,089
	n	21	22	22
LDLC/HDLC- Quotient	r	0,524	0,542	0,145
	p	0,015	0,009	0,519
	n	21	22	22
EP kcal/d/kg	r	-0,678	-0,664	-0,755
	p	0,045	0,026	0,007
	n	9	11	11
Non- Compliance	r	0,537	0,699	0,700
	p	0,022	0,001	0,001
	n	18	19	19

Tabelle 15: Korrelationskoeffizienten nach Spearman-Rho (r) zur Darstellung der Zusammenhänge der Phenylalanin-Blutkonzentrationen mit Lipoprotein- und Lipidwerten, Ernährungsprotokoll und Compliance der Patienten mit PKU. Abkürzungen: Phe: Phenylalanin, EP: Ernährungsprotokoll.

4.2.5 Aminosäurezufuhr und Einflussfaktoren

Mittels der Korrelation nach Spearman-Rho sollte der Zusammenhang zwischen der Aminosäurezufuhr und den Nierenwerten, den Gefäßparametern und den oxidativen Stressparametern hergestellt werden. Es ließ sich hier kein signifikanter Zusammenhang darstellen.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung der Hauptergebnisse

In dieser klinischen Studie wurde eine umfassende Untersuchung des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit Phenylketonurie mittels nicht-invasiver Gefäßdiagnostik und Analysen von Inflammation, oxidativem Stress und Lipoproteinstatus durchgeführt. Hierfür wurden 23 Patienten mit Phenylketonurie zwischen 18 und 47 Jahren und eine gesunde gleichaltrige Kontrollgruppe (n=28) untersucht. Erhöhte Blutdruck-, Pulsfrequenz- und BMI-Werte, eine erhöhte Gefäßsteifigkeit sowie verringerte Endothelfunktion, erhöhte Inflammationsmarker und eine Dyslipidämie ließen auf ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei Patienten mit PKU schließen. Hierbei handelte es sich um eine Pilotstudie, dessen Ergebnisse in größer angelegten Studien weiter untersucht werden sollten.

5.2 Studiendesign und Methodik

Am Untersuchungstag wurden bei allen Studienteilnehmern körperliche Untersuchung, Gefäßuntersuchungen und Blutentnahme einmalig durchgeführt. Außerdem wurden retrospektiv Daten über die Aminosäurezufuhr und Phenylalanin-Blutkonzentrationen der vorausgehenden Jahre erfasst. Als Querschnittsstudie (*cross-sectional-study*) sind die vorliegenden Ergebnisse zwar einer prospektiven Untersuchung im Hinblick auf einen Kausalitätsnachweis unterlegen, dennoch konnten wir signifikante Unterschiede der Patienten gegenüber einer Kontrollgruppe ermitteln und Krankheitszusammenhänge über den Weg von assoziierten Variablen abschätzen⁹⁷. Die Auswahl der Patientenkohorte ist von großer Relevanz, da durch Stichprobenverzerrung dritte Einflussgrößen die Ergebnisse beeinflussen können. Um diese Verzerrung so gering wie möglich zu halten bieten randomisierte kontrollierte Studien als Interventionsstudien die höchste Evidenz. Allerdings kann dieses Studiendesign bei seltenen Erkrankungen insofern problematisch sein, dass nicht ausreichend viele Probanden in die Studie eingeschlossen werden können, um vorhandene Effekte sicher aufzudecken⁹⁸. Da unsere Studie als Pilot- und Querschnittsstudie konzipiert wurde, haben wir alle über einen definierten Zeitraum betreuten Patienten, die den Einschlusskriterien entsprachen, primär berücksichtigt, beziehungsweise versucht, in die Studie einzuschließen. Aufgrund der zu erwartenden Heterogenität dieser Patientenkohorte wurde bei der Kontrollgruppe lediglich eine ähnliche Altersverteilung angestrebt und es wurde bis auf die Einschlusskriterien nicht für weitere Einflussgrößen kontrolliert. Somit zeigten die Gruppen eine vergleichbare Altersverteilung, unterschieden sich jedoch signifikant im BMI und Blutdruck. Die Patientengruppe wies einen höheren durchschnittlichen BMI auf, der sich mit 27,6 ($\pm 5,4$) kg/ m²

im präadipösen Bereich befand, während der BMI der Kontrollgruppe mit 23,4 ($\pm 6,4$) kg/m² im Normalbereich lag ⁹⁹. Trotz des durchschnittlich erhöhten BMI wies keiner der Patienten ein metabolisches Syndrom nach Kriterien der WHO auf ¹⁰⁰. Weiterhin zeigte die Patientengruppe einen signifikant höheren Blutdruck und eine höhere Pulsfrequenz in Ruhe als die Kontrollgruppe, wobei sich die Durchschnittswerte beider Gruppen gemäß der Leitlinien im normalen Bereich befanden ⁹⁴. Da der BMI und der Blutdruck direkt Auswirkungen auf die Gefäßfunktion haben können ^{29,101}, wurden in dieser Studie Regressionsanalysen zur statistischen Auswertung benutzt, um die Ergebnisse der Messungen trotz unterschiedlicher Einflussgrößen interpretieren zu können. Aufgrund der kleinen Fallzahl in dieser Studie und den unterschiedlichen Einflussgrößen, sollten die Ergebnisse dieser Studie dennoch mit Vorsicht betrachtet werden. In Anbetracht der geringen Inzidenz der PKU hat diese Studie allerdings mit einer Patientenzahl von n=23 eine übliche Größe verglichen zu anderen klinischen Studien mit PKU-Patienten ¹². Dennoch sollte diese Studie als Pilotstudie gesehen werden, deren Ergebnisse in größeren Studien verifiziert werden sollten. Eine Stärke dieser Studie ist, dass alle klinischen Untersuchungen von demselben Untersucher durchgeführt wurden und somit eine untersucherabhängige Variabilität weitgehend wegfällt.

5.3 Diskussion der Ergebnisse

5.3.1 Gefäßfunktion und Blutdruck

Eine erhöhte Gefäßsteifigkeit und eine verminderte Endothelfunktion stellen Risikofaktoren für kardiovaskuläre Erkrankungen dar ^{21,37}.

Die Patienten mit PKU wiesen in dieser Studie eine erhöhte systemische Gefäßsteifigkeit im Vergleich zur Kontrollgruppe auf. Weiterhin konnten wir einen signifikanten Zusammenhang zwischen dem Alter und der Gefäßsteifigkeit beobachten, der aus anderen Studien bereits bekannt ist und als physiologisch angesehen wird ⁴³. Deswegen führten wir ein multiples Regressionsmodell durch, wobei sich ein signifikanter Einfluss der Gruppenzugehörigkeit auch unabhängig vom Alter auf die Pulswellengeschwindigkeit zeigte. Ein signifikanter Zusammenhang zwischen der Pulswellengeschwindigkeit und dem BMI, der ebenfalls ein Risikofaktor für Atherosklerose darstellt ¹⁰¹, bestand nicht.

Die einzige uns bekannte klinische Gefäßuntersuchung bei PKU-Patienten wurde mittels Messung der Intima-Media-Dicke und des Beta-stiffness-Index (als Maß der lokalen Gefäßsteifigkeit) durchgeführt und zeigte keine signifikanten Unterschiede zur Kontrollgruppe ¹⁰². Eine Untersuchung der systemischen Gefäßsteifigkeit mittels PWV wurde bei Patienten mit PKU bisher nicht durchgeführt.

Allerdings stellt die Messung der PWV mit dem Vicorder, wie in dieser Studie durchgeführt, eine anerkannte Methode zur Bestimmung der arteriellen Gefäßsteifigkeit dar, die mit der als Goldstandard bezeichneten Methode der Applanations-Tonometrie vergleichbar ist^{36,89} und auch in Studien an größeren Populationen verwendet wurde¹⁰³. Somit kann davon ausgegangen werden, dass Patienten mit PKU eine erhöhte Gefäßsteifigkeit haben.

Die Endothelfunktion gilt als wichtiger Parameter zur Einschätzung des kardiovaskulären Risikos²¹. In dieser Studie zeigte sich eine schlechtere Endothelfunktion bei den Patienten mit PKU im Vergleich zur Kontrollgruppe. Sowohl die postischämische Flussreserve (PIFR) als auch die postischämische Volumenreserve (PIVR) waren bei den Patienten signifikant niedriger als in der Kontrollgruppe. Diese geringere postischämische dilatative Kapazität ist gleichbedeutend mit einer endothelialen Dysfunktion bei der Patientengruppe mit PKU.

Es konnte somit in der Patientengruppe sowohl eine erhöhte Gefäßsteifigkeit als auch eine endotheliale Dysfunktion nachgewiesen werden. Das Ergebnis spricht für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko in der Patientengruppe mit PKU.

Jedoch zeigte sich im multiplen Regressionsmodell, dass der Unterschied in der Endothelfunktion zwischen den Gruppen signifikant vom erhöhten BMI und Blutdruck abhängig ist, welche etablierte Risikogrößen darstellen^{29,104}.

Ein erhöhter BMI wurde bei Patienten mit PKU bereits in anderen Studien nachgewiesen¹⁰⁵. Weiterhin gilt der BMI selbst als Risikofaktor für Atherosklerose und steht mit kardiovaskulären Erkrankungen in Verbindung¹⁰¹. In Anbetracht der Hypothese, dass der erhöhte BMI ein Teil der Erkrankung ist, könnte dieser als PKU-assoziiertes Risikofaktor interpretiert werden und zusätzlich zum kardiovaskulären Risiko bei diesen Patienten beitragen.

Ebenso wurden bereits erhöhte Blutdruckwerte bei Kindern und Erwachsenen mit PKU beschrieben^{85,106}. In der Studie von Hennermann et al. wiesen 22,7% der Patienten eine arterielle Hypertonie auf, in dieser Studie lediglich 14%⁸⁵. Das könnte durch die sensitivere Methode der 24-Stunden-Blutdruckmessung in der Studie von Hennermann et al. erklärt werden, während in dieser Studie lediglich der Durchschnitt aus zwei Einzelblutdruckmessungen einbezogen wurde. Ein hoher Blutdruck kann zu einer Endothelschädigung beitragen und dadurch ebenfalls die Gefäßfunktion beeinflussen²⁹. Die PKU-Patienten wiesen in dieser Studie signifikant höhere systolische und diastolische Blutdruckwerte auf als die Kontrollgruppe, wobei sich aber die durchschnittlichen Blutdruckwerte im Normbereich befanden, wie es auch bei anderen Studien der Fall war^{85,106}. Allerdings wurde bereits gezeigt, dass der Zusammenhang zwischen höheren Blutdruckwerten und veränderten Gefäßparametern auch für Blutdruckwerte im Normbereich

gilt¹⁰⁷. Somit könnte auch der höhere Blutdruck als PKU-assoziiertes Risikofaktor angesehen werden und die schlechtere Endothelfunktion bei PKU-Patienten mit erklären.

Weiterhin konnte erstmals bei erwachsenen Patienten mit PKU ein signifikant höherer Ruhepuls nachgewiesen werden. Eine erhöhte Herzfrequenz in Ruhe (Resting heart rate) gilt als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen¹⁰⁸. Dieser Befund bedarf weiterer Bestätigung durch größere Studien. Eine detailliertere Untersuchung der Herzfrequenz und deren Variabilität wurde bei PKU-Patienten bisher nicht durchgeführt, könnte aber eventuell weiteren Aufschluss über das kardiovaskuläre Risiko dieser Patienten bringen^{109,110}.

5.3.2 Inflammation bei Patienten mit PKU

CRP und SAA können als Marker der Inflammation zur Beurteilung des kardiovaskulären Risikos herangezogen werden^{46,49}.

Wir fanden signifikant erhöhte SAA- und CRP-Werte in der Patientengruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe. Demgegenüber wurden in einer vorherigen Studie keine erhöhten CRP-Werte bei PKU Patienten festgestellt¹¹¹. Die Patientenkohorten unterscheiden sich jedoch in vielen kritischen Aspekten. Die Patienten in der Studie von Rocha et al. waren deutlich jünger und 70% der Patienten hatten nur eine Hyperphenylalaninämie oder eine milde PKU¹¹¹. Die in unserer Studie eingeschlossenen Patienten waren dagegen größtenteils von einer klassischen PKU betroffen. Die milde Form der PKU bedarf einer weniger strengen Diät und geht mit geringeren Phe-Werten im Blut einher, welches die niedrigen Inflammationswerte erklären könnte. Außerdem vermuten wir, dass eine erhöhte Inflammation als Langzeitkomplikation der PKU entsteht und somit in jungen Jahren eventuell nicht nachzuweisen ist. Die Bedeutung weiterer Inflammationsmarker wie IL6, IL8 und IL1 β ist bei PKU Patienten noch nicht eindeutig geklärt^{54,55}.

CRP und SAA sind ebenso wie die eingeschränkte Gefäßfunktion kardiovaskuläre Risikofaktoren^{20,21,48,49}. Es wurde bereits gezeigt, dass erhöhte SAA-Werte eine endotheliale Dysfunktion hervorrufen können¹¹². Wir konnten in unseren Daten eine Korrelation zwischen SAA und der endothelialen Funktion sowie zwischen CRP und der PWV beobachten. Jedoch konnten wir aufgrund nicht normalverteilter Werte keine Regressionsanalyse durchführen, sodass eine Abhängigkeit dieser Korrelation von dem Einfluss der Gruppenzugehörigkeit und anderer Einflussgrößen nicht sicher auszuschließen ist.

Patienten mit PKU weisen also erhöhte Inflammationsmarker auf, die womöglich über eine endothelschädigende Wirkung das kardiovaskuläre Risiko dieser Patienten erhöhen. Zukünftige Untersuchungen müssen zeigen, ob SAA als früher Marker einer endothelialen Dysfunktion in

Frage kommt und somit zur frühzeitigen Diagnose einer entstehenden Atherosklerose herangezogen werden könnte.

5.3.3 Oxidativer Stress

Zur Analyse wurden in dieser Studie MPO, 3NT, MDA und als indirekter Marker des oxidativen Stresses die Telomerlänge bestimmt.

Es fanden sich signifikant höhere MDA-Werte bei PKU-Patienten, während die anderen Parameter keine signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen aufwiesen. Erhöhte MDA-Werte wurden bei PKU-Patienten bereits in einer Studie mit Kindern sowie auch im Tiermodell festgestellt ^{76,77}. In einer Studie waren die MDA-Werte nach einigen Monaten Substitution von Selen, einem Bestandteil der antioxidativ wirkenden Glutathionperoxidase, nicht mehr signifikant erhöht ⁷⁷. Während Selenmangel bei PKU-Patienten vermehrt vorkommt ¹¹³, zeigten in dieser Studie alle Patienten Selenkonzentrationen im unteren Normbereich, die nicht mit den MDA-Werten korrelierten.

Sowohl MPO als auch 3NT sind mit dem Vorkommen kardiovaskulärer Erkrankungen assoziiert^{69,78}. Beide oxidativen Stressmarker wurden bei PKU bisher noch nicht untersucht und waren in dieser Studie nicht erhöht.

Die Telomerverkürzung ist ein Indikator der Zellalterung und wird ebenfalls als Marker zur Exposition von oxidativem Stress diskutiert ^{81,82}. Wir fanden einen nicht signifikanten Trend zu kürzeren Telomeren bei den PKU Patienten. Diese zeigten bei der kleinen Stichprobe keine signifikante Korrelation mit dem Alter oder mit den Gefäßparametern.

Somit lassen in dieser Studie nur die erhöhten MDA-Werte auf einen erhöhten oxidativen Stress bei PKU Patienten schließen.

5.3.4 Lipoproteinstatus

Ein veränderter Lipoproteinstatus kann Hinweise auf ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko geben (Siehe Absatz 1.2.5). In unserer Studie fanden wir bei den Patienten mit PKU signifikant erhöhte Cholesterinwerte, einen erhöhten LDL-C/HDL-C-Quotient und erhöhte Nicht-HDL-Cholesterinwerte. Die HDL-C-Werte, insbesondere HDL2C, waren signifikant niedriger in der Patientengruppe. Diese Ergebnisse zeigten sich unabhängig vom BMI der Patienten und mit Ausnahme des HDL-C auch unabhängig vom Geschlecht. Das Lipoprotein- und Lipidprofil der Patienten mit erhöhtem Cholesterin, LDL-C/HDL-C-Quotient, Nicht-HDL-Cholesterin und niedrigem HDL-C spricht für ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen ^{57,114}.

Der Lipoproteinstatus bei PKU-Patienten wurde in vielen Studien untersucht. Die in unserer Studie signifikant erniedrigten HDL-C-Werte bestätigten die Befunde aus vorherigen Studien ^{12,15,66}. In

Zusammenschau dieser Studien scheint der Unterschied der HDL-Werte zwischen Patienten und Kontrollen bei älteren Patienten ausgeprägter als bei Kindern.

In weiteren Studien wurde bei Patienten mit PKU eine verminderte Aktivität der LCAT festgestellt¹¹⁵. Mutationen im LCAT-Gen gehen neben verminderten HDL-Werten auch mit einer erhöhten Gefäßsteifigkeit einher¹¹⁶. Somit stellt sich die Frage, ob die geringen HDL-Werte sowie die erhöhte Gefäßsteifigkeit der PKU-Patienten in dieser Studie ebenfalls mit einer verminderten LCAT-Funktion im Zusammenhang stehen könnten.

Zur weiteren Abklärung der niedrigen HDL-C-Werte bei PKU-Patienten bestimmten wir die HDL-Subpopulationen. Die HDL2C-Werte sowie der HDL2C/3C-Quotient zeigten sich bei den Patienten mit PKU signifikant erniedrigt, während die HDL3C-Werte sich kaum zwischen den Gruppen unterschieden. Die niedrigen HDL2C-Werte gaben Hinweise auf ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei den Patienten mit PKU^{63,64}. Die HDL-Subpopulationen wurden bei PKU-Patienten bisher noch nicht untersucht. Neben erniedrigten HDL2C-Werten konnten wir in dieser Studie anhand einer Regressionsanalyse weiterhin zeigen, dass die Phenylalanin-Blutkonzentrationen sowie die MDA-Werte der Patienten die HDL2C-Konzentrationen beeinflussen konnten. Dies lässt vermuten, dass hohe Phenylalaninwerte durch einen noch unbekanntem Mechanismus zu erniedrigten HDL2C-Werten führen und somit das kardiovaskuläre Risiko von PKU-Patienten erhöhen könnten.

Neben der Beurteilung der HDL-Konzentration und der HDL-Subklassen, spielt auch die Beurteilung der HDL-Funktionalität eine wichtige Rolle in der Abschätzung des kardiovaskulären Risikos¹¹⁷. Im Rahmen verschiedener Erkrankungen wie Niereninsuffizienz oder koronarer Herzkrankheit sowie im Rahmen von erhöhtem oxidativen Stress kann HDL dysfunktional oder proinflammatorisch werden und damit seine gefäßprotektiven Eigenschaften verlieren^{53,118}. Es konnte gezeigt werden, dass eine verstärkte Anreicherung von SAA in HDL-Partikeln dessen gefäßprotektive Funktionen vermindert⁵³. Die starke Korrelation zwischen SAA und den HDL-Subklassen in dieser Studie geben einen Hinweis darauf, dass das HDL bei PKU-Patienten ebenfalls dysfunktional sein könnte.

Neben der Fähigkeit die HDL-Funktion zu beeinträchtigen, scheint erhöhtes SAA ebenfalls für eine verminderte Entstehung neuer HDL-Partikel mitverantwortlich zu sein¹¹⁹. Somit sollte auch das erhöhte SAA als Ursache für die verminderte HDL-Konzentration bei Patienten mit PKU mit in Betracht gezogen werden.

HDL kann ebenfalls nach Oxidation durch MDA dysfunktional werden⁷⁵. In der vorliegenden Studie korrelierte MDA stark negativ mit den HDL-C und HDL2C-Werten bei Patienten mit PKU, wobei HDL-C und HDL2C bei den PKU-Patienten signifikant erniedrigt waren und MDA

signifikant erhöht. In der Regressionsanalyse zeigte sich weiterhin, dass die HDL2C-Werte zu über 50% durch die Blutkonzentrationen von MDA und Phenylalanin erklärt werden können, mit denen es negativ korreliert. Hierbei stellt sich die Frage, ob MDA neben einer Funktionseinschränkung des HDL auch dessen Konzentration beeinflussen könnte.

Die Patienten mit PKU wiesen in dieser Studie ein proatherogenes Lipoproteinprofil, insbesondere erniedrigte HDL-C- und HDL2C-Werte, auf, die durch oxidativen Stress und hohe Phenylalanin-Blutkonzentrationen beeinflusst wurden. Weiterhin ist eine HDL-Dysfunktion bei den Patienten zu erwarten, möglicherweise bedingt durch vermehrte Inflammation. Beide Aspekte sprechen für ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko bei Patienten mit PKU, wobei deren Wirkungsmechanismen in weiteren Studien untersucht werden sollten.

5.3.5 Nierenfunktionsparameter

Die Patienten mit Phenylketonurie wiesen in dieser Studie allesamt eine intakte Nierenfunktion mit normalen GFR-Werten nach der CKD-EPI-Formel (eGFR) und (bis auf eine Ausnahme) keinen erhöhten Albumin/Kreatinin-Quotienten (ACR) im Urin auf.

Die eGFR-Werte korrelierten negativ mit dem Alter und der PWV, was bereits in der Literatur beschrieben wurde ¹²⁰. Weiterhin korrelierten die Inflammationsmarker CRP und SAA signifikant mit dem ACR. Dieser Zusammenhang konnte bei Niereninsuffizienten sowie auch bei Patienten ohne Nierenfunktionsstörung bereits nachgewiesen werden ^{121,122}. CRP- und SAA-Werte können bei Nierenfunktionsstörungen erhöht sein und werden als Risikofaktor hierfür gewertet. In Verbindung mit den signifikant erhöhten CRP- und SAA-Werten in der Patientengruppe (Absatz 4.1.3) könnte das auf ein erhöhtes Risiko oder auf eine latente Nierenfunktionsstörung bei PKU-Patienten hinweisen ^{123,124}. Hennermann et al. wiesen bereits in einer größeren Studie an Patienten mit PKU eine erhöhte Prävalenz von Nierenfunktionsstörungen nach, was wir in unserer Studie nicht bestätigen konnten ⁸⁵. Allerdings wurde die GFR-Messung bei Hennermann et al. mittels Radio-Isotop-Messung durchgeführt, die unserer GFR-Schätzung auf Basis des Kreatinin-Wertes überlegen ist ¹²⁵.

Weiterhin spricht die negative Korrelation zwischen der eGFR und der PWV in dieser Studie für einen Zusammenhang zwischen Nierenfunktion und Gefäßfunktion, auch bei GFR-Werten innerhalb des Normbereiches. Die GFR beschreibt die Nierenfunktion, während die Pulswellengeschwindigkeit ein Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse darstellt ³⁷. Diese Korrelation lässt vermuten, dass der bekannte Zusammenhang zwischen Nierenfunktionsstörung und erhöhtem kardiovaskulärem Risiko, der bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz gut

dokumentiert ist ¹²⁶ und auch für den gesamten Bereich der GFR gilt ¹²⁷, auch bei PKU-Patienten besteht. Ob nun auch bei PKU-Patienten erhöhte Inflammationswerte zu einer Gefäßschädigung führen und somit sowohl die Nieren- als auch die Gefäßfunktion beeinflussen können, wie Stuveling et al. vermuteten, lässt sich in dieser Studie aufgrund des Studiendesigns und der kleinen Fallzahl nicht endgültig klären ¹²³.

Weiterhin steht auch ein veränderter Lipoproteinstatus mit einer eingeschränkten Nierenfunktion im Zusammenhang ¹²⁸. Tolonen et al. zeigten, dass hohe HDL3C-Werte ein Prädiktor zur Entwicklung einer Mikroalbuminurie sind, unabhängig von der Urin-Albumin-Exkretion ¹²⁹. Diese Studie bestätigt unsere Ergebnisse, in denen HDL3C bei Patienten mit PKU stark mit dem ACR korrelierte.

Das Vorkommen von Nierenfunktionsstörungen bei Patienten mit PKU und dessen Zusammenhang zum kardiovaskulären Risiko sollte in weiteren größer angelegten Studien und mittels sensitiverer GFR-Messung weiter untersucht werden.

5.3.6 Diät und Einnahme synthetischer Aminosäuren

In dieser Studie wurde die Einnahme von synthetischen Aminosäuren der Patienten untersucht, um deren Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System sowie auf die Nierenfunktion zu analysieren. Es wurde bereits in früheren Studien gezeigt, dass die Einnahme von synthetischen Aminosäuremischungen zu einer hohen Blutkonzentration von Aminosäuren führte, die ihrerseits eine nephrotoxische Wirkung zeigten ^{130,131}. Allerdings fanden wir in dieser Studie keinen Zusammenhang der Einnahme synthetischer Aminosäuregemische mit den Parametern der Gefäßfunktion, Nierenfunktion oder des oxidativen Stresses. In der Studie von Hennermann et al. wurde gezeigt, dass bei Patienten mit PKU eine verminderte GFR mit einer erhöhten Zufuhr synthetischer Aminosäuren assoziiert war ⁸⁵. Eine Erklärung für die unterschiedlichen Ergebnisse könnte die genauere Methode zur GFR-Bestimmung sein.

5.3.7 Phenylalanin-Blutkonzentration

Die in dieser Studie eingeschlossenen PKU-Patienten wiesen im Durchschnitt Phenylalanin-Blutkonzentrationen (Phe-Konzentration) von 19,3 mg/dl auf. Die aktuelle Phe-Konzentration korrelierte eng mit dem Durchschnittswert der Phenylalanin-Konzentration der letzten 5 Jahre (5-Jahres-Phe). Auffällig war, dass die Phe-Konzentration, der 5-Jahres-Phe und die Phe-Fluktuationen mit dem BMI und der Non-Compliance der Patienten korrelierten. Ein hoher BMI geht mit erhöhtem kardiovaskulären Risiko einher. Hohe Phe-Konzentrationen sowie starke Phe-Fluktuationen bei PKU-Patienten führen zu einer eingeschränkten kognitiven und exekutiven Leistungsfähigkeit, die durch Planungs- und Organisationsschwierigkeiten ein

gesundheitsbewusstes Verhalten weiterhin erschweren könnten¹³²⁻¹³⁴. Hohe Phe-Konzentrationen und ein hoher 5Jahres-Phe korrelieren auch signifikant mit erhöhten Triglycerid-Konzentrationen und einem erhöhten LDL-C/HDL-C-Quotient, die ihrerseits mit einem erhöhten Vorkommen kardiovaskulärer Ereignisse vergesellschaftet sind⁵⁷. Somit stellen gerade PKU-Patienten mit geringer Compliance, hohen Phe-Konzentrationen und hohem BMI eine besondere Risikogruppe für kardiovaskuläre Erkrankungen dar und sollten somit schon früh über ein erhöhtes Risiko aufgeklärt werden und präventive Diagnostik erhalten.

5.4 Schlussfolgerung

In dieser Studie konnte bei der Patientengruppe mit PKU ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko nachgewiesen werden. Dieses zeigte sich durch eine erhöhte Gefäßsteifigkeit, eine endotheliale Dysfunktion und eine Dyslipidämie. Als mögliche Faktoren konnte ein erhöhter Blutdruck, erhöhte Inflammation und vermehrter oxidativer Stress identifiziert werden. Ein Einfluss der synthetischen Aminosäurezufuhr auf die Gefäß- und Nierenfunktion konnte nicht gezeigt werden. Umfangreichere Studien sind nötig, um den genauen Zusammenhang dieser Pathomechanismen genauer zu klären. Während Messungen von Pulswellengeschwindigkeit und endothelialer Funktion zur Zeit noch klinischen Studien vorbehalten sind, zeigt unsere Studie, dass durch die Untersuchung des Blutdruckes sowie relevanter Biomarker für Inflammation und Lipoproteinstatus das kardiovaskuläre Risiko bei individuellen PKU-Patienten wahrscheinlich besser eingeschätzt werden kann. Eine derartige Diagnostik würde die Möglichkeit bieten, frühzeitig Strategien für präventive Maßnahmen zu entwickeln, um die Lebenserwartung der betroffenen Patienten zu verbessern.

6 Literaturverzeichnis

1. Böhles H. Angeborene Stoffwechselerkrankungen. In: Reinehr T, Kersting M, van Teeffelen-Heithoff A, Widhalm K, eds. Pädiatrische Ernährungsmedizin, Grundlagen und praktische Anwendung. Stuttgart: Schattauer; 2012: p.217-40.
2. Bundesministerium für Gesundheit - Seltene Erkrankungen. (Accessed 10.08.2017, at <http://www.bundesgesundheitsministerium.de/themen/praevention/gesundheitsgefahren/seltene-erkrankungen.html>.)
3. Harms E, Olgemöller B. Neugeborenencreening auf Stoffwechselerkrankungen und Endokrinopathien. Dtsch Arztebl International 2011;108:11-22.
4. Scriver C, Kaufman S. Hyperphenylalaninemia: Phenylalanine Hydroxylase Deficiency. In: Scriver C, ed. The metabolic and molecular basis of inherited disease Vol 2: Mc-Graw Hill; 2001: p.1667-724.
5. Blau N, van Spronsen FJ, Levy HL. Phenylketonuria. Lancet 2010;376:1417-27.
6. Scriver CR. The PAH gene, phenylketonuria, and a paradigm shift. Human Mutation 2007;28:831-45.
7. Zabransky S. Zur Geschichte des Neugeborenencreening auf metabole und endokrine Störungen in Deutschland. Proceedingband 2012 10 interdisziplinärer SGA-Workshop 29-30/2012 Jakobsberg, Boppard: Medizinischer Verlag Siegfried Zabransky; 2012: p.54-81.
8. Guthrie R, Susi A. A simple phenylalanine method for detecting phenylketonuria in large populations of newborn infants. Pediatrics 1963;32:338-43.
9. Bickel H, Gerrard J, Hickmans EM. Influence of phenylalanine intake on phenylketonuria. Lancet (London, England) 1953;265:812-3.
10. Przedborski S, Donaldson D, Jakowec M, Kish SJ, Guttman M, Rosoklija G, Hays AP. Brain superoxide dismutase, catalase, and glutathione peroxidase activities in amyotrophic lateral sclerosis. Annals of Neurology 1996;39:158-65.
11. Halliwell B. Free radicals, antioxidants, and human disease: curiosity, cause, or consequence? The Lancet 1994;344:721-4.
12. Rocha JC, Martins MJ. Oxidative stress in phenylketonuria: future directions. Journal of inherited metabolic disease 2012;35:381-98.
13. Ribas GS, Sitta A, Wajner M, Vargas CR. Oxidative stress in phenylketonuria: what is the evidence? Cell Mol Neurobiol 2011;31:653-62.
14. Sitta A, Barschak AG, Deon M, Terroso T, Pires R, Giugliani R, Dutra-Filho CS, Wajner M, Vargas CR. Investigation of oxidative stress parameters in treated phenylketonuric patients. Metab Brain Dis 2006;21:287-96.
15. Gündüz M, Çakar S, Kuyum P, Makay B, Arslan N. Comparison of atherogenic risk factors among poorly controlled and well-controlled adolescent phenylketonuria patients. Cardiol Young 2015;26.
16. Kuchta A, Lebedzińska A, Fijałkowski M, Gałąska R, Kreft E, Totoń M, Czaja K, Kozłowska A, Ćwiklińska A, Kortas-Stempak B, Strzelecki A, Gliwińska A, Dąbkowski K, Jankowski M. Impact of plant-based diet on lipid risk factors for atherosclerosis. Cardiology Journal 2016;23:141-8.
17. Townsend N, Wilson L, Bhatnagar P, Wickramasinghe K, Rayner M, Nichols M. Cardiovascular disease in Europe: epidemiological update 2016. European heart journal 2016.
18. Greenland P, Knoll M, Stamler J, Neaton JD, Dyer AR, Garside DB, Wilson PW. Major Risk Factors as Antecedents of Fatal and Nonfatal Coronary Heart Disease Events. JAMA 2003;290:891-7.
19. Montgomery JE, Brown JR. Metabolic biomarkers for predicting cardiovascular disease. Vascular Health and Risk Management 2013;9:37-45.

20. Laurent S, Boutouyrie P, Asmar R, Gautier I, Laloux B, Guize L, Ducimetiere P, Benetos A. Aortic Stiffness Is an Independent Predictor of All-Cause and Cardiovascular Mortality in Hypertensive Patients. *Hypertension* 2001;37:1236-41.
21. Vita JA, Keaney JF. Endothelial Function A Barometer for Cardiovascular Risk? *Circulation* 2002;106.
22. Zakyntinos E, Pappa N. Inflammatory biomarkers in coronary artery disease. *J Cardiol* 2009;53:317-33.
23. Siti HN, Kamisah Y, Kamsiah J. The role of oxidative stress, antioxidants and vascular inflammation in cardiovascular disease (a review). *Vascular Pharmacology* 2015;71:40-56.
24. Rosenson RS, Jr H, Ansell BJ, Barter P, Chapman MJ, Heinecke JW, Kontush A, Tall AR, Webb NR. Dysfunctional HDL and atherosclerotic cardiovascular disease. *Nat Rev Cardiol* 2016;13.
25. Vanhoutte PM. Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture. *Hypertens Dallas Tex* 1979 1989;13.
26. Ignarro LJ, Byrns RE, Buga GM, Wood KS, Chaudhuri G. Pharmacological evidence that endothelium-derived relaxing factor is nitric oxide: use of pyrogallol and superoxide dismutase to study endothelium-dependent and nitric oxide-elicited vascular smooth muscle relaxation. *The Journal of pharmacology and experimental therapeutics* 1988;244:181-9.
27. Eckers A, Haendeler J. Endothelial Cells in Health and Disease. *Antioxidants & Redox Signaling* 2015;22:1209-11.
28. Gimbrone MA, García-Cardeña G. Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circulation research* 2016;118:620-36.
29. Ross R. Atherosclerosis--an inflammatory disease. *The New England journal of medicine* 1999;340:115-26.
30. Gerhard M, Roddy MA, Creager SJ, Creager MA. Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension (Dallas, Tex : 1979)* 1996;27:849-53.
31. Ross R. The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s. *Nature* 1993;362.
32. Higashi Y, Yoshizumi M. New methods to evaluate endothelial function: method for assessing endothelial function in humans using a strain-gauge plethysmography: nitric oxide-dependent and -independent vasodilation. *J Pharmacol Sci* 2003;93:399-404.
33. Brandes R, Busse R. Kreislauf. In: Schmidt R, Lang F, Heckmann M, eds. *Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie*. 31. ed. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2011:p.572-628.
34. Lakatta EG. Arterial and Cardiac Aging: Major Shareholders in Cardiovascular Disease Enterprises Part III: Cellular and Molecular Clues to Heart and Arterial Aging. *Circulation* 2003;107:490-7.
35. Atkinson J. Age-related medial elastocalcinosis in arteries: mechanisms, animal models, and physiological consequences. *J Appl Physiol* 2008;105.
36. Laurent S, Cockcroft J, Bortel LV, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, Pannier B, Vlachopoulos C, Wilkinson I, Struijker-Boudier H. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* 2006;27.
37. Mitchell GF, Hwang S-J, Vasani RS, Larson MG, Pencina MJ, Hamburg NM, Vita JA, Levy D, Benjamin EJ. Arterial Stiffness and Cardiovascular Events. *Circulation* 2010;121:505-11.
38. Ross R. The Pathogenesis of Atherosclerosis — An Update. *New Engl J Medicine* 1986;314.
39. Libby P, Ridker PM, Hansson GK. Progress and challenges in translating the biology of atherosclerosis. *Nature* 2011;473:317-25.
40. Björkerud S, Björkerud B. Apoptosis is abundant in human atherosclerotic lesions, especially in inflammatory cells (macrophages and T cells), and may contribute to the accumulation of gruel and plaque instability. *The American journal of pathology* 1996;149:367-80.
41. Finn AV, Nakano M, Narula J, Kolodgie FD, Virmani R. Concept of Vulnerable/Unstable Plaque. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2010;30:1282-92.

42. Lee H-Y, Oh B-H. Aging and Arterial Stiffness. *Circulation Journal* 2010;74:2257-62.
43. Mitchell GF, Parise H, Benjamin EJ, Larson MG, Keyes MJ, Vita JA, Vasani RS, Levy D. Changes in Arterial Stiffness and Wave Reflection With Advancing Age in Healthy Men and Women The Framingham Heart Study. *Hypertension* 2004;43:1239-45.
44. Elliott RJ, McGrath LT. Calcification of the human thoracic aorta during aging. *Calcified Tissue International* 1994;54:268-73.
45. Palombo C, Kozakova M. Arterial stiffness, atherosclerosis and cardiovascular risk: Pathophysiologic mechanisms and emerging clinical indications. *Vascular Pharmacology* 2016;77:1-7.
46. Ridker PM, Hennekens CH, Buring JE, Rifai N. C-Reactive Protein and Other Markers of Inflammation in the Prediction of Cardiovascular Disease in Women. *The New England Journal of Medicine* 2000;342:836-43.
47. Hart WR, Deodhar SD. C-reactive protein: the best laboratory indicator available for monitoring disease activity. *Cleveland Clinic journal of medicine* 1989;56:126-30.
48. Mendall MA, Patel P, Ballam L, Strachan D, Northfield TC. C reactive protein and its relation to cardiovascular risk factors: a population based cross sectional study. *BMJ (Clinical research ed)* 1996;312:1061-5.
49. Johnson DB, Kip KE, Marroquin OC, Ridker PM, Kelsey SF, Shaw LJ, Pepine CJ, Sharaf B, Merz NC, Sopko G, Olson MB, Reis SE, and Heart B. Serum Amyloid A as a Predictor of Coronary Artery Disease and Cardiovascular Outcome in Women. *Circulation* 2004;109:726-32.
50. Lewis KE, Kirk EA, McDonald TO, Wang S, Wight TN, O'Brien KD, Chait A. Increase in serum amyloid a evoked by dietary cholesterol is associated with increased atherosclerosis in mice. *Circulation* 2004;110.
51. Jylhävä J, Haarala A, Eklund C, Pertovaara M, Kähönen M, Hutri - Kähönen N, Levula M, Lehtimäki T, Huupponen R, Jula A, Juonala M, Viikari J, Raitakari O, Hurme M. Serum amyloid A is independently associated with metabolic risk factors but not with early atherosclerosis: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Journal of Internal Medicine* 2009;266:286-95.
52. Zhang YX, Cliff WJ, Schoefer GI, Higgins G. Coronary C-reactive protein distribution: its relation to development of atherosclerosis. *Atherosclerosis* 1999;145:375-9.
53. Tölle M, Huang T, Schuchardt M, Jankowski V, Prüfer N, Jankowski J, Tietge U, Zidek W, van der Giet M. High-density lipoprotein loses its anti-inflammatory capacity by accumulation of pro-inflammatory-serum amyloid A. *Cardiovascular Research* 2012;94:154-62.
54. Deon M, Sitta A, Faverzani JL, Guerreiro GB, Donida B, Marchetti DP, Mescka CP, Ribas GS, Coitinho AS, Wajner M, Vargas CR. Urinary biomarkers of oxidative stress and plasmatic inflammatory profile in phenylketonuric treated patients. *International Journal of Developmental Neuroscience* 2015;47:259-65.
55. Mozrzyk R, Duś-Żuchowska M, Kałużny Ł, Wenska-Chyży E, Walkowiak J. Phenylketonuria is not a risk factor for changes of inflammation status as assessed by interleukin 6 and interleukin 8 concentrations. *Acta scientiarum polonorum Technologia alimentaria* 2016;15:221-5.
56. Löffler G. Lipoproteine - Transportformen der Lipide im Blut. In: Heinrich P, Müller M, Graeve L, eds. *Löffler/Petrides Biochemie und Pathobiochemie*. 9. ed. Berlin, Heidelberg: Springer Medizin Verlag; 2014:p.300-6.
57. Andersson C, Lyass A, Vasani RS, Massaro JM, D'Agostino RB, Robins SJ. Long-term risk of cardiovascular events across a spectrum of adverse major plasma lipid combinations in the Framingham Heart Study. *American Heart Journal* 2014;168:878-8830.
58. Ross R, Harker L. Hyperlipidemia and atherosclerosis. *Science* 1976;193:1094-100.
59. Rosenson RS, Brewer BH, Davidson SW, Fayad ZA, Fuster V, Goldstein J, Hellerstein M, Jiang X-C, Phillips MC, Rader DJ, Remaley AT, Rothblat GH, Tall AR, Yvan-Charvet L.

- Cholesterol Efflux and Atheroprotection Advancing the Concept of Reverse Cholesterol Transport. *Circulation* 2012;125:1905-19.
60. Murphy AJ. High Density Lipoprotein: Assembly, Structure, Cargo, and Functions. *Isrn Physiology* 2013;2013.
 61. Cockerill GW, Rye KA, Gamble JR, Vadas MA, Barter PJ. High-density lipoproteins inhibit cytokine-induced expression of endothelial cell adhesion molecules. *Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology* 1995;15:1987-94.
 62. Barter P, Gotto AM, LaRosa JC, Maroni J, Szarek M, Grundy SM, Kastelein JJP, Bittner V, Fruchart J-C, to Investigators T. HDL Cholesterol, Very Low Levels of LDL Cholesterol, and Cardiovascular Events. *The New England Journal of Medicine* 2007;357:1301-10.
 63. Brugger P, Kullich WC, Klein G, Kostner GM. Plasma concentrations of high - density lipoprotein (hdl) - 2 and hdl - 3 in myocardial infarction survivors and in control subjects. *Clinical Cardiology* 1986;9:273-6.
 64. Miller NE, Hammett F, Saltissi S, Rao S, van Zeller H, Coltart J, Lewis B. Relation of angiographically defined coronary artery disease to plasma lipoprotein subfractions and apolipoproteins. *Br Med J (Clin Res Ed)* 1981;282:1741-4.
 65. Tiozzo E, Gardener H, Hudson BI, Dong C, Della-Morte D, Crisby M, Goldberg RB, Elkind M, Cheung Y, Wright CB, Sacco RL, Rundek T. High-density lipoprotein subfractions and carotid plaque: The Northern Manhattan Study. *Atherosclerosis* 2014;237:163-8.
 66. Colomé C, Artuch R, Lambruschini N, Cambra FJ, Campistol J, Vilaseca M. Is there a relationship between plasma phenylalanine and cholesterol in phenylketonuric patients under dietary treatment? *Clin Biochem* 2001;34.
 67. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology* 1997;82:291-5.
 68. Nicholls SJ, Hazen SL. Myeloperoxidase and Cardiovascular Disease. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2005;25:1102-11.
 69. Brennan M-L, Hazen SL. Emerging role of myeloperoxidase and oxidant stress markers in cardiovascular risk assessment. *Current opinion in lipidology* 2003;14:353-9.
 70. Daugherty A, Dunn JL, Rateri DL, Heinecke JW. Myeloperoxidase, a catalyst for lipoprotein oxidation, is expressed in human atherosclerotic lesions. *Journal of Clinical Investigation* 1994;94:437-44.
 71. Brennan M-L, Penn MS, Lente F, Nambi V, Shishehbor MH, Aviles RJ, Goormastic M, Pepoy ML, McErlean ES, Topol EJ, Nissen SE, Hazen SL. Prognostic Value of Myeloperoxidase in Patients with Chest Pain. *The New England Journal of Medicine* 2003;349:1595-604.
 72. Grune T, Berger MM. Markers of oxidative stress in ICU clinical settings: present and future. *Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care* 2007;10:712.
 73. Holvoet P, Perez G, Zhao Z, Brouwers E, Bernar H, Collen D. Malondialdehyde-modified low density lipoproteins in patients with atherosclerotic disease. *Journal of Clinical Investigation* 1995;95:2611-9.
 74. Yang T-C, Chen Y-J, Chang S-F, Chen C-H, Chang P-Y, Lu S-C. Malondialdehyde mediates oxidized LDL-induced coronary toxicity through the Akt-FGF2 pathway via DNA methylation. *Journal of Biomedical Science* 2014;21:1-12.
 75. Shao B, Pennathur S, Pagani I, Oda MN, Witztum JL, Oram JF, Heinecke JW. Modifying apolipoprotein A-I by malondialdehyde, but not by an array of other reactive carbonyls, blocks cholesterol efflux by the ABCA1 pathway. *J Biological Chem* 2010;285.
 76. Ercal N, Aykin-Burns N, Gurer-Orhan H, McDonald JD. Oxidative stress in a phenylketonuria animal model. *Free Radical Biology and Medicine* 2002;32:906-11.
 77. Wilke BC, Vidailhet M, Favier A, Guillemin C, Ducros V, Arnaud J, Richard MJ. Selenium, glutathione peroxidase (GSH-Px) and lipid peroxidation products before and after selenium supplementation. *Clinica Chimica Acta* 1992;207:137-42.
 78. Thomson L. 3-Nitrotyrosine Modified Proteins in Atherosclerosis. *Disease Markers* 2015;2015:708282.

79. Parastatidis I, Thomson L, Fries DM, Moore RE, Tohyama J, Fu X, Hazen SL, Heijnen H, Dennehy MK, Liebler DC, Rader DJ, Ischiropoulos H. Increased Protein Nitration Burden in the Atherosclerotic Lesions and Plasma of Apolipoprotein A-I-Deficient Mice. *Circulation Research* 2007;101:368-76.
80. Depre C, Havaux X, Renkin J, Vanoverschelde JL, Wijns W. Expression of inducible nitric oxide synthase in human coronary atherosclerotic plaque. *Cardiovascular research* 1999;41:465-72.
81. Fyhrquist F, Saijonmaa O, Strandberg T. The roles of senescence and telomere shortening in cardiovascular disease. *Nature Reviews Cardiology* 2013;10:274-83.
82. Furumoto K, Inoue E, Nagao N, Hiyama E, Miwa N. Age-dependent telomere shortening is slowed down by enrichment of intracellular vitamin C via suppression of oxidative stress. *Life Sciences* 1998;63:935-48.
83. Zhang D, Wen X, Wu W, Xu E, Zhang Y, Cui W. Homocysteine-related hTERT DNA demethylation contributes to shortened leukocyte telomere length in atherosclerosis. *Atherosclerosis* 2013;231:173-9.
84. Schulpis KH, Karikas GA, Papakonstantinou E. Homocysteine and other vascular risk factors in patients with phenylketonuria on a diet. *Acta Paediatrica* 2002;91:905-9.
85. Hennermann JB, Roloff S, Gellermann J, Vollmer I, Windt E, Vetter B, Plöckinger U, Mönch E, Querfeld U. Chronic kidney disease in adolescent and adult patients with phenylketonuria. *J Inherit Metab Dis* 2013;36:747-56.
86. Wilkinson IB, Webb DJ. Venous occlusion plethysmography in cardiovascular research: methodology and clinical applications. *British Journal of Clinical Pharmacology* 2001;52:631-46.
87. Briese S, Wiesner S, Will JC, Lembcke A, Opgen-Rhein B, Nissel R, Wernecke KD, Andreae J, Haffner D, Querfeld U. Arterial and cardiac disease in young adults with childhood-onset end-stage renal disease-impact of calcium and vitamin D therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:1906-14.
88. Strauss L, Schütz R. Arterielle Flußmessung. In: Rieger H, Schoop W, eds. *Klinische Angiologie*. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag 1999: p.111-27
89. Kracht D, Shroff R, Baig S, Doyon A, Jacobi C, Zeller R, Querfeld U, Schaefer F, Wühl E, Schmidt BM, Melk A, Consortium CS. Validating a new oscillometric device for aortic pulse wave velocity measurements in children and adolescents. *Am J Hypertens* 2011;24:1294-9.
90. Blutdruckmessung in der Arbeitsphysiologie, Leitlinie der Deutschen Gesellschaft für Arbeitsmedizin und Umweltmedizin e. V. (DGAUM)). 1998. (Accessed 01.08.2017, at https://www.dgaum.de/fileadmin/PDF/Leitlinien/LL_Blutdruckmessung_in_der_Arbeitsphysiologie.pdf.)
91. Melk A, Tegtbur U, Hilfiker-Kleiner D, Eberhard J, Saretzki G, Eulert C, Kerling A, Nelius A-K, Hömme M, Strunk D, Berliner D, Röntgen P, Kück M, Bauersachs J, Hilfiker A, Haverich A, Bara C, Stiesch M. Improvement of biological age by physical activity. *International Journal of Cardiology* 2014;176:1187-9.
92. Briese S, Claus M, Querfeld U. Arterial stiffness in children after renal transplantation. *Pediatr Nephrol* 2008;23:2241-5.
93. Field A. *Discovering statistics using SPSS third edition*: Sage Publications 2009.
94. Narkiewicz K, Redon J, Zanchetti A, Böhm M, Christiaens T, Cifkova R, De Backer G, Dominiczak A, Galderisi M, Grobbee D, Jaarsma T, Kirchhof P, Kjeldsen S, Laurent S, Manolis A, Nilsson P, Ruilope L, Schmieder R, Sirnes P, Sleight P, Viigimaa M, Waeber B, Faiez Zannad F. ESC Pocket Guidelines - Leitlinien für das Management der arteriellen Hypertonie: Börm Bruckmeier Verlag GmbH; 2013.
95. Brown CD, Higgins M, Donato KA, Rohde FC, Garrison R, Obarzanek E, Ernst ND, Horan M. Body Mass Index and the Prevalence of Hypertension and Dyslipidemia. *Obesity Research* 2000;8:605-19.

96. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-Reactive Protein Levels in Overweight and Obese Adults. *Jama* 1999;282.
97. Riegler A. *Epidemiologisches Studiendesign*. biomed austria 2009.
98. Grouven U, Siering U, Bender R, Vervölgyi V, Lange S. Seltene Erkrankungen: Randomisierte kontrollierte Studien auch hier der Goldstandard. *Dtsch Arztebl International* 2015;112:A-326.
99. World Health Organization. Obesity: Preventing and Managing the global epidemic - Report of a WHO Consultation. WHO Technical Report 2000;Series 894:9.
100. Alberti K, Zimmet PZ, Consultation WHO. Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications. Part 1: diagnosis and classification of diabetes mellitus. Provisional report of a WHO Consultation. *Diabetic Medicine* 1998;15:539-53.
101. Villareal DT, Apovian CM, Kushner RF, Klein S, for Nutrition A, Naaso T. Obesity in Older Adults: Technical Review and Position Statement of the American Society for Nutrition and NAASO, The Obesity Society. *Obesity Research* 2005;13:1849-63.
102. Htun P, Nee J, Ploeckinger U, Eder K, Geisler T, Gawaz M, Bocksch W, Fateh-Moghadam S. Fish-Free Diet in Patients with Phenylketonuria Is Not Associated with Early Atherosclerotic Changes and Enhanced Platelet Activation. *PLOS ONE* 2015;10.
103. Schaefer F, Doyon A, Azukaitis K, Bayazit A, Canpolat N, Duzova A, Niemirska A, Sözeri B, Thurn D, Anarat A, Ranchin B, Litwin M, Caliskan S, Candan C, Baskin E, Yilmaz E, Mir S, Kirchner M, Sander A, Haffner D, Melk A, Wühl E, Shroff R, Querfeld U, Consortium C. Cardiovascular Phenotypes in Children with CKD: The 4C Study. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN* 2016;12:19-28.
104. Bhattacharjee R, Kim J, Alotaibi WH, Kheirandish-Gozal L, Capdevila O, Gozal D. Endothelial Dysfunction in Children Without Hypertension Potential Contributions of Obesity and Obstructive Sleep Apnea. *Chest* 2012;141:682-91.
105. Rocha JC, MacDonald A, Trefz F. Is overweight an issue in phenylketonuria? *Molecular Genetics and Metabolism* 2013;110.
106. Couce ML, Vitoria I, Aldámiz-Echevarría L, Fernández-Marmiesse A, Roca I, Llarena M, Sánchez-Pintos P, Leis R, Hermida A. Lipid profile status and other related factors in patients with Hyperphenylalaninaemia. *Lipid profile status and other related factors in patients with Hyperphenylalaninaemia* 2016;11.
107. Mikola H, Pahkala K, Niinikoski H, Rönnemaa T, Viikari JSA, Jula A, Juonala M, Raitakari OT. Cardiometabolic Determinants of Carotid and Aortic Distensibility From Childhood to Early Adulthood Novelty and Significance. *Hypertension* 2017;70:452-60.
108. Aune D, Sen A, ó'Hartaigh B, Janszky I, Romundstad PR, Tonstad S, Vatten LJ. Resting heart rate and the risk of cardiovascular disease, total cancer, and all-cause mortality – A systematic review and dose–response meta-analysis of prospective studies. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2017;27:504-17.
109. Kannel WB, Kannel C, Paffenbarger RS, Cupples LA. Heart rate and cardiovascular mortality: The Framingham study. *American Heart Journal* 1987;113:1489-94.
110. Tsuji H, Larson MG, Venditti FJ, Manders ES, Evans JC, Feldman CL, Levy D. Impact of Reduced Heart Rate Variability on Risk for Cardiac Events: The Framingham Heart Study. *Circulation* 1996;94:2850-5.
111. Rocha JC, van Spronsen FJ, Almeida MF, Soares G, Quelhas D, Ramos E, Guimarães JT, Borges N. Dietary treatment in phenylketonuria does not lead to increased risk of obesity or metabolic syndrome. *Molecular Genetics and Metabolism* 2012;107:659-63.
112. Witting PK, Song C, Hsu K, Hua S, Parry SN, Aran R, Geczy C, Freedman S. The acute-phase protein serum amyloid A induces endothelial dysfunction that is inhibited by high-density lipoprotein. *Free Radical Biology and Medicine* 2011;51:1390-8.
113. Darling G, Mathias P, O'Regan M, Naughten E. Serum selenium levels in individuals on PKU diets. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 1992;15:769-73.

- 114.Boekholdt MS, Arsenault BJ, Mora S, Pedersen TR, LaRosa JC, Nestel PJ, Simes JR, Durrington P, Hitman GA, Welch KMA, DeMicco DA, Zwinderman AH, Clearfield MB, Downs JR, Tonkin AM, Colhoun HM, Gotto AM, Ridker PM, Kastelein JJP. Association of LDL Cholesterol, Non-HDL Cholesterol, and Apolipoprotein B Levels With Risk of Cardiovascular Events Among Patients Treated With Statins: A Meta-analysis. *JAMA* 2012;307:1302-9.
- 115.Barashnev YI, Korneichuk VV, Klembovsky AI, Klyushina LA. Role of the liver in the pathogenesis of cerebral disorders in phenylketonuria. *Journal of Inherited Metabolic Disease* 1982;5:204-10.
- 116.van den Bogaard B, Holleboom AG, Duivenvoorden R, Hutten BA, Kastelein J, Hovingh KG, Kuivenhoven J, Stroes E, van den Born B-JH. Patients with low HDL-cholesterol caused by mutations in LCAT have increased arterial stiffness. *Atherosclerosis* 2012;225:481-5.
- 117.Rohatgi A, Khera A, Berry JD, Givens EG, Ayers CR, Wedin KE, Neeland IJ, Yuhanna IS, Rader DR, de Lemos JA, Shaul PW. HDL Cholesterol Efflux Capacity and Incident Cardiovascular Events. *The New England Journal of Medicine* 2014;371:2383-93.
- 118.Lenten B, Hama SY, Beer F, Stafforini DM, McIntyre TM, Prescott SM, Du B, Fogelman AM, Navab M. Anti-inflammatory HDL becomes pro-inflammatory during the acute phase response. Loss of protective effect of HDL against LDL oxidation in aortic wall cell cocultures. *J Clin Invest* 1995;96.
- 119.Wroblewski JM, Jahangiri A, Ji A, de Beer FC, van der Westhuyzen DR, Webb NR. Nascent HDL formation by hepatocytes is reduced by the concerted action of serum amyloid A and endothelial lipase. *Journal of Lipid Research* 2011;52:2255-61.
- 120.Michener KH, Mitchell GF, Noubary F, Huang N, Harris T, Andresdottir MB, Palsson R, Gudnason V, Levey AS. Aortic Stiffness and Kidney Disease in an Elderly Population. *American Journal of Nephrology* 2015;41:320-8.
- 121.Oberg PB, McMenamin E, Lucas LF, McMonagle E, Morrow J, Ikizler AT, Himmelfarb J. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney International* 2004;65:1009-16.
- 122.Nerpin E, Helmersson-Karlqvist J, Risérus U, Sundström J, Larsson A, Jobs E, Basu S, Ingelsson E, Ärnlöv J. Inflammation, oxidative stress, glomerular filtration rate, and albuminuria in elderly men: a cross-sectional study. *BMC Research Notes* 2012;5:1-7.
- 123.Stuveling EM, Hillege HL, Bakker SJL, Gans ROB, de Jong PE, de Zeeuw D. C-reactive protein is associated with renal function abnormalities in a non-diabetic population. *Kidney International* 2003;63:654-61.
- 124.Lavín-Gómez BA, Palomar-Fontanet R, Gago-Fraile M, Quintanar-Lartundo JA, Gómez-Palomo E, González-Lamuño D, García-Unzueta MT, Arias-Rodríguez MA, Gómez-Gerique JA. Inflammation markers, chronic kidney disease, and renal replacement therapy. *Advances in peritoneal dialysis Conference on Peritoneal Dialysis* 2011;27:33-7.
- 125.Lawson R. How to Do a Radioisotope Glomerular Filtration Rate Study. In: Payne S, Eardley I, O'Flynn K, eds. *Imaging and Technology in Urology*. London: Springer; 2012:109-12.
- 126.Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C-y. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *The New England Journal of Medicine* 2004;351:1296-305.
- 127.Buscemi S, Geraci G, Massenti FM, Buscemi C, Costa F, D'Orio C, Rosafio G, Buscemi C, Maniaci V, Parrinello G. Renal function and carotid atherosclerosis in adults with no known kidney disease. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* 2017;27:267-73.
- 128.Sibley SD, Hokanson JE, Steffes MW, Purnell JQ, Marcovina SM, Cleary PA, Brunzell JD. Increased small dense LDL and intermediate-density lipoprotein with albuminuria in type 1 diabetes. *Diabetes care* 1999;22:1165-70.
- 129.Tolonen N, Forsblom C, Thorn L, Wadén J, Rosengård-Bärlund M, Saraheimo M, Feodoroff M, Mäkinen VP, Gordin D, Taskinen MR, Groop PH, Group F. Lipid abnormalities predict progression of renal disease in patients with type 1 diabetes. *Diabetologia* 2009;52:2522-30.

130. Mönch E, Herrmann ME, Brösicke H, Schöffler A, Keller M. Utilisation of amino acid mixtures in adolescents with phenylketonuria. *European Journal of Pediatrics* 1996;155.
131. Zager RA, Johannes G, Tuttle SE, Sharma HM. Acute amino acid nephrotoxicity. *The Journal of laboratory and clinical medicine* 1983;101:130-40.
132. Kommuri NVA, Zalawadiya SK, Veeranna V, Kollepara SS, Ramesh K, Briasoulis A, Afonso L. Association between various anthropometric measures of obesity and markers of subclinical atherosclerosis. *Expert Review of Cardiovascular Therapy* 2015;14:127-35.
133. Arnold GL, Kramer BM, Kirby RS, Plumeau PB, Blakely EM, Cregan SLS, Davidson PW. Factors affecting cognitive, motor, behavioral and executive functioning in children with phenylketonuria. *Acta Paediatrica* 1998;87:565-70.
134. Cleary M, Trefz F, Muntau AC, Feillet F, van Spronsen FJ, Burlina A, Bélanger-Quintana A, Giżewska M, Gasteyger C, Bettiol E, Blau N, MacDonald A. Fluctuations in phenylalanine concentrations in phenylketonuria: A review of possible relationships with outcomes. *Molecular Genetics and Metabolism* 2013;110:418-23.

7 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Aline Azabdaftari, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Evaluation des kardiovaskulären Risikos bei Patienten mit Phenylketonurie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Anteilerklärung an den erfolgten Publikationen

Aline Azabdaftari hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1:

A. Azabdaftari, A. Jung, L. Bosanska, J. Hennermann, U. Plöckinger, U. Querfeld (2015):
Endotheliale Dysfunktion bei jungen Erwachsenen mit Phenylketonurie.
46. Jahrestagung der Gesellschaft für pädiatrische Nephrologie (GPN), Berlin.
Nieren- und Hochdruckkrankheiten. Jahrgang 44 (Nr. 2/2015), S. 41.

Beitrag im Einzelnen:

- Rekrutierung der gesunden Kontrollen und Hilfe bei der Rekrutierung von Patienten
- Untersuchung aller Patienten und gesunden Kontrollen
- Datenbankerstellung und statistische Auswertung
- Erstellen des Manuskripts

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

8 Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

9 Publikationsliste

Publikation 1:

A. Azabdaftari, A. Jung, L. Bosanska, J. Hennermann, U. Plöckinger, U. Querfeld (2015):

Endotheliale Dysfunktion bei jungen Erwachsenen mit Phenylketonurie.

46. Jahrestagung der Gesellschaft für pädiatrische Nephrologie (GPN), Berlin.

Nieren- und Hochdruckkrankheiten. Jahrgang 44 (Nr. 2/2015), S. 41.

10 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die mich auf unterschiedliche Art bei der Anfertigung dieser Arbeit unterstützt haben:

Ein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Professor Uwe Querfeld. Neben der Bereitstellung dieses spannenden Themas, unterstützte er mich immer mit Rat und Tat, hatte großes Vertrauen in mich und wusste mich auch über all die Jahre gerade in schwierigen Situationen zu motivieren.

Ein großer Dank geht auch an das Team des Stoffwechsel-Centrums: Frau Professor Plöckinger, Frau Dr. Bosanska und Herrn Tiling übernahmen die ärztliche Aufklärung und überließen mir vertrauensvoll ihre Patienten für diese klinische Studie. Gerade auch bei Frau Jung möchte ich mich für die großartige Organisation der Studientermine bedanken, die sicherlich viel Zeit und Nerven gekostet hat.

Weiterhin möchte ich mich bei Herrn Professor van der Giet und Frau Dr. Schuchardt bedanken, die sich um die Analyse der Lipoproteinparameter, der oxidativen Stressparameter und der Inflammationsmarker kümmerten. Die gemeinsamen Treffen zur Diskussion und Interpretation der Daten brachten mir durch ihre Begeisterung über das Thema und die Ergebnisse immer viel Inspiration und Motivation.

Frau Professor Melk und Frau Dr. Hömme danke ich für die Analysen der Telomerlängen aller Probanden.

Auch bei Frau Sommer möchte ich mich für die Hilfe beim Sortieren und Versenden der Proben bedanken.

Nicht zuletzt geht ein besonders großer Dank an meine Freunde und meine Familie für ein immer offenes Ohr und die unendliche Unterstützung in jeder Hinsicht. Meinem Freund Yangfan danke ich für die unzähligen Diskussionen und Hilfestellungen bei aufkommenden Schwierigkeiten während dieser Arbeit und für die Motivation mir wissenschaftliches Arbeiten näher zu bringen. Ich möchte auch insbesondere meinen Eltern danken, die mir das Studium und die Dissertation ermöglicht haben und die mich immer bei allem unterstützt und an mich geglaubt haben.