

Aus der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. Malte Kelm

**Chronische Effekte von PCSK9-Inhibitoren auf die
Makro- und Mikrostrombahn**

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

vorgelegt von

Johanna Maria Schremmer

2023

Als Inauguraldissertation gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Heinrich-Heine- Universität Düsseldorf

gez.

Dekan: Prof. Dr. med. Nikolaj Klöcker

Erstgutachter: PD Dr. med. Roberto Sansone

Zweitgutachter: Prof. Dr. rer. nat. Christoph Suschek

Publikationen:

- Stern M, Schremmer J, Scharm S, Baasen S, Heinen Y, Sansone R, Polzin A, Jung C, Heiss C, Kelm M, Busch L. *Microvascular tissue perfusion after postcatheterization pseudoaneurysm treatment*. *Clinical Hemorheology and Microcirculation*. 2022; 82(3):275-282. doi: 10.3233/CH-221438.
- Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht [1]:
Schremmer, J., Busch, L., Baasen, S., Heinen, Y., Sansone, R., Heiss, C., Kelm, M., Stern, M., *Chronic PCSK9 inhibitor therapy leads to sustained improvements in endothelial function, arterial stiffness, and microvascular function*. *Microvascular Research*. 2023; 148:104513. doi: 10.1016/j.mvr.2023.104513.

I Zusammenfassung (deutsch)

Das Vorliegen einer Hypercholesterinämie ist mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität assoziiert. Standardtherapie zur Senkung des LDL-Cholesterins in der Primär- sowie Sekundärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen sind Statine. Diesen wird neben ihrem lipidsenkenden Effekt noch eine Reihe weiterer vorteilhafter Eigenschaften für das Gefäßsystem zugeschrieben, die unabhängig vom Ausmaß der LDL-Cholesterin Reduktion zu sein scheinen. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 (PCSK9)-Inhibitoren senken effektiver als Statine das LDL-Cholesterin. Inwiefern diese sogenannten pleiotropen Effekte ebenfalls bestehen, soll in der vorliegenden Arbeit untersucht werden.

Es wurden insgesamt 32 Patienten im Alter von durchschnittlich 61 ± 13 Jahren in diese prospektive Studie eingeschlossen, bei denen die Indikation zur PCSK9-Inhibitor Therapie gestellt wurde. Vor Beginn der Therapie sowie nach sechs Monaten wurde die Makrostrombahn mittels Pulswellenanalyse (PWA, zentrale hämodynamische Parameter und Augmentationsindex (Alx)), Pulswellengeschwindigkeit (PWV) und Venenverschlussplethysmographie (VVP), sowie die endotheliale Funktion mittels flussvermittelter Vasodilatation (FMD) beurteilt. Die Mikrostrombahn wurde als periphere transkutane Sauerstoff-Gewebesättigung (StO₂) durch eine Near-infrared Spectroscopy (NIRS) Kamera erfasst. Unter PCSK9-Inhibitor Therapie konnte eine signifikante LDL-Reduktion von 56% ($141,1 \pm 54,2$ mg/dl vs. $59,6 \pm 29,92$ mg/dl, $p < 0,001$) verzeichnet werden. Es war eine signifikante Verbesserung des Alx ($27,11 \pm 10,38$ % vs. $23 \pm 9,68$ %, $p < 0,001$) zu beobachten. Die FMD verbesserte sich ebenfalls signifikant ($5,41 \pm 1,72$ % vs. $6,4 \pm 1,9$ %, $p < 0,001$). Verbesserungen der PWV blieben unterhalb des Signifikanzniveaus ($8,69 \pm 2,21$ m/s vs. $8,27 \pm 1,66$ m/s, $p = 0,14$). Die periphere StO₂ zeigte eine signifikante Zunahme nach sechs Monaten ($66,89 \pm 12,35$ % vs. $70,7 \pm 11,14$ %, $p = 0,012$). Bei den beobachteten Parametern konnte keine Korrelation zum Ausmaß der LDL-Cholesterin Senkung beobachtet werden.

Es lässt sich zusammenfassen, dass eine PCSK9-Inhibitor Therapie die Makro-, und Mikrostrombahn signifikant verbessert. Die vaskulären Effekte sind in dieser Kohorte unabhängig von dem Ausmaß der lipidsenkenden Wirkung, was auf additive positive Effekte der PCSK9 Inhibitoren auf die Gefäßfunktion hinweist.

II Zusammenfassung (englisch)

The presence of hypercholesterolemia is associated with increased cardiovascular morbidity and mortality. Statins are the standard therapy for lowering LDL cholesterol (LDL-C) in the primary and secondary prevention of cardiovascular disease. In addition to their lipid-lowering effect, these are thought to have a number of other vascular benefits that appear to be independent of the extent of LDL-C reduction. Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin type 9 (PCSK9)-inhibitors are significantly more effective than statins in lowering LDL-C, and whether they also exhibit these so-called pleiotropic effects will be investigated in this study.

A total of 32 patients with an average age of 61 ± 13 years and an indication for PCSK9 inhibitor therapy were included in this prospective study.

Before initiation of therapy and after six months, macrocirculation was assessed by pulse wave analysis (PWA, central hemodynamic parameters, and augmentation index (Alx)), pulse wave velocity (PWV), and venous occlusion plethysmography (VVP). Endothelial function was assessed by flow-mediated vasodilation (FMD). Microcirculation as peripheral transcutaneous oxygen tissue saturation (StO₂) was assessed by a near-infrared spectroscopy (NIRS) camera. A significant LDL-C reduction of 56% (141.1 ± 54.2 mg/dl vs. 59.6 ± 29.92 mg/dl, $p < 0.001$) was recorded under six months of PCSK9 inhibitor therapy. There was a significant improvement in Alx ($27.11 \pm 10.38\%$ vs. $23 \pm 9.68\%$, $p < 0.001$). FMD also improved significantly ($5.41 \pm 1.72\%$ vs. $6.4 \pm 1.9\%$, $p < 0.001$). Improvements in PWV remained below the significance level (8.69 ± 2.21 m/s vs. 8.27 ± 1.66 m/s, $p = 0.14$). Peripheral StO₂ showed a significant increase at six months ($66.89 \pm 12.35\%$ vs. $70.7 \pm 11.14\%$, $p = 0.012$). No correlation with the extent of LDL-C reduction was observed in the parameters mentioned above.

In conclusion, PCSK9 inhibitor therapy significantly improves macro-, and microcirculatory function in this study. The vascular effects in this cohort are independent of the extent of the lipid-lowering effect, suggesting additive positive features of PCSK9 inhibitors on vascular function.

III Abkürzungsverzeichnis

ACS	<i>Acute coronary syndrome</i> , akutes Koronarsyndrom
AIx	Augmentationsindex
ALT	Alanin-Aminotransferase
AP	Alkalische Phosphatase
ApoB	Apolipoprotein B
AST	Aspartat-Aminotransferase
CK	Creatininkinase
CRP	C-reaktives Protein
CYP-Enzym	Cytochrom P450 abhängiges Enzym
DBP	<i>Diastolic blood pressure</i> , diastolischer Blutdruck
EKG	Elektrokardiographie
eNOS	Endotheliale NO-Synthase
ESC	<i>European Society of Cardiology</i> , Europäische Gesellschaft für Kardiologie
FDC	<i>Fractional Diameter Change</i> , relative Diameteränderung
FH	Familiäre Hypercholesterinämie
FMD	<i>Flow-mediated dilation</i> , flussvermittelte Vasodilatation
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
GMP	Guanosinmonophosphat
GOT	Glutamat-Oxalacetat-Transaminase
GPT	Glutamat-Pyruvat-Transaminase
HbA1c	Hämoglobin A1c
HDL	<i>High-Density Lipoprotein</i>
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym A
IDL	<i>Intermediate-Density Lipoprotein</i>
KHK	Koronare Herzkrankheit
LDH	Laktatdehydrogenase
LDL	<i>Low-Density Lipoprotein</i>
LDL-R	<i>Low-Density Lipoprotein</i> -Rezeptor
Lp (a)	Lipoprotein a
MHz	Megahertz
NIRS	<i>Near-infrared spectroscopy</i> , Nahinfrarot-Spektroskopie
NO	<i>Nitric oxide</i> , Stickstoffmonoxid
nNOS	Neuronale NO-Synthase
NPC1L1	<i>Niemann-Pick C1-like Protein 1</i>

PCSK9	<i>Proprotein Convertase subtilisin-kexin Komplex Typ 9</i>
PCSK9i	PCSK9-Inhibitor
PW	<i>Punctual wave</i>
PWA	Pulswellenanalyse
PWV	<i>Pulse wave velocity</i> , Pulswellengeschwindigkeit
ROI	<i>Region of interest</i>
SAMS	<i>statin-associated muscle symptoms</i> , statinassoziierte Muskelsymptome
SBP	<i>Systolic blood pressure</i> , systolischer Blutdruck
s.c.	subcutan
SG	Strain Gauge
StO₂	<i>Saturation tissue O₂</i> , transkutane Sauerstoff-Gewebesättigung
VLDL	<i>Very Low-Density Lipoprotein</i>
VVP	Venenverschlussplethysmographie
WHO	Weltgesundheitsorganisation
γ-GT	Gamma-Glutaryltransferase

IV Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Wirkmechanismus PCSK9-Inhibitoren (eigene Darstellung)	8
Abbildung 2: Graphische Darstellung der Hypothese (eigene Darstellung).....	14
Abbildung 3: Probandeneinschluss	15
Abbildung 4: Studiendesign	16
Abbildung 5: Graphische Darstellung der erhobenen Gefäßparameter (modifiziert nach [144])	18
Abbildung 6: Pulswellencharakteristika der aortalen Druckkurve (vgl. [150]) ..	20
Abbildung 7: Messung der carotid-femorale Pulswellengeschwindigkeit (modifiziert nach [155])	22
Abbildung 8: Strain-Gauge Venenverschlussplethysmographie (eigene Darstellung)	23
Abbildung 9: Messkurve der venösen Verschlussplethysmographie nach Strain-Gauge (vgl. ELCAT [157]).....	24
Abbildung 10: Infrarotthermographie (Kent Imaging) mit Darstellung der oberflächlichen Gewebeoxygenierung	25
Abbildung 11: Flussvermittelte Vasodilatation (FMD).....	28
Abbildung 12: Auswertung mittels Brachial Analyzer Software	29
Abbildung 13: Lipidmedikation in der Studienpopulation.....	34
Abbildung 14: Entwicklung der durchschnittlichen LDL- (A) und Gesamt-Cholesterin (B) Spiegel vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	39
Abbildung 15: Entwicklung der durchschnittlichen Triglyzerid- (A) und HDL-Cholesterin- (B) Spiegel vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	39
Abbildung 16: Entwicklung der LDL-Cholesterin Spiegel vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	39
Abbildung 17: Pulswellengeschwindigkeit (PWV) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	41
Abbildung 18: Korrelation zwischen Pulswellengeschwindigkeit (PWV) zu Beginn der Studie und Alter der Probanden (A) sowie Korrelation zwischen Baseline-PWV und PWV-Veränderungen (B)	41
Abbildung 19: Augmentationsindex (Alx@75) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	42

Abbildung 20: Fractional Diameter Change (FDC) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie (A) und Korrelation zwischen Alter der Probanden und Ausmaß der absoluten FDC-Veränderungen in Prozent unter sechsmonatiger PCSK9-Inhibitor Therapie (B).....	43
Abbildung 21: Veränderungen verschiedener Parameter der Gefäßsteifigkeit (A = PWV, B = Aix, C = FDC) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie bei Patienten mit oder ohne FH	44
Abbildung 22: Mittlerer arterieller Einstrom in die Beine vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	45
Abbildung 23: Mittlerer arterieller Einstrom in die Beine bei Patienten mit und ohne FH vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	45
Abbildung 24: Entwicklung des brachialen (A) und aortalen (B) systolischen Blutdruckes sowie des Pulsdruckes (C) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	47
Abbildung 25: Durchschnittliche transkutane Gewebeoxygenierung (StO ₂) der Hände und Füße vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	48
Abbildung 26: Durchschnittliche transkutane Gewebeoxygenierung (StO ₂) der Hände und Füße bei Patienten mit und ohne FH vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	49
Abbildung 27: Flow-mediated Dilation (FMD) der Brachialarterie vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie	50
Abbildung 28: Veränderungen der FMD vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie bei Patienten mit und ohne FH.....	51

V Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Probandencharakteristika	32
Tabelle 2: Weitere Medikation in der Studienpopulation.....	34
Tabelle 3: Laborparameter.....	36

VI Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Hypercholesterinämie.....	1
1.1.1	Definition und Epidemiologie	1
1.1.2	Ursachen einer Hypercholesterinämie	1
1.1.3	Die Rolle des LDL-Cholesterins	2
1.2	Therapie der Hypercholesterinämie.....	4
1.2.1	Statine	5
1.2.2	Ezetimib.....	7
1.2.3	PCSK9-Inhibitoren	7
1.3	Parameter der vaskulären Funktion.....	11
1.3.1	Makrostrombahn	11
1.3.2	Mikrostrombahn	11
1.3.3	Endothelfunktion	12
1.4	Zielsetzung der Studie	14
2	Material und Methoden	15
2.1	Studienkollektiv.....	15
2.2	Studienprotokoll.....	16
2.3	Methodik	18
2.3.1	Blutdruckmessung	18
2.3.2	Pulswellenanalyse	18
2.3.3	Pulswellengeschwindigkeit.....	20
2.3.4	Venenverschlussplethysmographie.....	22
2.3.5	Infrarotthermographie	24
2.3.6	Messung der FMD der Brachialarterie	26
2.4	Laborparameter	29
2.5	Statistische Auswertung der Messergebnisse.....	30
3	Ergebnisse	31
3.1	Charakteristika der Studienpopulation.....	31
3.2	Lipidsenkende Effekte	37
3.3	Makrozirkulation	40
3.3.1	Arterielle Gefäßsteifigkeit.....	40
3.3.2	Arterieller Einstrom in die Beine	44
3.3.3	Zentrale hämodynamische Parameter	45
3.4	Mikrozirkulation.....	47
3.5	Endotheliale Funktion.....	49

4	Diskussion	52
4.1	LDL-Reduktion.....	52
4.2	Makrozirkulation	54
4.2.1	Arterielle Gefäßsteifigkeit.....	54
4.2.2	Mittlerer arterieller Blutfluss der Beine	56
4.2.3	Zentrale Hämodynamik.....	57
4.3	Mikrozirkulation.....	58
4.4	Endothelfunktion.....	59
4.5	Pleiotrope Effekte	63
4.6	Methodenkritik und Limitation der Studie	65
4.7	Schlussfolgerung	68
5	Literaturverzeichnis.....	70
6	Danksagung	84

1 Einleitung

1.1 Hypercholesterinämie

1.1.1 Definition und Epidemiologie

Als Hypercholesterinämie bezeichnet man eine Erhöhung des Gesamt-Cholesterinwerts oder des Low-density Lipoprotein (LDL)-Cholesterins über einen definierten Grenzwert. Das Gesamt-Cholesterin umfasst die gesamte Menge an Cholesterin aus allen Lipoprotein-Klassen zusammen, wovon das LDL-Cholesterin die größte Fraktion darstellt.

Lipoproteine dienen dem Transport wasserunlöslicher Lipide im Blut zur Leber oder anderen extrahepatischen Zielgeweben. Sie bestehen im hydrophoben Zentrum in unterschiedlicher Zusammensetzung aus Cholesterin, Triglyceriden und Phospholipiden, das von einer Hülle aus hydrophilen Proteinen, den Apolipoproteinen, umgeben ist. Es können sechs Haupt-Lipoproteinklassen definiert werden: Chylomikronen, Very Low-Density Lipoprotein (VLDL), Intermediate-Density Lipoprotein (IDL), Low-Density Lipoprotein (LDL), High-Density Lipoprotein (HDL) und Lipoprotein (a).

Laut Weltgesundheitsorganisation (*World Health Organization*, WHO) liegt bei erwachsenen Menschen die weltweite Prävalenz von erhöhtem Gesamt-Cholesterin bei 39 % (37 % der Männer, 40 % der Frauen). In Ländern mit hohem Einkommen ist die Prävalenz höher [2, 3]. Ein erhöhtes Gesamt-Cholesterin ist bei Werten von >190 mg/dL definiert, erhöhtes Low-Density Lipoprotein (LDL)-Cholesterin ab Werten >130 mg/dL [2-4]. Die weltweite Prävalenz von erhöhtem LDL-Cholesterin ist von 1999 bis 2014 um ca. 15 % gesunken. Eine der Gründe sind die verbesserten medikamentösen Therapieoptionen [5].

Fettstoffwechselstörungen als bedeutsamer kardiovaskulärer Risikofaktor sind von hoher Relevanz im klinischen Alltag. Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen die häufigste Todesursache weltweit dar. [6] In der Bundesrepublik Deutschland sterben jährlich über 300.000 Menschen an Krankheiten des Herz-Kreislaufsystems, das entspricht 35 % aller Todesfälle [7].

1.1.2 Ursachen einer Hypercholesterinämie

Man unterscheidet zwischen primären und sekundären Ursachen einer Hypercholesterinämie.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Zu den primären bzw. hereditären Ursachen der Hypercholesterinämie gehören die polygenetische Hypercholesterinämie und die familiäre Hypercholesterinämie (FH). Die FH wird autosomal-dominant vererbt und geht mit einer Mutation des LDL-Rezeptors einher. Es kommen heterozygote (heFH) oder homozygote Formen (hoFH) vor und führen bei Betroffenen von Geburt an zu erhöhten Cholesterinwerten [8]. Die Prävalenz der heFH wird auf 1:200 geschätzt [9-11]. Bei dieser Form weisen Betroffene LDL-Cholesterinwerte von ca. 310-580 mg/dL auf [8]. Die seltenere homozygote Form hat eine schwerere Ausprägung mit LDL-Cholesterinwerten von 460-1160 mg/dL [11-13]. Menschen mit einer FH haben ein 3- bis 13-fach erhöhtes Risiko für eine frühe Atherosklerose und ein stark erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität. Die Folgen einer unbehandelten Hypercholesterinämie können bei Betroffenen bereits in den ersten Lebensdekaden zu kardiovaskulären Ereignissen und Tod führen [8, 11]. Zu den sekundären bzw. modifizierbaren Risikofaktoren der Hypercholesterinämie gehören eine hohe Aufnahme gesättigter Fettsäuren, körperliche Inaktivität, Rauchen und Übergewicht. Weitere sekundäre Ursachen sind Bluthochdruck, Diabetes mellitus Typ 2, chronische Niereninsuffizienz, Schilddrüsenunterfunktion und eine biliäre Obstruktion [5, 14, 15].

1.1.3 Die Rolle des LDL-Cholesterins

Das LDL-Cholesterin zeichnet sich als cholesterinreichste Lipoproteinklasse aus. Ein erhöhtes LDL-Cholesterin gehört zu den bedeutendsten Risikofaktoren für kardiovaskuläre Ereignisse [16].

LDL-Cholesterin dient dem Transport von Cholesterin aus der Leber in extrahepatische Gewebe. Es wird zu einem kleinen Teil extrahepatisch aus dem Blutkreislauf eliminiert, der größte Teil wird hepatisch über LDL-Rezeptoren gebunden und abgebaut. Bei Vorliegen einer Barrierestörung des Endothels, die durch eine Hypercholesterinämie selbst bedingt sein kann, können LDL-Moleküle in die Gefäßwand von Arterien gelangen. Durch Interaktion mit extrazellulären Strukturen werden sie dort gebunden. Infolge der progredienten Akkumulation von LDL-Cholesterin in den Gefäßwänden kommt es zu einer komplexen inflammatorischen Reaktion mit Ausbildung eines atherosklerotischen Plaques [17, 18].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Über diesen Pathomechanismus ist insbesondere das LDL-Cholesterin maßgeblich an der Entstehung und dem Progress der Atherosklerose beteiligt [13]. Die Atherosklerose ist eine progressive chronisch-inflammatorische Erkrankung der Arterien, die schwere klinische Folgen wie Herzinfarkt oder Schlaganfall haben kann [2, 3, 19].

In epidemiologischen und randomisierten kontrollierten Studien konnte ein signifikanter Zusammenhang zwischen Veränderungen der LDL-Cholesterinspiegel und dem Risiko für Herz-Kreislauf-Erkrankungen belegt werden [20-23]. Eine LDL-Cholesterin Senkung führt proportional zur absoluten Abnahme zu einem reduzierten kardiovaskulären Risiko [20]. Insbesondere wirken sich längerfristig niedrige LDL-Cholesterin Spiegel positiv aus [23], was auf einen kumulativen Effekt des LDL-Cholesterins schließen lässt. Das Ausmaß der Reduktion des Mortalitätsrisikos korreliert mit dem LDL-Cholesterin Ausgangswert vor Therapiebeginn. Die ausgeprägteste Korrelation konnte bei initialen LDL-Cholesterin Werten >100 mg/dL beobachtet werden [24].

Eine besonders relevante Untergruppe des LDL-Cholesterins, die eine eigenständige Lipoproteinklasse darstellt, sind die Lipoproteine (a) (Lp (a)). Die physiologische Funktion des Lp (a) ist aktuell noch nicht vollständig geklärt. Sie bestehen aus einem LDL-Cholesterin Molekül, an das ein zusätzliches Apolipoprotein (a) gebunden ist [25, 26]. Lp (a) weist neben seinen proatherogenen auch prothrombotische und proinflammatorische Eigenschaften auf [25, 27]. Im Rahmen dieser Attribute trägt es ebenso wie das LDL-Cholesterin zur Entstehung einer Endotheldysfunktion sowie der Entstehung der Atherosklerose bei [25]. Die Höhe des Lp (a)-Spiegels ist zu etwa 90 % genetisch festgelegt [28, 29] und variierte in Studien sehr stark zwischen Werten von <0,1 mg/dL bis >200 mg/dL in verschiedenen Populationen (Normwerte <30 mg/dL bzw. <75 nmol/L). Afrikaner scheinen durchschnittlich zwei- bis dreifach höhere Lp (a)-Spiegel aufzuweisen [28]. Schätzungen zufolge liegen bei 20 % der Weltbevölkerung Lp (a)-Spiegel von >50 mg/dL vor, was bereits einem sehr hohen kardiovaskulären Risiko entspricht [30]. Menschen mit extrem hohen Lp (a)-Spiegeln ≥ 120 mg/dL (>95. Perzentile) weisen ein drei- bis vierfach erhöhtes Risiko für einen Herzinfarkt und ein 20 % (Frauen) bzw. 30 % (Männer) höheres 10-Jahresrisiko für eine ischämische Herzerkrankung auf [31].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Analog zum LDL-Cholesterin sind somit auch erhöhte Lp (a)-Spiegel mit einem gesteigerten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse verbunden [25, 26, 28, 29].

1.2 Therapie der Hypercholesterinämie

Die Prävention und Therapie der Hypercholesterinämie zur Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse spielen im klinischen Alltag eine große Rolle [5, 15]. Im Fokus der Therapie der Hypercholesterinämie steht die Senkung des LDL-Cholesterins. Die Datenlage aus großen Studien zeigt deutlich, dass es eine positive Korrelation zwischen kardiovaskulärem Risiko und den LDL-Cholesterin Spiegel gibt [20, 32, 33]. Eine Reduktion des LDL-Cholesterins um 1 mmol/L (38,7 mg/dL) reduziert das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse um 24 %, eine Reduktion um 2-3 mmol/L (77,3-116 mg/dL) senkt das Risiko bis zu 50 % [20]. Als Konsequenz dieser Studienergebnisse sind im Laufe der letzten Jahre die empfohlenen LDL-Cholesterin Zielwerte in der Primär- und Sekundärprävention abhängig vom individuellen Risiko des Patienten herabgesenkt worden. In der aktuellen Dyslipidämie-Leitlinie der *European Society of Cardiology* (ESC) von 2019 liegt das Therapieziel von LDL-Cholesterin bei Hochrisikopatienten bei <55 mg/dL [13]. In der Sekundärprävention herrscht allgemein nach Expertenmeinung das Credo: „*the lowest, the best*“.

Gesundheitsrisiken bei dauerhaft niedrigen LDL-Cholesterin Werten konnten sich bisher nicht zeigen [34]. So wurden in Studien zu Völkergruppen, die nach dem „Jäger-und-Sammler“-Prinzip leben und lebenslange LDL-Cholesterin Werte von <50 mg/dL aufweisen, keine Hinweise für ein gesundheitliches Risiko beobachtet [35]. Personen mit einer angeborenen Mutation im LDL-Metabolismus, die zu einer verstärkten LDL-Cholesterin Elimination aus dem Kreislauf führt und mit lebenslangen extrem niedrigen LDL-Cholesterin Spiegel von bis zu <15 mg/dL einhergeht, sind klinisch ebenfalls asymptomatisch [34, 36, 37].

Zur Erstlinientherapie der Hypercholesterinämie gehört die Gruppe der Statine. Es wird je nach Ansprechen bis zur höchsten tolerablen Statindosis gesteigert, um die LDL-Cholesterin Zielwerte entsprechend des individuellen Patientenrisikos zu erreichen. Bei unzureichendem Ansprechen kann auf eine Kombinationstherapie mit Ezetimib eskaliert werden. Bei Patienten mit sehr hohem kardiovaskulären Risiko und unzureichendem Ansprechen oder Intoleranz der bisherigen Therapie sollte laut aktueller Leitlinie die Gabe eines PCSK9-Inhibitors in Erwägung gezogen werden [13].

1.2.1 Statine

Wirkmechanismus

Die Wirkung der Statine basiert auf der kompetitiven Hemmung des geschwindigkeitsbestimmenden Schrittes der Cholesterin-Biosynthese, der Inhibition des Enzyms 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym A (HMG-CoA)-Reduktase. Da der Großteil des Cholesterins nicht über die Nahrung aufgenommen wird, sondern körpereigen synthetisiert wird [38], führt dies zu verminderten Plasma-Spiegeln von LDL-Cholesterin und Triglyzeriden. Das durch die Enzymhemmung resultierende verminderte Cholesterinangebot in der Leber führt zu einer vermehrten Expression von LDL-Rezeptoren auf der Organoberfläche. Das im Blut bereits vermindert zirkulierende LDL-Cholesterin wird somit zusätzlich hepatisch rascher abgebaut.

Effekte

Diverse große Studien mit einer Laufzeit von zum Teil über 20 Jahren [39] konnten bereits die Sicherheit und den protektiven Effekt der langfristigen Statintherapie auf das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse wie Herzinfarkt, instabile Angina pectoris, Schlaganfall sowie der Mortalität belegen [33, 40-45]. Dies zeigte sich sowohl bei Patienten mit bereits bestehender koronarer Herzkrankheit als auch in der Primärprävention bei bislang herzgesunden Patienten. Beim Vorliegen einer Normcholesterinämie zeigt sich dieser Effekt ebenfalls [40-42, 46].

Die Reduktion des LDL-Cholesterins durch Statine ist dosisabhängig und beträgt bei Standard- bzw. Niedrigdosis (*low-dose*)-Therapie etwa 30 % und bei Hochdosis (*high-dose*)-Therapie etwa 50 % des Ausgangswertes. Als Standard- bzw. Niedrigdosis-Therapie wurden Dosen von 10-20 mg Atorvastatin, 20-40 mg Simvastatin, 5-10 mg Rosuvastatin oder 20-40 mg Fluvastatin definiert, als Hochdosis-Therapie Dosen von 40-80 mg Atorvastatin, 80 mg Simvastatin, 20-40 mg Rosuvastatin oder 80 mg Fluvastatin.

Statine senken die Triglyzerid-Spiegel um 10-20 % [13]. Auf die Spiegel des Lp(a) haben Statine hingegen keinen Einfluss [47].

Neben dem cholesterinsenkenden Effekt werden sogenannte pleiotrope Effekte von Statinen diskutiert, die unabhängig vom Ausmaß der LDL-Cholesterin

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Senkung zu beobachten sind. Diese umfassen unter anderem die positive Beeinflussung vaskulärer Funktionsparameter. Eine Metaanalyse zeigte, dass sich der aortale Augmentationsindex (Alx) und die Pulswellengeschwindigkeit (*Pulse-wave velocity*, PWV), als Parameter der arteriellen Gefäßsteifigkeit, unter Statintherapie signifikant verbessern [48, 49]. Die flussvermittelte Vasodilatation (*Flow-mediated dilation*, FMD), die Aussage über die Endothelfunktion gibt, verbessert sich ebenfalls sowohl kurz- als auch langfristig unter Statinen [50-52]. Statine verbessern den arteriellen Blutfluss in der venösen Verschlussplethysmographie [52]. Der zentrale und periphere Blutdruck, der *ankle-brachial index* (ABI) und die periphere und zentrale Hämodynamik werden von Statinen nicht beeinflusst [53, 54]. Der genaue Wirkmechanismus hinter diesen pleiotropen Effekten ist noch nicht vollständig geklärt. Unter anderem bewirken Statine eine vermehrte Expression der endothelialen Stickstoffmonoxid (NO)-Synthase und führen darüber zu einer erhöhten NO-Verfügbarkeit und vermindertem oxidativen Stress [46, 55, 56]. Statinen werden durch die Senkung des zentralen Entzündungsmarkers CRP (C-reaktives Protein) [57], der Verminderung der Expression von Adhäsionsmolekülen [58, 59] und durch Inhibition der Makrophagenaktivität antiinflammatorische Effekte zugesprochen [60]. Sie wirken antithrombotisch, hemmen die Migration glatter Muskelzellen und führen zu einer Stabilisierung atherosklerotischer Plaques [61]. Die klinische Relevanz dieser Effekte ist bisher jedoch noch nicht vollständig belegt.

Statine können zu unerwünschten Arzneimittelwirkungen führen. Die häufigste klinisch relevante Nebenwirkung ist die Myalgie, die häufig als Statin-assoziierte Muskelsymptome (*statin-associated muscle symptoms*, SAMS) zusammengefasst wird und bei 10-15 % der Patienten unter Therapie beschrieben wird [62]. Diese ist ein häufiger Grund für einen Therapieabbruch. Aktuelle Studien lassen jedoch einen hohen Anteil eines „Nocebo“-Effekts bei Statinen bezüglich SAMS vermuten [63, 64]. In sehr seltenen Fällen (1-3/100.000 Patientenjahre) kann ein SAMS zu einer lebensbedrohlichen Rhabdomyolyse führen [65]. Dosisabhängig erhöhen Statine zudem das Risiko, einen Diabetes mellitus Typ 2 zu entwickeln [66]. Da nahezu alle Statine hepatisch über die Cytochrom P-Enzyme verstoffwechselt werden, birgt die Therapie ein nicht zu vernachlässigendes Interaktionspotential, was die Wahrscheinlichkeit unerwünschter Wirkungen erhöht. Sowohl die SAMS als auch ein fehlendes

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Ansprechen auf eine Statintherapie führen nicht selten zu einem Wechsel auf ein anderes Statin-Präparat oder eine andere Wirkstoffgruppe.

1.2.2 Ezetimib

Wirkmechanismus

Ezetimib führt als enteraler Cholesterin-Aufnahmehemmer zu verminderten LDL-Cholesterin Spiegeln im Blut. Über die Interaktion mit dem Niemann-Pick C1-like Protein 1 (NPC1L1) der Darmwand kommt es zu einer verminderten intestinalen Aufnahme von Cholesterin über die Nahrung sowie aus den Gallensäuren. Dies resultiert in einem geringeren Transport cholesterinhaltiger Lipoproteine zur Leber und somit einem geringeren systemischen Cholesterinangebot. Reaktiv exprimiert die Leber vermehrt LDL-Rezeptoren, die den Blutspiegel des LDL-Cholesterins wiederum zusätzlich senken.

Effekte

Ezetimib kann bei Eskalation einer Statintherapie ergänzt werden oder bei Statinunverträglichkeit alleine gegeben werden. Eine Ezetimib-Monotherapie senkt die LDL-Cholesterin Spiegel durchschnittlich um 18,5 % [67]. Zudem führt es zu einem signifikanten Anstieg von HDL-Cholesterin um ca. 3 % und zu einer Reduktion der Triglyzerid-Spiegel um 8 %. Die Therapie mit Ezetimib zeigt einem verhältnismäßig geringen, aber signifikanten kardiovaskulären Vorteil [68].

Die Kombination aus Hochdosis-Statin und Ezetimib reduziert das LDL-Cholesterin durchschnittlich um 65 % [13]. Bei Patienten mit einem akuten Koronarsyndrom führt die Kombinationstherapie zu einem verbesserten kardiovaskulären Outcome [68]. Bezüglich der Auswirkungen auf die Endothelfunktion konnte zwischen Patienten unter Hochdosis-Statintherapie und Niedrigdosis-Statintherapie plus Ezetimib kein signifikanter Unterschied gefunden werden [69-71].

1.2.3 PCSK9-Inhibitoren

Wirkmechanismus

2015 wurde die Medikamentenklasse der PCSK9-Inhibitoren in Europa zugelassen. Es handelt sich hierbei um monoklonale Antikörper gegen das Enzym Proprotein-Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 (PCSK9), das in die metabolische Kontrolle der LDL-Rezeptoren eingreift. Durch Bindung von PCSK9

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

an den LDL-Rezeptor kommt es physiologischerweise zur Induktion des lysosomalen Abbaus des gesamten Komplexes (s. Abbildung 1).

Die Bindung und Elimination von PCSK9 durch einen monoklonalen Antikörper führt somit zu einem verminderten Abbau von LDL-Rezeptoren auf den Zelloberflächen. Über diesen Mechanismus wird vermehrt zirkulierendes LDL-Cholesterin an Rezeptoren gebunden und aus dem Blut eliminiert. Dieser Vorgang läuft sowohl in hepatischen als auch in extrahepatischen Geweben ab und macht etwa 80 % der LDL-Elimination aus. Die restlichen 20 % werden über nicht-LDL-Rezeptor Wege hauptsächlich über Monozyten und Makrophagen in Gefäßwänden abgebaut [34].

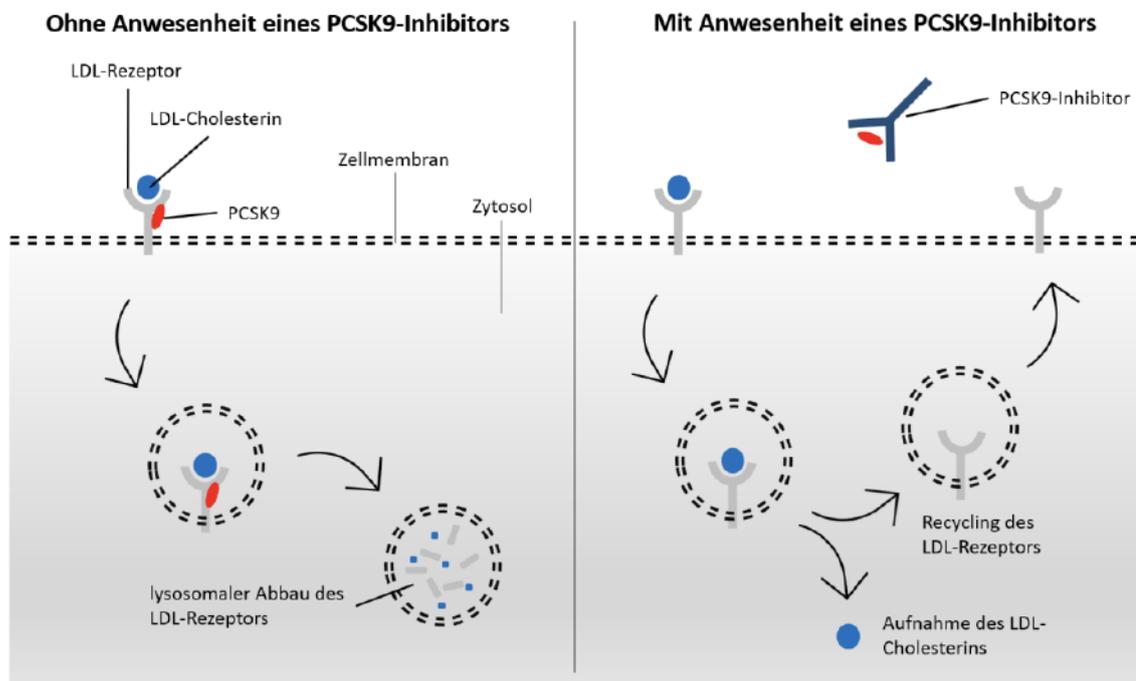


Abbildung 1: Wirkmechanismus PCSK9-Inhibitoren (eigene Darstellung); LDL = Low-Density Lipoprotein, PCSK9 = Proptotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9

Der genaue Wirkmechanismus der PCSK9-Inhibitoren ist bisher noch nicht vollständig geklärt. Erhöhte PCSK9-Spiegel korrelieren zwar mit einem erhöhten LDL-Cholesterin Spiegel [72], jedoch konnte keine Assoziation zwischen PCSK9-Spiegeln und dem Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse oder Parametern der Gefäßfunktion gefunden werden [73, 74]. Bei Patienten mit Dyslipidämie konnten erhöhte PCSK9-Spiegel beobachtet werden [75]. Inwiefern PCSK9-Spiegel zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse in der Gesamtbevölkerung vorhersagen können ist unklar, da die Studienlage kontroverse Ergebnisse zeigt [74, 76].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Aktuell in Deutschland zugelassen sind die beiden humanisierten monoklonalen Antikörper Evolocumab (Repatha®) und Alirocumab (Praluent®), die jeweils zweiwöchentlich subkutan appliziert werden. Da unter Statintherapie ein Anstieg von PCSK9 zu beobachten ist [77], konnte der ausgeprägteste Effekt von PCSK9-Inhibitoren auf den LDL-Cholesterin Spiegel bisher in der Kombinationstherapie mit Statinen erzielt werden.

Effekte

Der lipidsenkende Effekt sowie die klinische Sicherheit dieser beiden monoklonalen Antikörper konnte bereits mehrfach belegt werden [78-82]. PCSK9-Inhibitoren senken in der Monotherapie das LDL-Cholesterin um etwa 60% [83]. Bei 42% der Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK) unter PCSK9-Inhibitor Therapie konnten sogar LDL-Cholesterin Spiegel von <25 mg/dL erreicht werden [80]. In Kombination mit einem Statinpräparat ist eine absolute LDL-Cholesterin Senkung von durchschnittlich 75 % zu erwarten, die durch eine weitere Kombination mit Ezetimib auf bis zu 85 % gesteigert werden kann [13]. Eine Senkung der Triglyzerid-Spiegel um 26 % und ein Anstieg des HDL-Cholesterins um 9 % konnten ebenfalls beobachtet werden [78]. Im Gegensatz zu Statinen können PCSK9-Inhibitoren die Lp (a)-Spiegel um bis zu 30-40 % reduzieren [84, 85].

In großen randomisierten Studien wurde der Effekt dieser neuen Medikamentenklasse auf die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität untersucht [80, 86]. Die FOURIER (*Further Cardiovascular Outcomes Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk*)-Studie zeigte, dass eine LDL-Cholesterin Senkung durch Evolocumab signifikant mit einem reduzierten Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse bei Diabetikern und Nicht-Diabetikern mit stabiler KHK korreliert. Im Gegensatz zu Statinen kommt es zudem nicht zu einem erhöhten Risiko für das Auftreten von Diabetes mellitus [80]. In der ODYSSEY (*Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab*)-Studie konnte bei Patienten nach akutem Koronarsyndrom ähnliche Ergebnisse zum kardiovaskulären Risiko für Alirocumab festgestellt werden. Es konnte eine Reduktion der Gesamt-Mortalität um 15 %, nicht aber der kardiovaskulären Mortalität nachgewiesen werden [87].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

In beiden Studien wurde eine Hintergrund-Statintherapie durchgeführt und das Risiko kardiovaskulärer Ereignisse durch PCSK9-Inhibitoren durchschnittlich um 15-20 % gesenkt.

In Maustierexperimenten konnte unter Alirocumab-Therapie dosisabhängig eine Reduktion atherosklerotischer Läsionen in der Aorta um 71-88 % festgestellt werden, die durch Kombination mit Statinen noch ausgeprägter waren [88]. Dieser Effekt, wenn auch nicht im gleichen Ausmaß, konnte in der GLAGOV (*Global Assessment of Plaque Regression With a PCSK9 Antibody as Measured by Intravascular Ultrasound*)-Studie mit 968 KHK-Patienten ebenfalls gezeigt werden. Mittels intravaskulärem koronarem Ultraschall wurde zu Beginn und nach 1,5 Jahren unter PCSK9-Inhibitor Therapie das koronare Atheromvolumen bestimmt. Unter Evolocumab in Kombination mit einem Statinpräparat konnte eine Reduktion des koronaren Atheromvolumens von knapp 1 % verzeichnet werden [89]. Dieser Effekt konnte für Statine bisher nicht belegt werden.

Im klinischen Alltag erreicht nur ein Teil der Patienten die LDL-Cholesterin Zielwerte mit einer alleinigen Statin-Therapie [32]. Aus diesem Grund bieten PCSK9-Inhibitoren eine neue, potente therapeutische Option sowohl in der Primär- als auch in der Sekundärprävention kardiovaskulärer Ereignisse. Sie sind zur LDL-Cholesterin Senkung bei allen Patientengruppen einsetzbar, die intakte LDL-Rezeptoren aufweisen. Auch Patienten mit heFH und hoFH konnten bereits erfolgreich therapiert werden [90]. Zu den unerwünschten Arzneimittelwirkungen unter PCSK9-Inhibitor-Therapie gehören vorübergehende grippeähnliche Symptome, eine erhöhte Infektanfälligkeit sowie Schwellung oder Schmerzen an der Einstichstelle. Aufgrund des günstigen Nebenwirkungsprofils und der leichten Handhabbarkeit durch subkutane Injektion alle zwei Wochen zeigen PCSK9-Inhibitoren bei einigen Patienten eine bessere Verträglichkeit und Therapieadhärenz. In Anbetracht der hohen Kosten im Vergleich zur Statintherapie sind PCSK9-Inhibitoren aktuell vor allem eine Option für Patienten mit sehr hohem kardiovaskulärem Risiko und fehlendem Erreichen der Therapieziele oder Intoleranz gegenüber der Therapie mit Statinen bzw. Ezetimib.

1.3 Parameter der vaskulären Funktion

1.3.1 Makrostrombahn

Zur Makrostrombahn gehören diejenigen Arterien und Venen, die vornehmlich eine Funktion als Leitungsgefäße einnehmen. Klinisch relevant sind hierbei vor allem die Aorta und ihre Abgänge, sowie die Karotis und die Koronarien. Mit zunehmendem Alter sind diese Gefäßbereiche häufig von atherosklerotischen Veränderungen mit der Folge potentieller kardiovaskulärer Ereignisse betroffen. Eine Veränderung der Arterienstruktur im Alter oder durch Risikofaktoren zeigt sich im Umbau der Gefäßwand mit Ersatz von Elastin durch Kollagen. Es kommt zu einer Verdickung und Verhärtung der Arterie [91]. Dieser Umbau resultiert im Anstieg der Geschwindigkeit der Pulswelle entlang der Aorta bis hin zur Peripherie.

Dieser Prozess begünstigt im Verlauf die Entstehung eines isolierten systolischen Bluthochdruckes, der mit einer Prävalenz von 30 % die häufigste Form des Bluthochdrucks bei Menschen über 80 Jahren darstellt [92]. Risikofaktoren für die Entstehung und den Progress arterieller Gefäßsteifigkeit sind neben der Hypercholesterinämie zu einem großen Anteil hohes Alter und Bluthochdruck [93-96], wobei auch eine starke Korrelation zum Vorliegen eines Diabetes mellitus und eines metabolischen Syndroms gezeigt werden konnte [93, 96]. Weitere Risikofaktoren sind eine chronische Inflammation [97, 98] und Nikotinabusus [99].

Das Ausmaß der Versteifung großer arterieller Gefäße lässt sich unter anderem durch nicht-invasive Messung der Pulswellengeschwindigkeit und der Augmentation quantifizieren. Beide Parameter sind unabhängige Prädiktoren für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität [100-103].

1.3.2 Mikrostrombahn

Als Mikrostrombahn bezeichnet man die Kapillaren und postkapillären Venolen mit einem Gefäßdurchmesser von $<150 \mu\text{m}$, an denen der Nährstoff- und Flüssigkeitsaustausch mit dem Gewebe stattfindet. Das Kapillarnetz macht flächenmäßig den größten Teil aller Blutgefäße im menschlichen Körper aus und verbindet das arterielle mit dem venösen Gefäßsystem sowohl strukturell als auch funktionell.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Eine Störung in diesem Gefäßbereich kann zu einer beeinträchtigten Versorgung des nachgeschalteten Gewebes mit Sauerstoff oder Nährstoffen führen. Zu den Risikofaktoren einer beeinträchtigten Mikrozirkulation gehören neben der Hypercholesterinämie ein hohes Alter, arterieller Hypertonus, Hyperglykämie, Übergewicht, und Rauchen [104, 105]

Infolge dieser Dysfunktion kann es langfristig zu Erkrankungen wie Herzinsuffizienz [106], Niereninsuffizienz [107], Retinopathie [108], Neuropathie [108], Schlaganfall [109] oder Depressionen [110] kommen. Zudem konnte gezeigt werden, dass Störungen des Endothels im Bereich der Mikrozirkulation zu einer signifikanten endothelialen Dysfunktion der vorgeschalteten Makrostrombahn führen können [111].

1.3.3 Endothelfunktion

Die Endothelfunktion ist ein wichtiger Aspekt der makro- und mikrozirkulatorischen Strombahn. Insbesondere die Endothelfunktion großer Leitungsgefäße ist ein gut untersuchter sowie häufig eingesetzter Parameter zur Einschätzung der Gefäßfunktion sowie des Risikos für kardiovaskuläre Ereignisse. Ihre Bedeutung im Rahmen der vaskulären Funktion soll hier noch einmal hervorgehoben werden.

Als Endothel wird die innerste Schicht von Gefäßen aus einschichtigem Plattenepithel bezeichnet, die in direktem Kontakt mit dem zirkulierenden Blut steht und für die Aufrechterhaltung der vaskulären Funktion von essenzieller Bedeutung ist. Durch Ausschüttung vasoaktiver Substanzen reguliert das Endothel den an den aktuellen Bedarf angepassten Gefäßtonus und kontrolliert somit die Perfusion der verschiedenen nachgeschalteten Gewebe. Dabei wird zwischen vasodilatatorischen Stoffen, wie unter anderem Stickstoffmonoxid (NO), sowie vasokonstriktorischen Stoffen unterschieden [112-116]. Insbesondere NO spielt eine zentrale Rolle in der lokalen Regulation des Gefäßtonus. NO wird im Endothel aus der Aminosäure L-Arginin durch die Aktivierung der endothelialen (eNOS) oder neuronalen (nNOS) NO-Synthase freigesetzt. Es bewirkt letztendlich die Relaxation der Muskulatur der Gefäßwand und führt somit zur Vasodilatation [113, 114, 117, 118]. Stimuli für die Aktivierung der eNOS sind eine Zunahme des Blutflusses und somit des damit verbundenen Scherstresses auf die Gefäßwand, Stimulus für die nNOS ist die sympathische oder parasympathische Ansteuerung. Außerdem trägt NO zur plättchenhemmenden

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Wirkung bei und wirkt somit selbst antithrombotisch [117, 119]. Das Endothel übernimmt zudem eine Barrierefunktion und reguliert die Gefäßpermeabilität und somit den Stoffaustausch zwischen Intra- und Extravasalraum. Außerdem hat es durch seine Möglichkeit der Leukozytenadhäsion wichtige inflammatorische Eigenschaften und ist an der Steuerung von Entzündungsreaktionen beteiligt [120].

Störungen der oben genannten Funktionen des Endothels werden unter dem Begriff der Endotheldysfunktion zusammengefasst. In den meisten Fällen handelt es sich hierbei um ein Ungleichgewicht zwischen vasokonstriktorisches und vasodilatatorischen Stoffen aufgrund von Störungen des endothelialen L-Arginin-NO-Weges, die letztendlich in einer geringeren Bioverfügbarkeit von NO resultieren [121, 122].

Bei einer Vielzahl von Erkrankungen wurde eine Assoziation zur Endotheldysfunktion festgestellt, darunter sind Bluthochdruck [121, 123], Diabetes mellitus Typ 1 und 2 [124, 125], chronische Niereninsuffizienz [126], chronische Herzinsuffizienz [127], Hypercholesterinämie [128-130], KHK [131] und das metabolische Syndrom. Auch bei Rauchern [130] und postmenopausalen Frauen mit Östrogenmangel konnte eine beeinträchtigte Endothelfunktion beobachtet werden [132].

Es wird davon ausgegangen, dass alle genannten Erkrankungen und Risikofaktoren gemeinsam haben, dass sie zu vermehrtem oxidativen Stress führen. Dieser Zustand geht mit einem erhöhten Level an Superoxidanionen und anderen reaktiven Sauerstoffspezies einher und beeinträchtigt viele der genannten Funktionen des Endothels [133, 134]. Die Dysregulation des bedarfsgerechten Gefäßtonus durch Inaktivierung von NO spielt dabei eine zentrale Rolle, was insbesondere bei Personen mit arterieller Hypertension, Hypercholesterinämie, Diabetes mellitus, Rauchern und mit zunehmendem Alter zu beobachten ist [121, 134-136]. An Lokalisationen im Gefäßbett mit verlangsamtem Blutfluss und somit verminderten Scherstress wird die endotheliale Funktion aufgrund von geringerer Aktivität der eNOS beeinträchtigt. Die Entstehung eines Endothelschadens wird an diesen Stellen, die insbesondere an Gefäßaufzweigungen zu finden sind, begünstigt [91, 137].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Endotheldysfunktion gilt als Hauptfaktor für die Entstehung der Atherosklerose [112, 138, 139] und dessen alleiniges Vorliegen gilt bereits als unabhängiger langfristiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse [140-144].

1.4 Zielsetzung der Studie

PCSK9-Inhibitoren senken signifikant und in großem Ausmaß die LDL-Cholesterin Spiegel und somit das Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse. Potentiell pleiotrope Effekte einer PCSK9-Inhibitor-Therapie auf vaskuläre Parameter, die über den lipidsenkenden Effekt hinausgehen, sind bisher wenig erforscht.

Mit dieser Arbeit soll die Hypothese untersucht werden, dass PCSK9-Inhibitoren langfristige Effekte auf verschiedene Segmente der Gefäßstrombahn haben, und dass diese Effekte unabhängig vom Ausmaß der LDL-Cholesterin Senkung sind. Eine graphische Darstellung der Hypothese ist Abbildung 2 zu entnehmen.

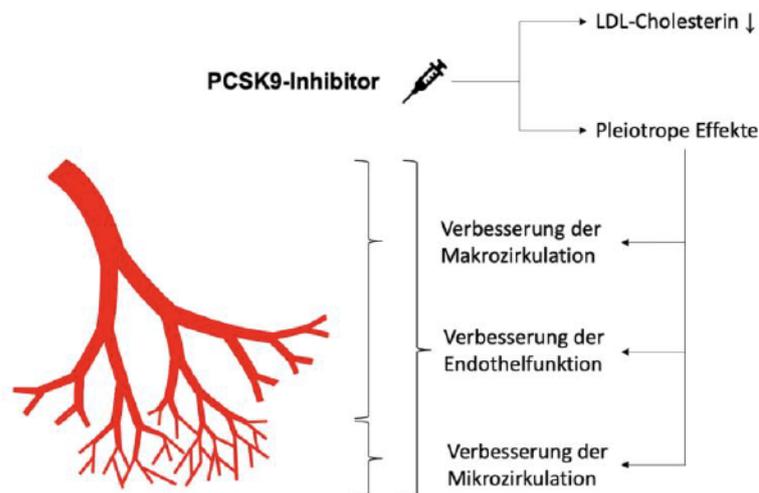


Abbildung 2: Graphische Darstellung der Hypothese (eigene Darstellung); *PCSK9-Inhibitor* = *Proprotein-Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9*, *LDL-Cholesterin* = *Low-Density Lipoprotein Cholesterin*

Zur Differenzierung eines potenziell unterschiedlichen Effektes auf verschiedene Abschnitte des arteriellen Gefäßbaums werden Parameter der Makrostrombahn, der Mikrostrombahn und der Endothelfunktion erhoben.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

2 Material und Methoden

2.1 Studienkollektiv

Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine prospektive medikamentöse Beobachtungsstudie, bei der chronische Effekte durch PCSK9-Inhibitoren auf die Makrozirkulation, die Mikrozirkulation sowie die Endothelfunktion untersucht wurden.

Das Patientenkollektiv besteht aus 33 Patientinnen und Patienten aus der Lipid-Sprechstunde der Uniklinik Düsseldorf, die über einen Zeitraum von 1,5 Jahren eingeschlossen und untersucht wurden (s. Abbildung 3). Ein männlicher Proband verstarb während des Beobachtungszeitraumes an einer unbekanntem Todesursache.

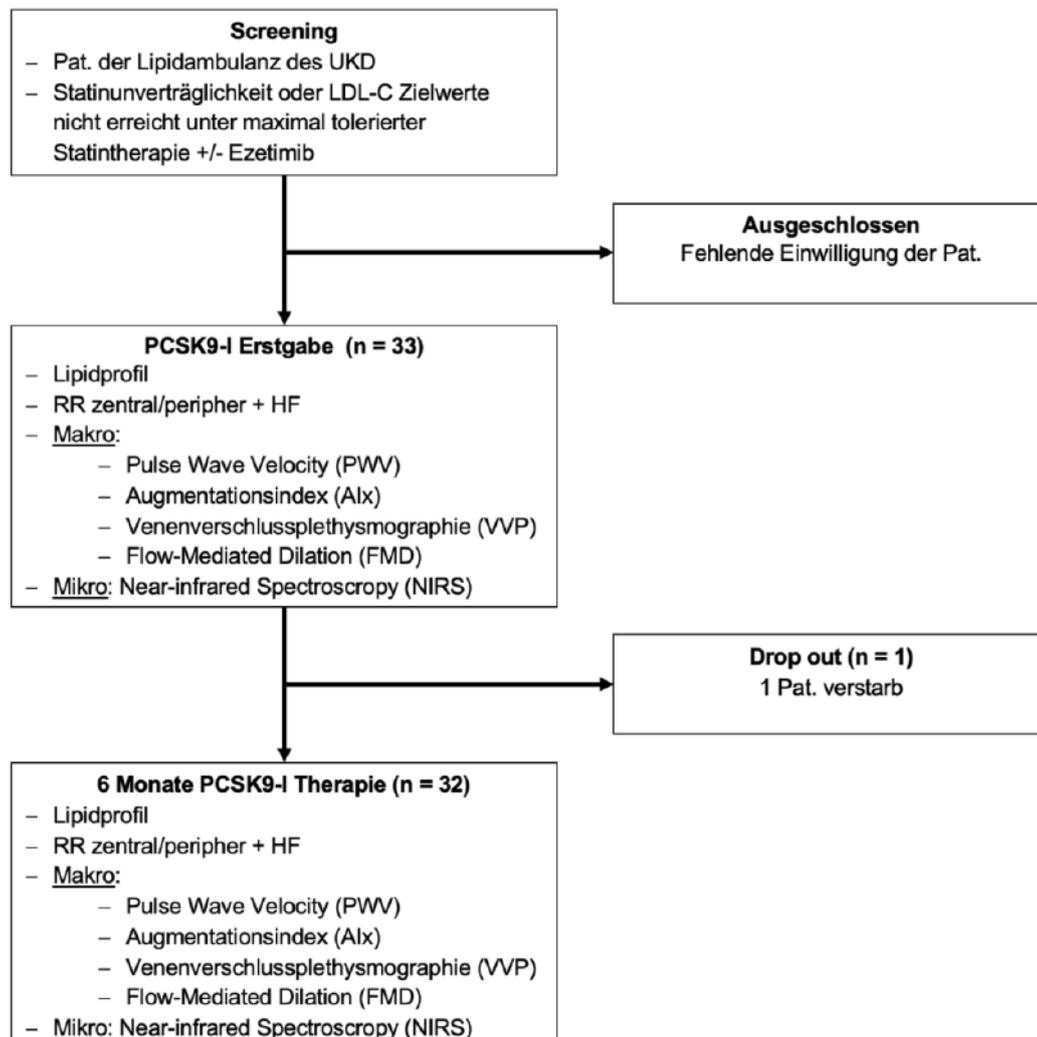


Abbildung 3: Probandeneinschluss; UKD = Universitätsklinikum Düsseldorf, PCSK9-Inhibitor = Proprotein-Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9, RR = Blutdruck, HF = Herzfrequenz

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Die Probanden sind Männer und Frauen im Alter von 29-83 Jahren mit einer therapierefraktären Hypercholesterinämie, bei denen die Indikation zur PCSK9-Inhibitor Therapie im Rahmen der Sekundärprävention gestellt wurde. Ausschlusskriterium war lediglich eine Unverträglichkeit gegenüber den PCSK9-Inhibitor Präparaten sowie eine fehlende Einwilligung.

Bei den PCSK9-Inhibitor Präparaten konnte es sich sowohl um Evolocumab (Repatha®) als auch um Alirocumab (Praluent®) handeln. Die initiale Dosis betrug bei allen Patienten 140 mg (Evolocumab) bzw. 150 mg (Alirocumab) s.c. alle zwei Wochen.

2.2 Studienprotokoll

Alle Probanden erhielten zunächst ein umfassendes Aufklärungsgespräch und gaben ihre schriftliche Einwilligung zur Teilnahme an der Studie.

Im Rahmen der ambulanten Vorstellung in der Lipidambulanz wurde den Probanden im Vorfeld Blut abgenommen und folgende Parameter bestimmt: Kleines Blutbild, Lipide (Gesamt- sowie HDL- und LDL-Cholesterin, Triglyzeriden, Lipoprotein (a)), Leberfunktionsparameter (CRP, GOT, GPT, γ -GT, AP), Harnsäure, Harnstoff, Creatinin, CK und HbA1c.

Eine Übersicht über das Studiendesign kann Abbildung 4 entnommen werden.

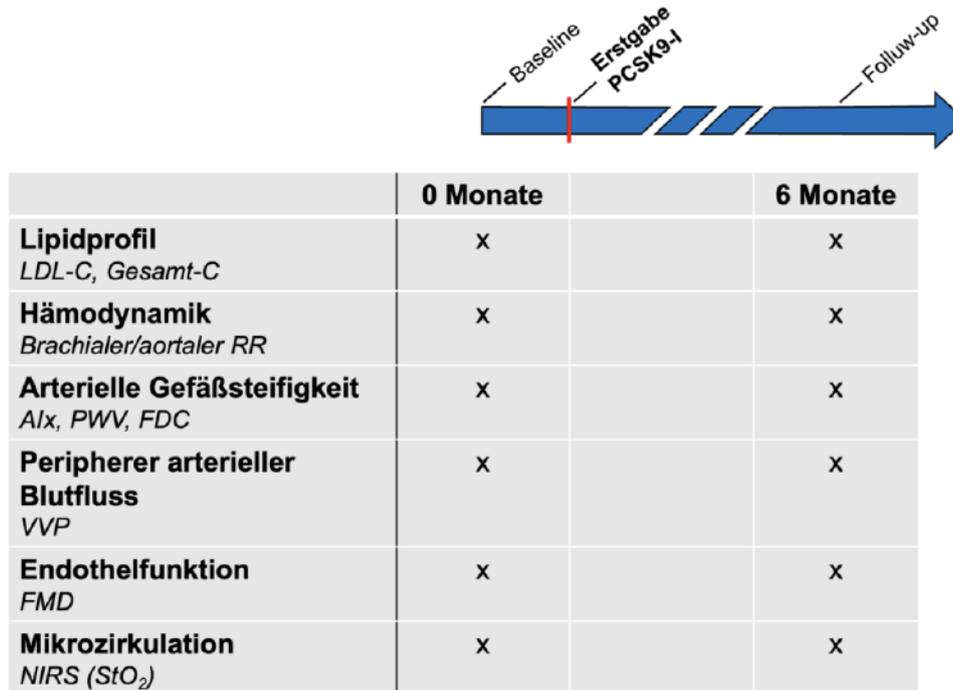


Abbildung 4: Studiendesign; RR = Blutdruck, Alx = Augmentationsindex, PWV = Pulswellengeschwindigkeit, FDC = Fractional Diameter Change, VVP = Venenverschlussplethysmographie, FMD = Flow-mediated Dilation, NIRS = Near-infrared Spectroscopy, PCSK9-I = Proprotein-Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 Inhibitor

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Am Tag der PCSK9-Inhibitor Erstgabe erhielten die Probanden zunächst eine kurze Kranken- und Lebensstilanamnese, um weitere Einflüsse auf die mögliche Veränderung der Gefäßfunktion sowie kardiovaskuläre Risikofaktoren zu ermitteln.

Anschließend erhielt jeder Proband nicht invasive Blutdruckmessungen an beiden Oberarmen. Zur Einschätzung der vaskulären Funktion der Makrostrombahn wurde eine Venenverschlussplethysmographie (VVP) zur Messung des arteriellen Blutflusses in den Beinen, eine Messung der carotid-femorale Pulswellengeschwindigkeit (PWV) sowie eine radiale Pulswellenanalyse (PWA) zur Erfassung des Augmentationsindex (AIx) und des zentraler hämodynamischer Parameter durchgeführt. Diese Messungen geben Rückschlüsse auf die arterielle Gefäßsteifigkeit und die Augmentation der aortalen Druckpulsweite. Zur Einschätzung der Mikrostrombahn erhielten die Patienten eine Aufnahme der Hände und Füße mittels Infrarot-Thermographie (*near-infrared spectroscopy*, NIRS), welche die Quantifizierung der Oxygenierung oberflächlicher Gewebe ermöglicht und so Informationen zur Mikrozirkulation im Kapillarstromgebiet zulässt. Schließlich erhielt jeder Proband eine FMD-Messung der Brachialarterie als Korrelat zur Endothelfunktion. Im Anschluss erhielten die Probanden die Erstgabe des PCSK9-Inhibitors.

Nach sechs Monaten der Therapie wurden die Probanden zur Kontrolle erneut in die Lipidambulanz einbestellt und erhielten dort routinemäßig eine weitere Blutabnahme. Zudem wurden die oben genannten nicht-invasiven Gefäßuntersuchungen, die bereits vor Erstgabe des PCSK9-Inhibitors durchgeführt wurden, wiederholt. Dies erlaubt die Erfassung eines umfassenden Gefäßstatus der Probanden zu zwei Zeitpunkten und ermöglicht so, den chronischen Effekt durch PCSK9-Inhibitoren auf die Gefäßfunktion zu erfassen. Eine Übersicht über die erhobenen vaskulären Parameter kann Abbildung 5 entnommen werden.

Für die durchgeführte Studie wurde von der Ethikkommission der Universität Düsseldorf das Ethikvotum mit dem Aktenzeichen Nr. 2020-854 versehen.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

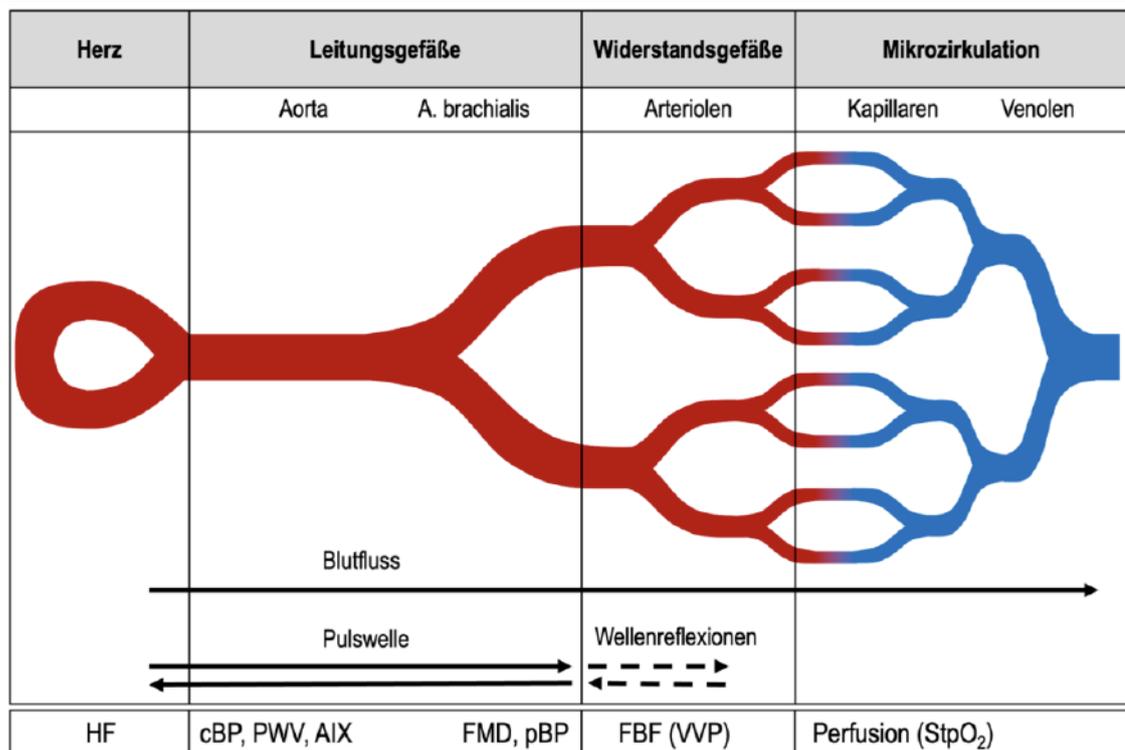


Abbildung 5: Graphische Darstellung der erhobenen Gefäßparameter (modifiziert nach [145]); A. brachialis = Arteria brachialis, HF = Herzfrequenz, cBP = central Blood Pressure (zentraler Blutdruck), PWV = Pulswellengeschwindigkeit, AIX = Augmentationsindex, FMD = Flow-mediated Dilatation (flussvermittelte Vasodilatation), pBP = peripheral Blood Pressure, FBF = Forearm Blood Flow, StO₂= Gewebe-Sauerstoffsättigung

2.3 Methodik

2.3.1 Blutdruckmessung

Zur Messung des peripheren Blutdruckes wurde ein automatisches oszillometrisches Messgerät (*Boso medicus*, BOSCH + SOHN GmbH u. Co. KG) verwendet. Die Probanden lagen vor der Messung mindestens für 10 Minuten ruhig auf einer Liege in einem gleichmäßig temperierten Raum. Es wurde ihnen zeitgleich an beiden Oberarmen ca. 5 cm oberhalb der Ellenbeuge die Manschette angelegt und Blutdruck sowie Herzfrequenz simultan gemessen.

2.3.2 Pulswellenanalyse

Die Pulswellenanalyse mittels des *SphygmoCor®* (AtCor Medical, Sydney, Australia) erlaubt die Messung verschiedener Parameter zur Einschätzung der vaskulären Funktion von Arterien und gibt Aussagen zur arteriellen Gefäßsteifigkeit [146, 147]. Durch nicht-invasive Messung von Pulswellen an peripheren Arterien wie der Radialarterie lassen sich zuverlässig Rückschlüsse

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

auf den Funktionszustand zentraler Arterien ziehen [148, 149]. Diese Parameter werden durch die Morphologie und den Ausbreitungsdruck der Pulswellen und ihrer Reflexionen bestimmt. Pulswellenreflexionen kommen dadurch zustande, dass die vom Herzen durch Kontraktion generierte Druckwelle während ihrer Ausbreitung im arteriellen Gefäßsystem an Orten mit Impedanzänderung, wie beispielsweise Gefäßaufzweigungen, partiell reflektiert wird. So ist letztendlich eine Summation von antegrader Pulswelle und Pulswellenreflexionen an der Radialarterie messbar. Die zeitliche Latenz der Reflexionen in Bezug auf die Pulswelle ist neben der Gefäßsteifigkeit auch vom Tonus der beteiligten Gefäße abhängig.

Durchführung

Durchgeführt wird die Pulswellenanalyse in einer ruhigen Umgebung bei auf dem Rücken liegenden Patienten, die zuvor schon eine 10-minütige Ruhephase absolviert haben. Vorheriger Kaffee- oder Nikotinkonsum wurde vermieden. Zunächst wird der periphere Blutdruck mittels Oberarm-Blutdruckmanschette erfasst und neben Körpergröße, Gewicht und Geschlecht des Patienten in der Mess-Software vermerkt. Dann wird durch Auflegen einer hochsensitiven Stiftsonde auf Höhe der oberflächlichen Radialarterie etwa 2-3 cm oberhalb des Handgelenks die Morphologie und der Druck der ankommenden Pulswellen bestimmt. Um eine möglichst repräsentative Messung zu bekommen werden mindestens drei Pulswellenmessungen von guter Qualität (*Operator Index* >85 %) durchgeführt. Anhand dessen kann die Software des *SphygmoCor*® automatisiert den zentralen Blutdruck sowie den Augmentationsindex berechnen.

Zentraler Blutdruck

In zentralen und peripheren Arterien sind der diastolische Blutdruck (DBP) sowie der arterielle Mitteldruck ähnlich konstant. Der systolische Blutdruck (SBP) und der Pulsdruck hingegen nehmen von zentralen Gefäßen wie der Aorta bis hin zu peripheren Gefäßen wie der A. radialis konsekutiv zu. Ursächlich hierfür ist ausgehend von zentral nach peripher die Zunahme der Gefäßsteifigkeit, die Abnahme des Gefäßradius sowie die Amplifikation durch die Reflexionen der Pulswellen. Dieser deutliche Druckunterschied ist insofern von Bedeutung, dass der höhere zentrale Druck derjenige ist, der am Herzen und im ZNS herrscht. Dessen genaue Bestimmung korreliert weitaus mehr mit dem kardiovaskulären

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Risiko und Endorganschäden als der für gewöhnlich im klinischen Alltag gemessene periphere Blutdruck am Oberarm [150].

Augmentationsindex

Die absolute Zunahme des Pulsdruckes durch Reflexionen der Pulswelle wird als Augmentationdruck bezeichnet (s. Abbildung 6), und dessen relativer Anteil am Pulsdruck entspricht dem Augmentationsindex (Alx). Dieser hängt vor allem von der Gefäßsteifigkeit ab, jedoch nehmen Herzfrequenz, Körpergröße, Geschlecht und peripherer Widerstand ebenfalls Einfluss darauf [151]. Aus diesem Grund wird der Augmentationsindex direkt durch die Software des *SphygmoCor*® auf diese Parameter bereinigt sowie auf eine Herzfrequenz von 75 Schlägen pro Minute standardisiert.

Mit steigendem Alter nimmt auch der Augmentationindex zu, wobei diese Zunahme insbesondere zwischen dem 20. und 50. Lebensjahr zu beobachten ist [152]. Bei Frauen ist in jedem Lebensalter der Alx höher als bei gleichaltrigen Männern [153]. Zudem lässt sich ein signifikant erhöhter Alx bei Patienten mit Hypercholesterinämie, arterieller Hypertonie und bei Rauchern feststellen [94].

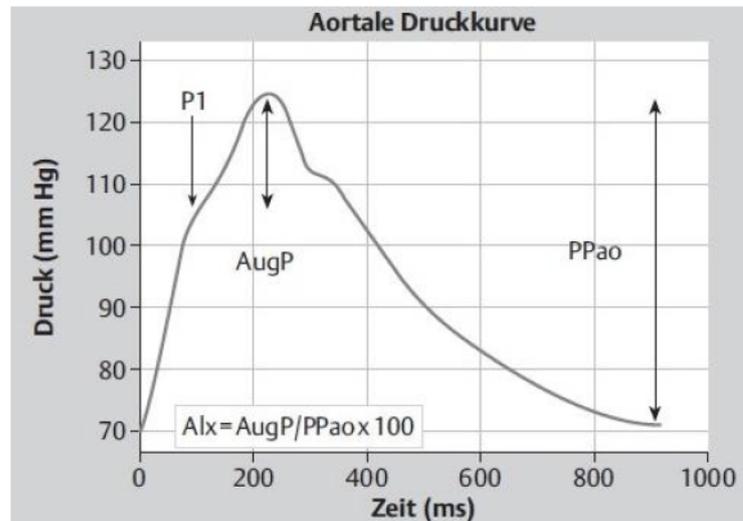


Abbildung 6: Pulswellencharakteristika der aortalen Druckkurve (vgl. [151]); $P1$ = Druckmaximum der initialen Druckwelle, $AugP$ = Augmentationsdruck (P = Pressure), $PPao$ = Aortaler Pulsdruck (PP = Pulse Pressure), Alx = Augmentationsindex

2.3.3 Pulswellengeschwindigkeit

Die carotid-femorale bzw. aortale Pulswellengeschwindigkeit (PWV) gilt als Goldstandard für die Messung der arterielle Gefäßsteifigkeit („arterial stiffness“) und korreliert invers mit der Elastizität der Arterien [154, 155].

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Die PWV gibt die Geschwindigkeit wieder, mit der sich die Pulswelle ausgehend vom Herzen entlang der Arterien im Körper ausbreitet und wird in der Einheit Meter pro Sekunde angegeben. Je steifer ein Gefäß ist, desto höher ist die Ausbreitungsgeschwindigkeit. Die PWV nimmt physiologischerweise mit dem Alter zu, insbesondere ab der 5. Lebensdekade. Weitere Faktoren wie Rauchen, Bluthochdruck und Diabetes mellitus korrelieren ebenfalls signifikant mit einer Zunahme der PWV [94, 151, 153]. Die erhöhte Geschwindigkeit der Pulswelle ist ein unabhängiger Risikofaktor für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse [155]. Ab einer Geschwindigkeit von 10 m/s kann es sogar zu manifesten Endorganschäden kommen [151]. Insbesondere die Messung der aortalen PWV hat große klinische Aussagekraft bezüglich atherosklerotischer Veränderungen und dem kardiovaskulären Risiko, da die Elastizität der Aorta für den größten Teil der Dämpfung des arteriellen Blutdruckes verantwortlich ist. Verkalkungen der Aorta haben somit einen größeren Einfluss als dies bei peripheren Arterien der Fall ist.

Durchführung

Zur Messung der Pulswellengeschwindigkeit leitet man mit Hilfe einer an das *SphygmoCor*® angeschlossenen Stiftsonde an den zwei oberflächlich gelegenen Arterien Arteria carotis communis und Arteria femoralis communis nacheinander das Signal der Pulswelle ab. Dabei wurde darauf geachtet, dass jeweils die gleichseitige Arteria carotis communis und Arteria femoralis communis verwendet wurden. Durch die zeitgleiche Ableitung eines angeschlossenen 1-Kanal-EKGs lässt sich das Auftreten der Pulswelle im zeitlichen Kontext des Herzzyklus messen. Aus dem Abstand zwischen den beiden Messorten und der unterschiedlichen zeitlichen Differenz des Auftretens beider Pulswellen in Bezug auf den Herzzyklus lässt sich die Geschwindigkeit der Pulswellenausbreitung in Metern pro Sekunde berechnen. Der Messabstand zwischen beiden Punkten wurde zuvor mit einem Maßband jeweils in Millimetern ausgehend vom Jugulum gemessen (s. Abbildung 7).

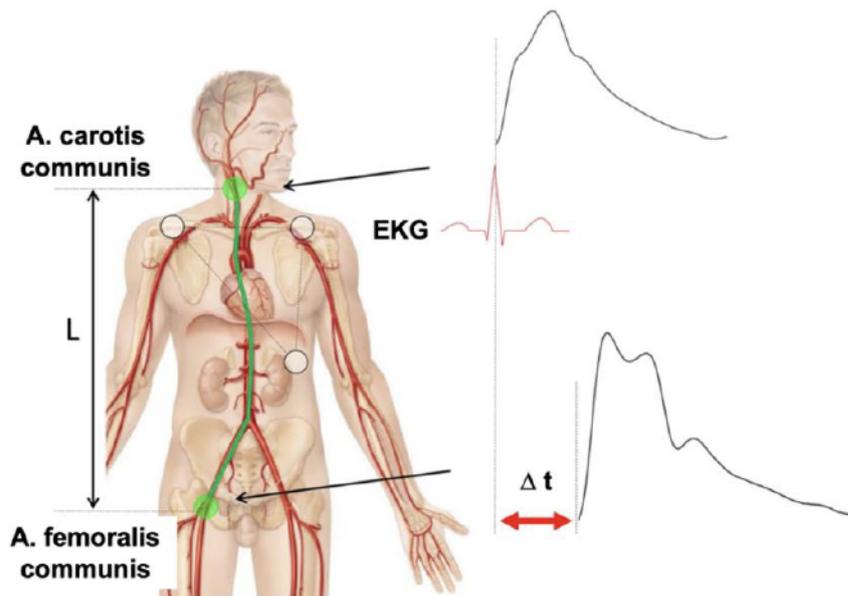


Abbildung 7: Messung der carotid-femoralen Pulswellengeschwindigkeit (modifiziert nach [156]); Δt = zeitliche Latenz

2.3.4 Venenverschlussplethysmographie

Durch das nicht-invasive Verfahren der venösen Verschlussplethysmographie kann der arterielle Blutfluss in den Beinen sowie eine Reihe venöser Parameter der Patienten ermittelt werden [157]. Zur Untersuchung der Fragestellung ist hierbei insbesondere der arterielle Blutfluss von Bedeutung.

Durchführung

Für die Untersuchung hat der Patient seine Beine entkleidet und auf dem Rücken liegend zunächst eine zehnmünütige Ruhephase durchlaufen. Es wurden quecksilberhaltige Dehnungs-Messstreifen an der Stelle des größten Unterschenkelumfangs beidseits umgelegt und sichergestellt, dass diese leicht verschieblich sind. Die Messstreifen sind unmittelbar mit dem Plethysmographen verbunden, was eine direkte Messung und Auswertung ermöglicht. Die Beine wurden in einer Höhe von ca. 35 cm angewinkelt hochgelagert, sodass die Fersen der Patienten auf einem erhöhten Polster zum Liegen kommen. In dieser Position befinden sich die Unterschenkel parallel zur Liege. An beiden Oberschenkeln wurden Blutdruckmanschetten 5 cm oberhalb des Kniegelenks angelegt (s. Abbildung 8).

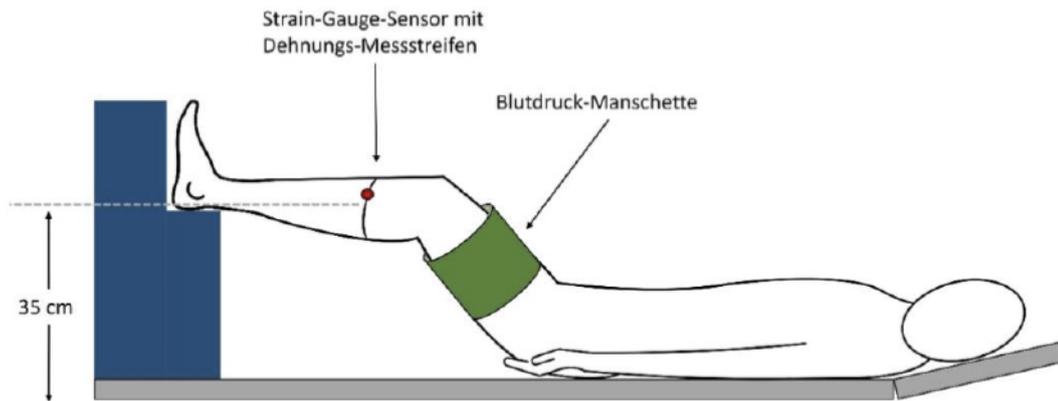


Abbildung 8: Strain-Gauge Venenverschlussplethysmographie (eigene Darstellung)

Durch den Plethysmographen (*ELCAT vasolab 5000*) findet zunächst eine Kalibrierung und Ermittlung der Ruhedurchblutung statt. Die Staumanschette wurde daraufhin über eine Gesamtdauer von drei Minuten stufenweise von 40 mmHg in der 1. Minute, über 60 mmHg in der 2. Minute und 80 mmHg in der 3. Minute aufgepumpt und parallel die Unterschenkelumfänge mittels der Dehnungs-Messstreifen detektiert. Im Anschluss wurde der Druck der Staumanschette abgelassen und Umfang sowie Dauer des venösen Abstroms aufgezeichnet.

Bei diesen infrasystolischen Okklusionsdrücken bleibt der arterielle Einstrom in die Beine erhalten, während der venöse Rückstrom unterbunden wird. Der Blutstau im venösen Gefäßsystem distal der Manschette resultiert in einer Zunahme des Unterschenkelumfangs, welcher mittels der Dehnungs-Messstreifen quantifiziert werden kann. Der Plethysmograph berechnet anhand der Steigung der Tangente der Messkurve zu Staubeginn den arteriellen Einstrom des Blutes in die untere Extremität.

Folgende Parameter wurden mittels des Plethysmographen an beiden Beinen ermittelt: Arterieller Einstrom (%/min), venöse Kapazität (%), Abstromkapazität (%), zusätzlich differenziert in 3s- und 5s-Abstromkapazität (%), venöser Abstrom (%/min) und venöse Halbwertszeit (Sekunden). Eine Übersicht der Messkurve sowie der erhobenen Parameter können Abbildung 9 entnommen werden.

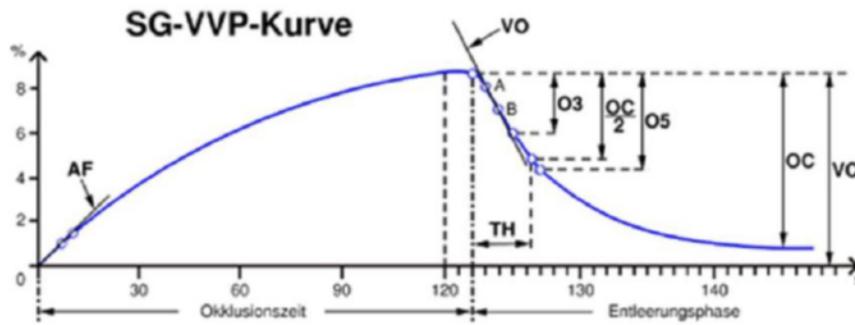


Abbildung 9: Messkurve der venösen Verschlussplethysmographie nach Strain-Gauge (vgl. ELCAT [158]); SG-VVP = *Strain-Gauge venöse Verschlussplethysmographie*, AF = *arterieller Einstrom*, VO = *venöser Abstrom*, OC = *Abstromkapazität*, O3 = *Abstromkapazität 3 Sekunden nach Okklusionsende*, O5 = *Abstromkapazität 5 Sekunden nach Okklusionsende*, TH = *venöse Halbwertszeit*

2.3.5 Infrarotthermographie

Zur Einschätzung der Funktion der Mikrostrombahn wurde eine Infrarotthermographie der Hände und Füße mittels Near Infrared Spectroscopy (NIRS) durchgeführt. Bei dem Verfahren wird die Oxygenierung des Hämoglobins und Myoglobins bis 5mm Tiefe als transkutane Sauerstoffsättigung (StO₂) in oberflächlichen Geweben gemessen. Mit Hilfe einer zu diesem Zweck ausgelegten Infrarotkamera (*SnapshotNIR®*, *Kent Imaging Inc, Canada*) lassen sich die Infrarotstrahlen der Haut durch multispektrale Oxygenierungsmessungen bestimmen. Die Aufnahmen zeigen ein zweidimensionales und farbkodiertes Bild der aufgenommenen Körperregion (s. Abbildung 10) und erlauben somit Aussagen über die Mikrozirkulation im Kapillarstromgebiet der Hände und Füße der Probanden zu treffen. Die kontaktlose NIRS-Messung mittels Kamera ist eine relativ neue Methode, die mit etablierten Techniken zur Quantifizierung der Mikrozirkulation übereinstimmt und zunehmend in der klinischen Forschung sowie im klinischen Alltag eingesetzt wird [159, 160].

Durchführung

Für die Untersuchung wurde auf einen gleichbleibend temperierten Raum mit ca. 20°C Umgebungstemperatur ohne strahlende Wärmequellen in der Nähe geachtet, um externe Einflüsse auf die Thermographie zu minimieren. Vor Beginn der Bildaufnahmen befanden sich die Patienten bereits ca. 10 Minuten im Untersuchungsraum auf einer Liege, um sich aufgrund von eventuell zuvor ausgesetzte Temperaturdifferenzen an die Umgebungstemperatur anzupassen. Es wurde beachtet, dass die Patienten unmittelbar vor der Untersuchung kein

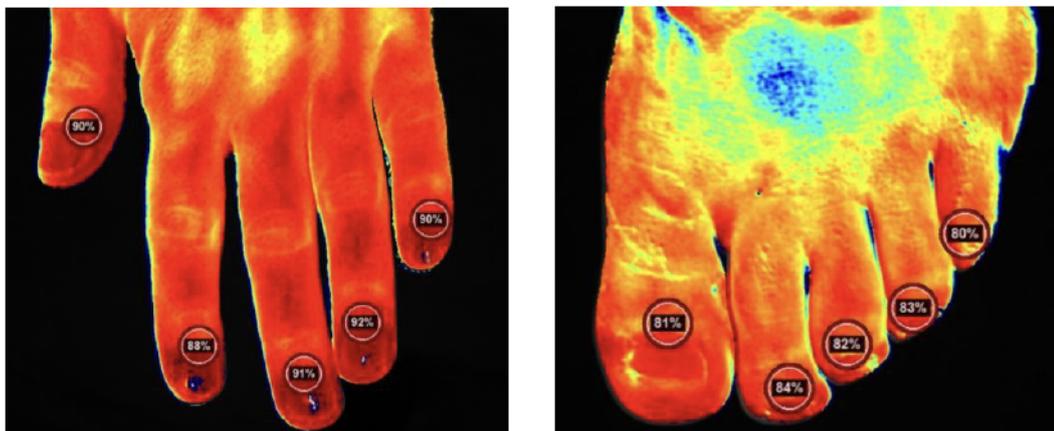
Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Nikotin, Koffein oder andere durchblutungsverändernden Substanzen eingenommen haben. Vor Beginn wurde die Kamera auf einer vom Hersteller normierten Platte kalibriert. Hierfür wurde die Kamera oberhalb der Platte positioniert, sodass die integrierten Positionsanzeiger in Form von roten Lichtpunkten auf die Platte gerichtet sind. Vier Lichter markieren die Außengrenzen der Bildaufnahme und zwei Lichter zeigen dem Untersucher die Mitte des Bildes sowie diejenige Distanz zum Objekt an, die zu einer korrekten Aufnahme führt. Wenn sich die beiden Lichter mittig überschneiden, ist die korrekte Distanz erreicht und die Kalibrierung kann durchgeführt werden. Ein klarer Fokus wurde bei den Messungen mit einem Abstand von ca. 40 cm erreicht.

Für die Messung der Gewebeoxygenierung der unteren Extremität lagen die Probanden mit dem Rücken auf der Liege und winkelten ihre Beine in einem 45° Winkel an, sodass die Füße auf der Liege aufstanden, ohne dabei Gefäße im Bereich des Kniegelenks zu komprimieren. Wie bei der Kalibrierung zuvor wurde der Bildfokus so gewählt, dass von dorsal die Zehen beider Füße jeweils nacheinander zentral im Bild aufgenommen wurden. Anschließend wurde mit dem gleichen Verfahren nacheinander je ein weiteres Bild der Hände aufgenommen. Bei den Messungen wurde besonders auf eine genaue vertikale Aufnahme geachtet, da unterschiedliche Aufnahmewinkel zu veränderten Ergebnissen führen können.

Auswertung

Bei allen Aufnahmen der Probanden wird jeweils an der identischen Stelle der Nagelwurzel an allen Fingern und Zehen die transkutane Sauerstoffsättigung in Prozent bestimmt und ein Mittelwert errechnet.



Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Abbildung 10: Infrarotthermographie (Kent Imaging) mit Darstellung der oberflächlichen Gewebeoxygenierung

2.3.6 Messung der FMD der Brachialarterie

Bei allen Probanden wurde eine FMD (Flow-mediated dilation)-Messung der Oberarmarterie durchgeführt. Dieses nicht-invasive duplexsonographische Verfahren ist eine etablierte Methode zur Quantifizierung der Endothelfunktion. Diese wird ermittelt als prozentuale Änderung des Brachialarterien-Diameters durch post-ischämisch bedingte Blutflusssteigerung, die auf einer Zunahme der Scherkraft und folgender NO-Freisetzung aus dem Endothel beruht [161]. In mehreren Studien konnte der prognostische Wert der FMD für das Eintreten von kardiovaskulären Ereignissen gezeigt werden [162-165]. In Metaanalysen zeigte sich pro 1 % Anstieg der FMD der Brachialarterie ein 8-13 % geringeres Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse [164].

Durchführung

Die Messungen fanden in den Räumlichkeiten der Angiologischen Ambulanz der Klinik für Kardiologie, Pneumologie und Angiologie der Universitätsklinik Düsseldorf statt, wobei auf eine möglichst ruhige und gleichbleibend temperierte Umgebung geachtet wurde. Um externe Einflüsse zu minimieren lagen die Probanden vor Beginn der Messungen mindestens für 10 Minuten ruhig auf einer Liege. Des Weiteren wurde darauf geachtet, dass die Patienten am Untersuchungstag noch kein Koffein oder Nikotin zu sich genommen hatten [166].

Für die Untersuchung lagen die Probanden mit dem Rücken auf einer Liege mit gestrecktem und leicht abduziertem Messarm. Daraufhin wurde den Patienten am Messarm eine Blutdruckmanschette ca. 4-5 cm distal der Ellenbeuge sowie ein 1-Kanal-EKG gekoppelt an das Ultraschallgerät angelegt. Zunächst wurde mittels hochauflösendem 8 MHz-Linearschallkopf (*GE Healthcare, Vivid I, München, Deutschland*) etwa 2 cm proximal der Ellenbeuge die Brachialarterie aufgesucht und diese im Längsschnitt eingestellt. Der Ruheblutfluss wurde im PW-Dopplermodus in der Gefäßmitte mit einer maximalen Winkelkorrektur von 60° gemessen, der Ruhediameter der A. brachialis wurde im B-Modus als eine Bildsequenz von 100-150 Einzelbildern über eine Dauer von drei Herzzyklen aufgenommen. Hierbei sollte möglichst langstreckig sowohl Gefäßvorderwand als auch Gefäßhinterwand deutlich abgrenzbar sein, damit im späteren Verlauf

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

saubere Auswertungen der Diameter möglich sind. Außerdem wurde darauf geachtet, dass die Oberarmarterie longitudinal in der Gefäßmitte getroffen wird, und es sich nicht um einen tangentialen Anschnitt handelt. Daraufhin folgte für einen Zeitraum von fünf Minuten die suprasystolische Insufflation der Blutdruckmanschette auf ca. 200 mmHg, um den arteriellen Fluss sicher zu unterbinden und somit eine Ischämie distal der Manschette zu erzeugen. Diese periphere Ischämie führt nach Wiedereröffnung der Arterie zur sogenannten reaktiven Hyperämie (s. Abbildung 11). Ausgelöst durch Erweiterung nachgeschalteter Widerstandsgefäße kommt es zu einer gesteigerten Flussgeschwindigkeit und einer damit einhergehenden vermehrten Schubspannung, die wiederum die endotheliale NO-Synthase aktiviert und das vasodilatierende NO freisetzt.

Nach Öffnung der Blutdruckmanschette erfolgten nach 0, 30, 60, 90, 120, 150 und 180 Sekunden erneute Messungen des Blutflusses im PW-Dopplermodus und der Bildsequenzen des Brachialarterien-Diameters im B-Modus an der identischen Stelle der A. brachialis wie zuvor. Dies ist von besonderer Bedeutung, da nur so ein verlässlicher Diametervergleich möglich ist. Zur Gewährleistung der gleichbleibenden Schallkopfposition wurde die Haut des Probanden mit Klebestreifen markiert. Während der Stauungszeit wurden keine Änderungen an Schallkopf oder Messgerät vorgenommen.

Auf diese Weise kann sonographisch der Zeitpunkt und das Ausmaß der maximalen postischämischen Dilatation der Brachialarterie ermittelt werden.

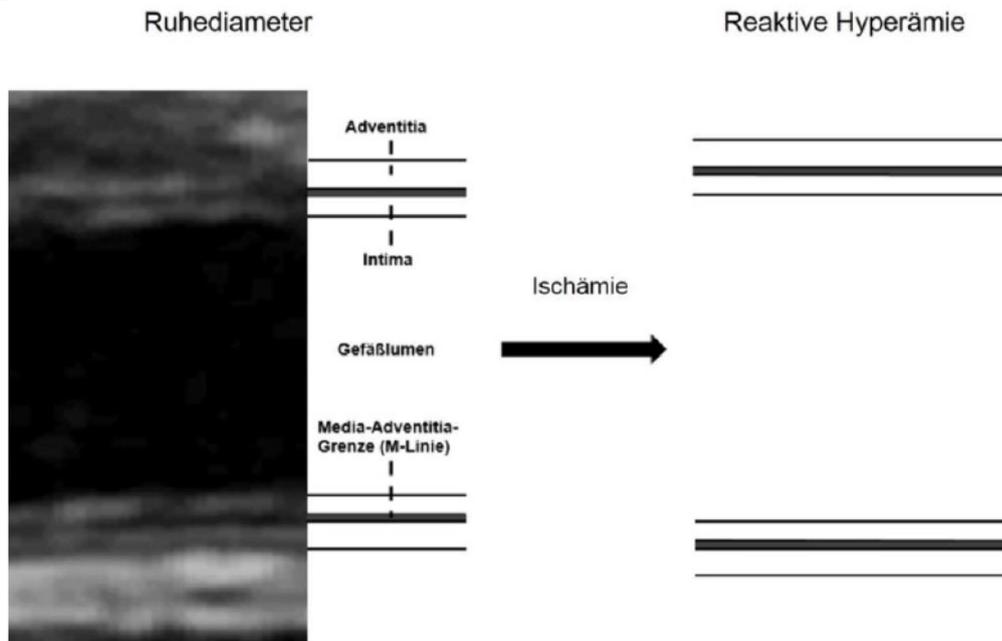


Abbildung 11: Flussvermittelte Vasodilatation (FMD) mit Zunahme des Gefäßdiameters („reaktive Hyperämie“) nach Induktion einer fünfminütigen Ischämie durch suprasystolische Inflation der Blutdruckmanschette

Im Rahmen der FMD-Auswertung erfolgte zusätzlich eine Bestimmung der relativen Diameteränderung (*fractional diameter change*, FDC). Dies beschreibt die lokale Diameteränderung zwischen Systole (Messung R-Zacke) und Diastole (Messung T-Welle) im Herzzyklus und ist ein Parameter, der ebenfalls Informationen über die lokale Gefäßsteifigkeit gibt.

Auswertung

Die Auswertung der Ultraschallbildsequenzen zur Messung des Brachial-Diameters erfolgte offline, nachdem das Bildmaterial mittels eines Datenträgers auf den Auswertecomputer transferiert wurde. Mit Hilfe einer Software (*Vascular Research Tools Brachial Analyzer, Medical Imaging Application, Iowa, USA*) können die Arterienparameter semi-automatisch ausgewertet werden. Hierfür werden die Bildsequenzen einzeln aufgerufen und zunächst manuell eine region of interest (ROI) ausgewählt (s. Abbildung 12). Dies entspricht demjenigen repräsentativen Gefäßabschnitt, auf den sich alle folgenden Einzelbilder der insgesamt ca. 100-150 Bilder langen Sequenz beziehen. Es sollte für die ROI ein Gefäßabschnitt mit eindeutiger Differenzierung der Gefäßwand ausgewählt werden, da sowohl schallkopfnah als auch schallkopffern an der Media-Adventitia-Grenze, der sogenannten M-Linie (s. Abbildung 11), die Messpunkte

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

durch den *Brachial Analyzer* farbig markiert werden. Anschließend folgen die Überprüfung und gegebenenfalls manuelle Anpassung der gesetzten Markierungen. Der Abstand dieser Messpunkte entspricht bei einem orthogonal getroffenen Gefäß dem Gefäßdiameter. Die parallele EKG-Aufzeichnung während der Untersuchung erlaubt nun die enddiastolische Messung dieses Diameters jeweils zum Zeitpunkt der R-Zacke bei allen Bildsequenzen.

Die FMD lässt sich schließlich als prozentuale Zunahme des Gefäßdurchmessers postischämisch im Vergleich zum Ruhewert berechnen. Die maximale Dilatation wird dabei meist bei ca. 60 Sekunden erreicht.

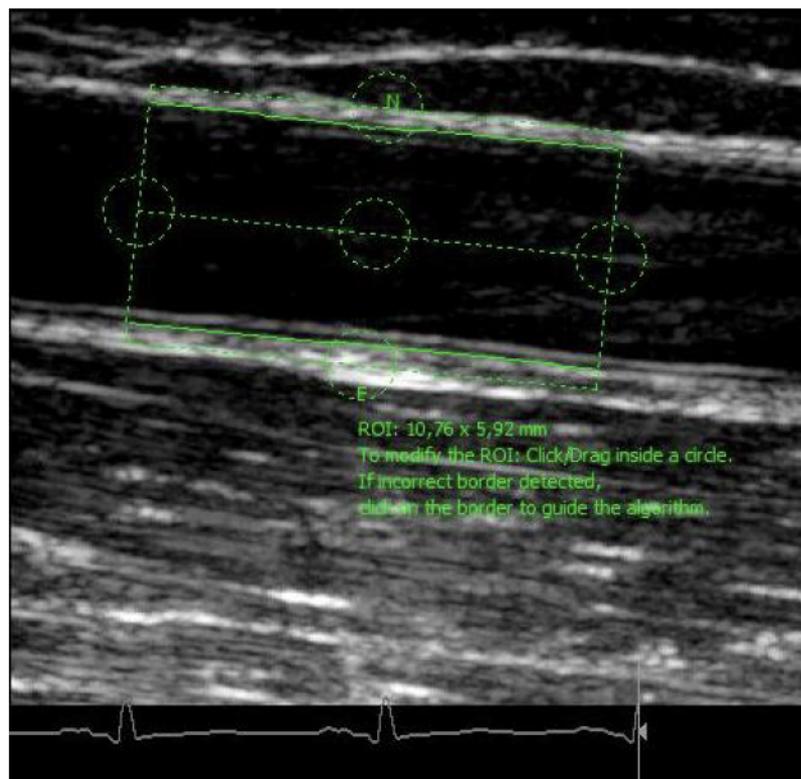


Abbildung 12: Auswertung mittels *Brachial Analyzer* Software über Definition einer *Region of Interest (ROI)* und R-Zacken getriggerte Ermittlung des Diameters der Brachialarterie an der sogenannten *M-Linie*

2.4 Laborparameter

Bei allen Patienten wurden vor Erstgabe des PCSK9-Inhibitors und bei der Kontrolluntersuchung nach etwa sechs Monaten eine venöse Blutprobe entnommen. Die Blutentnahme erfolgte im nüchternen Zustand. Im Zentrallabor des Universitätsklinikums Düsseldorf wurden folgende Parameter bestimmt: Kleines Blutbild, Creatininkinase (CK), Laktatdehydrogenase (LDH), GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase, γ -GT = gamma-Glutaryltransferase, Kreatinin, Lipide (Gesamt-Cholesterin,

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Lipoprotein (a)), C-reaktives Protein (CRP) und HbA1c.

2.5 Statistische Auswertung der Messergebnisse

Alle Ergebnisse werden als Mittelwerte \pm Standardabweichung angegeben. Die Häufigkeiten ordinalskalierteter Variablen wurden entweder absolut oder relativ in Prozent angegeben. Zur Prüfung der Normalverteilung der metrischer Parameter wurde ein Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Zum Vergleich der vaskulären Parameter von Baseline gegenüber unter 6-monatiger PCSK9-Inhibitor Therapie wurde ein gepaarter t-Test durchgeführt.

Die Korrelation zwischen Laborparametern, vaskulären und hämodynamischen Parametern wurde mittels Pearson-Korrelation ermittelt, dichotome Variablen wurden mittels punktbiserialer Korrelation ausgewertet. Zur Ermittlung eines potentiellen Einflusses klinischer oder laborchemischer Parameter auf die vaskulären Funktionen wurde eine multivariate Analyse mittels logistischer Regression durchgeführt. Fehlerbalken der Balkendiagramme entsprechen \pm einer Standardabweichung. P-Werte von $<0,05$ wurden als statistisch signifikant angesehen.

Erhobene Patientendaten wurde mittels Excel 2016 dokumentiert. Die statistischen Tests sowie graphische Abbildungen wurden mittels SPSS 27 (IBM) und Prism 6 (GraphPad) durchgeführt.

3 Ergebnisse

3.1 Charakteristika der Studienpopulation

Das mittlere Alter der untersuchten Patienten betrug 61 ± 13 Jahre, der jüngste Proband war bei Einschluss in die Studie 29 Jahre alt, der älteste Patient 83 Jahre alt. Der mittlere Beobachtungszeitraum betrug $7,5 \pm 2,4$ Monate. Von den insgesamt 33 eingeschlossenen Patienten ist ein Patient mit unbekannter Todesursache nach zwei Monaten verstorben. 17 der Patienten waren weiblich, 15 Patienten männlich.

Die häufigsten Begleiterkrankungen im Patientenkollektiv waren eine koronare Herzerkrankung (90,6 %) sowie eine arterielle Hypertonie (81,3 %).

Bei allen Probanden lag eine Form der Hypercholesterinämie vor, bei fünf Probanden (15,6 %) lag eine familiäre Hypercholesterinämie vor. Die Indikation zur Einleitung einer PCSK9-Inhibitor Therapie wurde beim Großteil des Studienkollektivs (71,9 %) aufgrund von Statin-assoziierten Muskelsymptomen (SAMS) gestellt, die eine Durchführung der Standardtherapie mit Statinen zum Erreichen der LDL-Zielwerte nicht zuließ. Bei dem übrigen Studienkollektiv war unter der Standardtherapie mit Statinen (mit oder ohne Kombination mit Ezetimib) eine für das Risikoprofil des Patienten nicht ausreichende LDL-Reduktion zu verzeichnen, sodass eine PCSK9-Inhibitor Therapie initiiert wurde. Detailliertere Informationen können der nachstehenden Tabelle (Tabelle 1) entnommen werden.

**Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1
to the text that you want to appear here.**

Tabelle 1: Probandencharakteristika

	Baseline
Patientencharakteristika	
weibliches Geschlecht, n (%)	17 (53,1)
Alter, Jahre	61 ± 13
Followup-Zeit, Tage	225 ± 72
Größe, cm	170,5 ± 11,7
Gewicht, kg	80,1 ± 15
Body Mass Index, kg/m ²	27,5 ± 4,4
Hypercholesterinämie, n (%)	32 (100)
arterielle Hypertonie, n (%)	26 (81,3)
KHK, n (%)	29 (90,6)
pAVK, n (%)	10 (31,3)
cAVK, n (%)	9 (28,1)
Diabetes mellitus, n (%)	5 (15,6)
Chronische Niereninsuffizienz, n (%)	7 (21,9)
SAMS, n (%)	23 (71,9)
Familiäre Hypercholesterinämie, n (%)	5 (15,6)
Aktive Raucher, n (%)	6 (18,8)
Ex-Raucher, n (%)	12 (37,5)
Nichtraucher, n (%)	14 (43,8)
Systolischer Blutdruck, mmHg	138 ± 18
Diastolischer Blutdruck, mmHg	81 ± 11
Herzfrequenz, Schläge/min	65 ± 10

KHK = Koronare Herzkrankheit, pAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit, cAVK = cerebrale arterielle Verschlusskrankheit, SAMS = Statin-assoziierte Muskelsymptome

Alle Probanden haben im zeitlichen Zusammenhang mit der Studie die Erstgabe eines PCSK9-Inhibitors erhalten. Dieser war bei allen eingeschlossenen Probanden entweder Evolocumab (Repatha®) 140mg s.c. alle zwei Wochen oder Alirocumab (Praluent®) 150mg s.c. alle zwei Wochen. Der Großteil der Studienpopulation erhielt Evolocumab, da aufgrund von Patentstreitigkeiten das Präparat Alirocumab in Deutschland zwischenzeitlich vom Markt genommen wurde.

Ein Teil der Studienpopulation hat additiv weitere lipidsenkende Medikation erhalten. Etwa ein Drittel der Probanden (31,25 %) erhielt zusätzlich Ezetimib 10 mg einmal täglich und ein weiteres Drittel (31,25 %) hat eine Triple-Therapie aus einem PCSK9-Inhibitor, Ezetimib und einem Statinpräparat eingenommen. Nur einige wenige Patienten erhielten einen PCSK9-Inhibitor in Kombination mit einem low-dose (3,1 %) oder high-dose (6,3 %) Statin.

Als low-dose Statintherapie wurden Dosen von 10-20 mg Atorvastatin, 20-40 mg Simvastatin, 5-10 mg Rosuvastatin oder 20-40 mg Fluvastatin definiert, als high-dose Statintherapie Dosen von 40-80 mg Atorvastatin, 80 mg Simvastatin, 20-40 mg Rosuvastatin oder 80 mg Fluvastatin.

Die Verteilung der unterschiedlichen Lipidmedikation im Studienkollektiv ist in der folgenden Abbildung (s. Abbildung 13) dargestellt. Zur Abhebung potentieller Effekte durch Statine wurden die folgenden Ergebnisse der vaskulären Parameter partiell unterteilt in „- Statintherapie“ (n = 19) und „+ Statintherapie“ (n = 13).

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

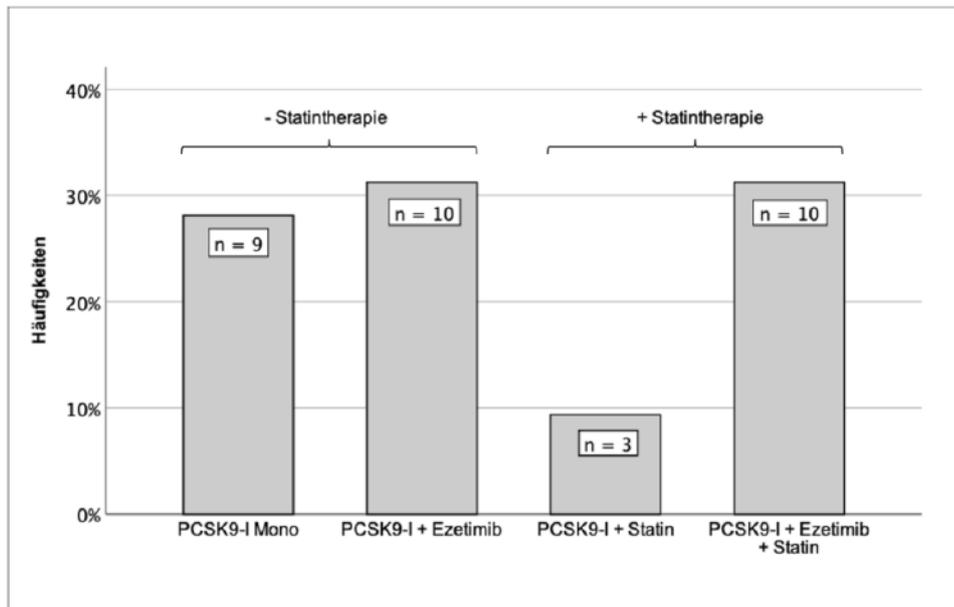


Abbildung 13: Lipidmedikation in der Studienpopulation; *PCSK9-I = Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 – Inhibitor*

Eine Komedikation mit einem oder mehreren Präparate zur Thrombozytenaggregationshemmung wurde von einem großen Teil der Probanden (78,13 %) eingenommen, eine orale Antikoagulationstherapie bestand nur bei wenigen Probanden (18,7 %).

Weitere Informationen zur Komedikation können aus Tabelle 2 entnommen werden.

Tabelle 2: Weitere Medikation in der Studienpopulation

	Baseline
Medikation	
PCSK9-I	
- Evolocumab (Repatha®), n (%)	29 (90,6)
- Alirocumab (Praluent®), n (%)	3 (9,4)
PCSK9-I Mono, n (%)	9 (28,1)
PCSK9-I + low-dose Statin, n (%)	1 (3,1)
PCSK9-I + high-dose Statin, n (%)	2 (6,3)
PCSK9-I + Ezetimib, n (%)	10 (31,3)
PCSK9-I + Statin + Ezetimib, n (%)	10 (31,3)
ASS, n (%)	22 (68,8)
Andere TZAH, n (%)	10 (31,3)
Cumarine, n (%)	1 (3,1)

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

NOAK, n (%)	5 (15,6)
Beta-Blocker, n (%)	22 (68,8)
ACE-Inhibitor/AT1-Antagonist, n (%)	22 (68,8)
CAA, n (%)	8 (25)
Diuretika, n (%)	9 (28,1)

PCSK9-I = Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Typ 9 – Inhibitor, ASS = Acetylsalicylsäure, TZAH = Thrombozytenaggregations-Hemmer, NOAK = Neue orale Antikoagulantien, ACE-Hemmer = Angiotensin-converting enzyme Inhibitor, AT1-Antagonist = Angiotensin 1-Antagonist, CAA = Calciumkanal-Antagonisten

Vor Einleitung der PCSK9-Inhibitor Therapie betrug die durchschnittliche Gesamt-Cholesterin Konzentration der Probanden 212 ± 65 mg/dl (min. 102 mg/dl, max. 358 mg/dl), die durchschnittliche LDL-Cholesterin Konzentration betrug 141 ± 54 mg/dl (min. 56 mg/dl, max. 258 mg/dl).

Die Lipoprotein (a) Konzentrationen (Normwert <75 nmol/l) zeigte im Studienkollektiv ein sehr heterogenes Bild, es ließ sich keine Normalverteilung feststellen. Über den Normwert erhöhte Werte ließen sich zu Beginn bei zehn Probanden (31,25 %) feststellen, darunter waren acht Probanden mit Werten >200 nmol/L. 15 Probanden (46,88 %) zeigten keine Lipoprotein (a) Erhöhung,

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

von den übrigen sieben Probanden (21,88 %) lagen keine Lipoprotein (a) Messwerte vor.

Weitere Informationen zu Laborparametern können Tabelle 3 entnommen werden.

Tabelle 3: Laborparameter

	Baseline
Labor	
Natrium (mmol/l)	141 ± 1,8
Kalium (mmol/l)	4,4 ± 0,4
Gesamt-Cholesterin (mg/dl)	212 ± 65
HDL-Cholesterin (mg/dl)	55 ± 17
LDL-Cholesterin (mg/dl)	141 ± 54

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Lipoprotein a (nmol/l)	104 ± 111
Triglyzeride (mg/dl)	168 ± 69
HbA1c (%)	5,7 ± 0,5
GFR (ml/min)	80 ± 19
Kreatinin (mg/dl)	0,88 ± 0,17
Harnstoff (mg/dl)	30,8 ± 10,8
GOT (IU/l)	25,5 ± 7,5
GPT (IU/l)	23,3 ± 9,38
γ-GT (U/l)	30,5 ± 19
Alkalische Phosphatase (U/l)	74,9 ± 19
LDH (U/l)	201 ± 22,6
CRP (mg/dl)	0,3 ± 0,4
Leukozyten (1000/μl)	7,2 ± 2,1
Thrombozyten (1000/μl)	263 ± 71
Erythrozyten (Mio/μl)	4,46 ± 0,5
Hämatokrit (%)	41,7 ± 3,4
Hämoglobin (g/dl)	13,8 ± 1,3
Kreatinkinase (U/l)	187 ± 198

HDL = High-Density Lipoprotein, LDL = Low-Density Lipoprotein, GFR = glomeruläre Filtrationsrate, GOT = Glutamat-Oxalacetat-Transaminase, GPT = Glutamat-Pyruvat-Transaminase, γ-GT = gamma-Glutaryltransferase, LDH = Laktatdehydrogenase, CRP = C-reaktives Protein

3.2 Lipidsenkende Effekte

Laborchemisch ließ sich bei allen Patienten nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie eine signifikante Abnahme des Gesamt- sowie LDL-Cholesterins feststellen.

Die Werte des Gesamt-Cholesterins betragen vor Erstgabe durchschnittlich $212,25 \pm 65$ mg/dl und nach sechs Monaten unter Therapie $130,94 \pm 40,87$ mg/dl ($- 81,31 \pm 57,5$ mg/dl, $p < 0,001$). Das LDL-Cholesterin sank in der

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Studienpopulation von $141,1 \pm 54,2$ mg/dl auf $59,6 \pm 29,92$ mg/dl ($- 81,5 \pm 48,1$ mg/dl, $p < 0,001$), bei sechs Probanden sank das LDL-Cholesterin auf Werte ≤ 30 mg/dl, bei drei Probanden sogar auf ≤ 20 mg/dl. Somit betrug die Abnahme des Gesamt-Cholesterins $-35,6$ % und die Abnahme des LDL-Cholesterins -56 % nach sechs Monaten im Vergleich zum Ausgangswert. In Abbildung 14 sind die Veränderungen graphisch dargestellt.

Nach Unterteilung der Studienpopulation in Probanden ohne familiäre Hypercholesterinämie ($n = 27$) und Probanden mit familiärer Hypercholesterinämie ($n = 5$) zeigte sich eine tendenziell deutlichere LDL-Reduktion in der Gruppe der FH-Patienten bei höheren Baseline LDL-Cholesterin Werten. Bei Patienten ohne FH zeigte sich eine durchschnittliche Abnahme von $-74,8 \pm 42,5$ mg/dl ($- 53,3$ %), während Patienten mit FH eine durchschnittliche Senkung von $-129 \pm 64,8$ mg/dl ($- 74,8$ %) vorwiesen (vgl. Abbildung 16).

Es zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen dem Alter der Probanden und dem Ausmaß der LDL-Reduktion, wobei mit zunehmenden Alter der Patienten der LDL-senkende Effekt der PCSK9-Inhibitoren nachließ ($r = 0,442$, $p = 0,011$). Eine ähnliche Korrelation ließ sich ebenso beim Ausmaß der Gesamt-Cholesterin Reduktion und dem Patientenalter beobachten ($r = 0,453$, $p = 0,009$).

Bei Patienten mit einer vorbestehenden Statin-Medikation („+ Statintherapie“) konnte unter neu eingeleiteter PCSK9-Inhibitor Therapie im Vergleich zu Patienten ohne Statin-Medikation („- Statintherapie“) eine prozentual stärkere cholesterinsenkende Wirkung beobachtet werden bei bereits geringeren absoluten Ausgangswerten (LDL-Cholesterin $157,2 \pm 26,8$ mg/dl vs. $117,5 \pm 49,2$ mg/dl). So betrug die LDL-Cholesterin Abnahme ohne Statin-Medikation $- 54,6$ %, während Probanden mit Statin-Medikation eine LDL-Cholesterin Abnahme von $-64,1$ % verzeichneten. Dieser beobachtete Effekt lag unterhalb des Signifikanzniveaus ($p = 0,227$).

Ebenso konnte eine signifikante Abnahme der Triglyzerid-Spiegel von durchschnittlich $167,5 \pm 69,2$ mg/dl auf $123,2 \pm 65$ mg/dl ($p = 0,005$) verzeichnet werden, was einer Reduktion um $19,8$ % entspricht. Die Zunahme des HDL-Cholesterins von $55,19 \pm 17,05$ mg/dl auf $56,94 \pm 15,74$ mg/dl befand sich unterhalb des Signifikanzniveaus. Abbildung 15 veranschaulicht den Verlauf der genannten Laborparameter.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

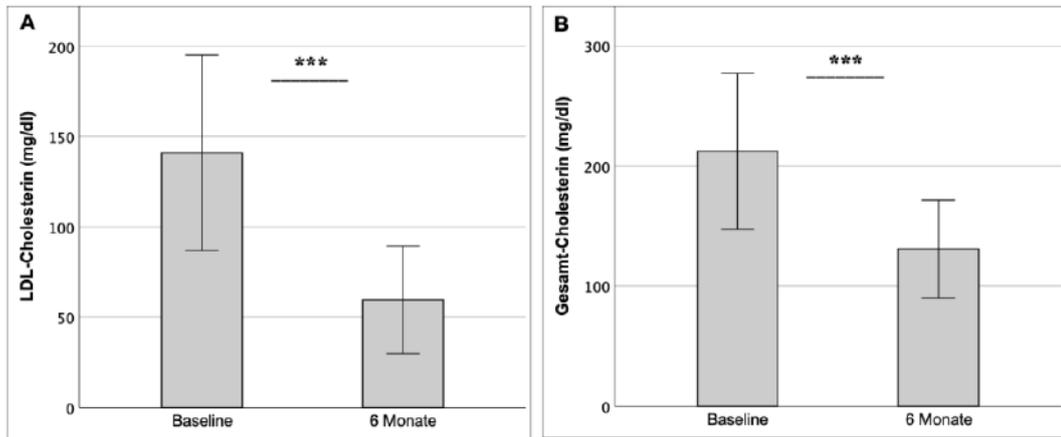


Abbildung 14: Entwicklung der durchschnittlichen LDL- (A) und Gesamt-Cholesterin (B) Spiegel vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; *LDL-Cholesterin = Low-Density Lipoprotein Cholesterin*; *** = $p < 0,001$

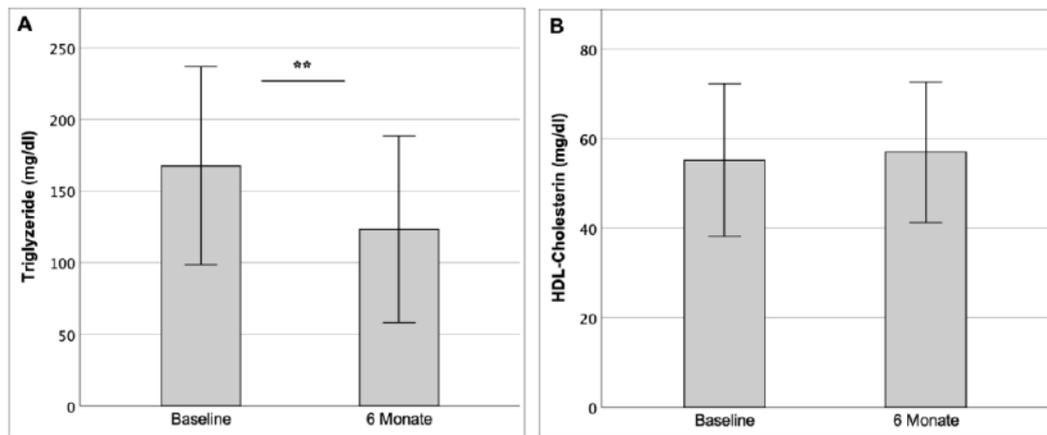


Abbildung 15: Entwicklung der durchschnittlichen Triglyzerid- (A) und HDL-Cholesterin- (B) Spiegel vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; *HDL-Cholesterin = High-Density Lipoprotein Cholesterin*; ** = $p < 0,01$

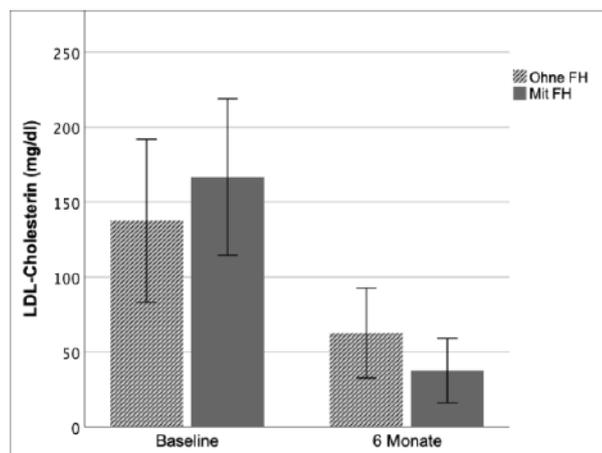


Abbildung 16: Entwicklung der LDL-Cholesterin Spiegel vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; *FH = Familiäre Hypercholesterinämie, LDL-Cholesterin = Low-Density Lipoprotein Cholesterin*

3.3 Makrozirkulation

3.3.1 Arterielle Gefäßsteifigkeit

Zur Quantifizierung der arteriellen Gefäßsteifigkeit wurden verschiedene Parameter erhoben, darunter die Pulswellengeschwindigkeit (PWV), die Pulswellenanalyse mit Messung des Augmentationsindex (AIx) sowie die fraktionelle Diameteränderung (FDC).

Die Pulswellengeschwindigkeit als Goldstandard zur Erfassung der arteriellen Gefäßsteifigkeit zeigte eine Abnahme von $8,69 \pm 2,21$ m/s auf $8,27 \pm 1,66$ m/s ($p = 0,14$) (vgl. Abbildung 17). Nach einer Aufteilung nach Geschlecht zeigte sich bei männlichen Probanden eine signifikante Abnahme der PWV ($p = 0,025$), während die PWV-Veränderungen bei den weiblichen Probanden unterhalb des Signifikanzniveaus blieben ($p = 0,755$).

Die Ausgangs-PWV korrelierte mit dem Alter der Probanden. Ebenso korrelierten die Veränderungen der PWV nach sechs Monaten signifikant invers mit der Ausgangs-PWV ($r = -0,64$, $p < 0,001$). Eine graphische Darstellung beider Korrelationen kann Abbildung 18 entnommen werden.

Es zeigte sich keine Korrelation der PWV-Veränderungen mit dem Alter, BMI oder systolischen Blutdruck der Probanden. Geschlecht, Raucherstatus, das Vorliegen eines Diabetes mellitus, einer pAVK oder arteriellen Hypertonie sowie die weitere Lipid-Komedikation stellten keine unabhängigen Prädiktoren für Veränderungen der PWV dar. Darüber hinaus konnte keine Korrelation zwischen Veränderungen der PWV und dem Ausmaß der Gesamt- oder LDL-Reduktion beobachtet werden.

Nach Unterteilung abhängig von der Komedikation zeigte sich in der „+ Statintherapie“ Gruppe unter neu eingleiteter PCSK9-Inhibitor Therapie im Vergleich zur „- Statintherapie“ Gruppe sowohl absolut als auch relativ eine stärkere Senkung der PWV ($-0,7 \pm 0,9$ m/s, $-8,2$ % vs. $-0,4 \pm 2,3$ m/s, $-4,1$ %) bei vergleichbaren Ausgangswerten. Dieser Effekt lag unterhalb des Signifikanzniveaus ($p = 0,532$). In der „+ Statintherapie“ Gruppe zeigte sich die PWV nach sechs Monaten im Vergleich zum Ausgangswert signifikant reduziert ($p = 0,017$), in der „- Statintherapie“ Gruppe war dieser Effekt wie in der Gesamt-Studienpopulation ebenfalls nicht signifikant ($p = 0,562$).

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

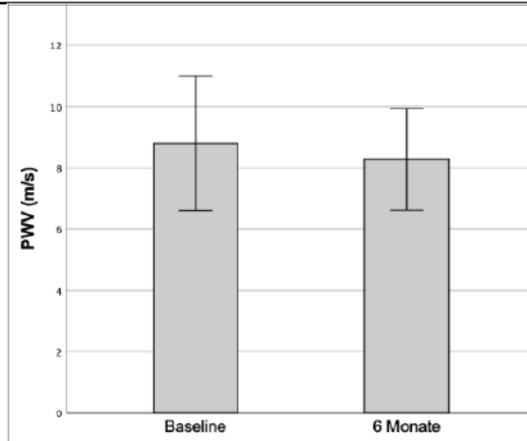


Abbildung 17: Pulswellengeschwindigkeit (PWV) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie

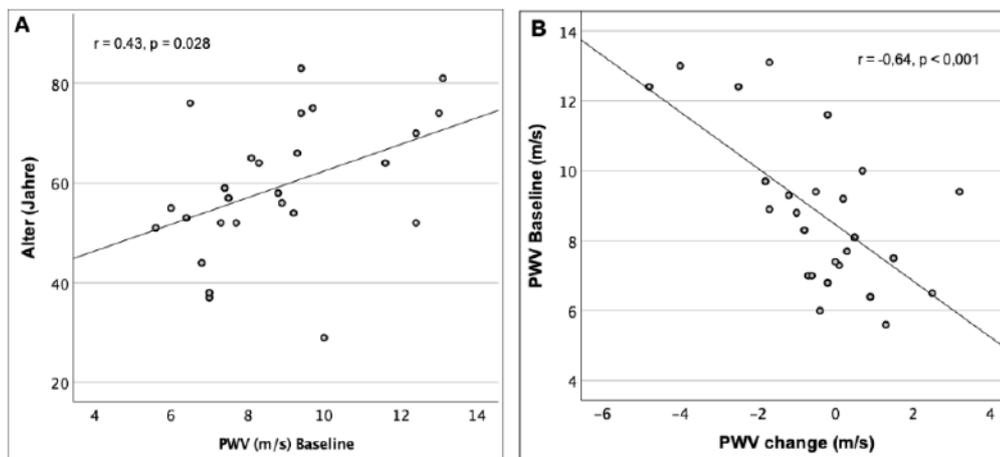


Abbildung 18: Korrelation zwischen Pulswellengeschwindigkeit (PWV) zu Beginn der Studie und Alter der Probanden (A) sowie Korrelation zwischen Baseline-PWV und PWV-Veränderungen (B)

Der Augmentationsindex, normiert auf eine Herzfrequenz von 75 Schlägen/min, zeigte eine signifikante Abnahme von durchschnittlich $27,11 \pm 10,38$ % auf $23 \pm 9,68$ %, $p < 0,001$) (vgl. Abbildung 19). Dies entspricht einer durchschnittlichen relativen Reduktion des Augmentationsindexes um 15,98 % und einer absoluten Reduktion von 4,11% nach sechs Monaten.

In der „+ Statintherapie“ Gruppe zeigte sich eine stärkere absolute sowie relative Senkung des Aix als in der „- Statintherapie“ Gruppe, dieser Effekt war jedoch unterhalb des Signifikanzniveaus ($p = 0,075$). Bei vergleichbaren Ausgangswerten ($28,2 \pm 11,9$ % vs. $26,1 \pm 9,2$ %) konnte bei Probanden mit Statintherapie eine absolute Reduktion des Aix von $-6,4 \pm 6,7$ % ($-22,6$ %), bei Probanden ohne Statintherapie von $-2,3 \pm 3,2$ % ($-8,9$ %) beobachtet werden.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

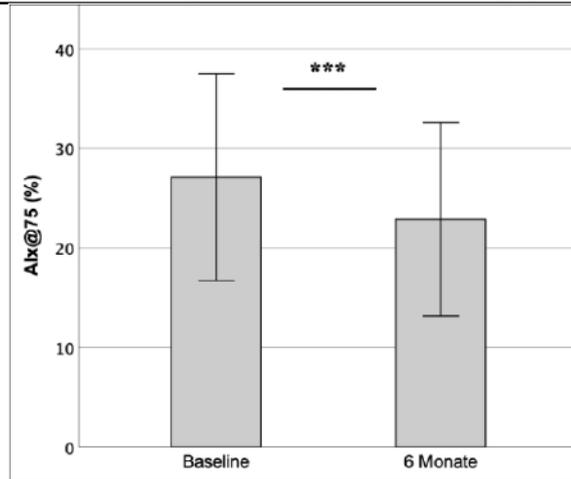


Abbildung 19: Augmentationsindex (Alx@75) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie, *** = $p < 0,001$

Es zeigte sich eine signifikant positive Korrelation zwischen Alter der Probanden und dem Augmentationsindex zu Beginn der Studie ($r = 0,39$, $p = 0,04$). Zudem konnte eine Korrelation zwischen Alx Veränderungen und dem Ausmaß der LDL-Cholesterin Reduktion beobachtet werden ($r = 0,384$, $p = 0,043$).

Nach Durchführung einer multiplen linearen Regressionsanalyse und Anpassung an mögliche Confounder (Alter, BMI, systolischer Blutdruck, das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie, eines Diabetes mellitus oder einer pAVK) stellte sich das LDL-Cholesterin nicht mehr als Prädiktor der Alx-Veränderungen dar.

Ebenso zeigt die fraktionelle Diameteränderung (FDC) unter sechs Monaten PCSK9-Inhibitor Therapie eine Verbesserung von $3,5 \pm 0,89$ % auf $3,83 \pm 0,92$ % ($p < 0,001$). Das Alter der Probanden korrelierte hierbei negativ mit dem Ausmaß der FDC Veränderungen ($r = -0,531$, $p = 0,003$) (vgl. jeweils Abbildung 20). Eine Korrelation zu Geschlecht, systolischem Blutdruck, Gesamt- oder LDL-Cholesterin-Reduktion sowie Lipid-Komedikation der Patienten konnte nicht beobachtet werden.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

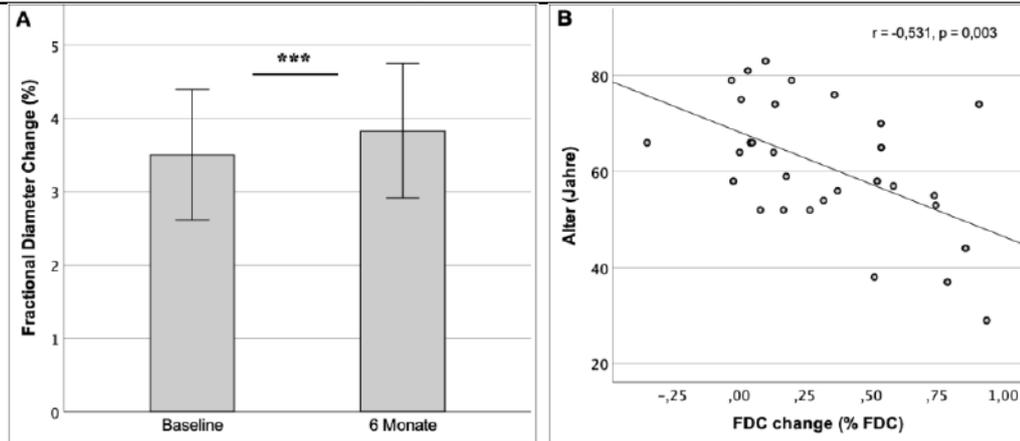


Abbildung 20: Fractional Diameter Change (FDC) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie (A) und Korrelation zwischen Alter der Probanden und Ausmaß der absoluten FDC-Veränderungen in Prozent unter sechsmonatiger PCSK9-Inhibitor Therapie (B); *** = $p < 0,001$

Die Subgruppe der Patienten mit diagnostizierter FH wies bereits zu Beginn der PCSK9-Inhibitor Therapie in den apparativen Untersuchungen eine geringere arterielle Gefäßsteifigkeit auf und zeigte zudem in der Tendenz eine stärkere Abnahme der Steifigkeitsparameter unter Therapie.

Im Vergleich beider Gruppen zeigte die PWV bei FH-Patienten geringere Ausgangswerte ($7,7 \pm 1,6$ m/s vs. $9 \pm 2,3$ m/s). Die relative Verringerung der PWV war zudem in der FH-Gruppe stärker ausgeprägt ($-5,2 \pm 8$ % vs. $-3,5 \pm 9,2$ %). FH-Patienten wiesen ebenso einen geringeren Ausgangs-Alx auf ($22,5 \pm 16,7$ % vs. $27,9 \pm 9,3$ %) sowie eine stärkere Alx-Abnahme ($-7,5 \pm 4,8$ % vs. $-2,5 \pm 3,2$ %) als Patienten ohne FH. Die FDC war sowohl bei Patienten mit FH als auch ohne FH zu Beginn ähnlich ($3,4 \pm 0,6$ % vs. $3,5 \pm 0,9$), jedoch zeigten FH-Patienten eine tendenziell stärkere Zunahme der FDC unter PCSK9-Inhibitor Therapie ($1,2 \pm 0,7$ vs. $0,27 \pm 0,3$). Detaillierte Informationen können Abbildung 21 entnommen werden.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

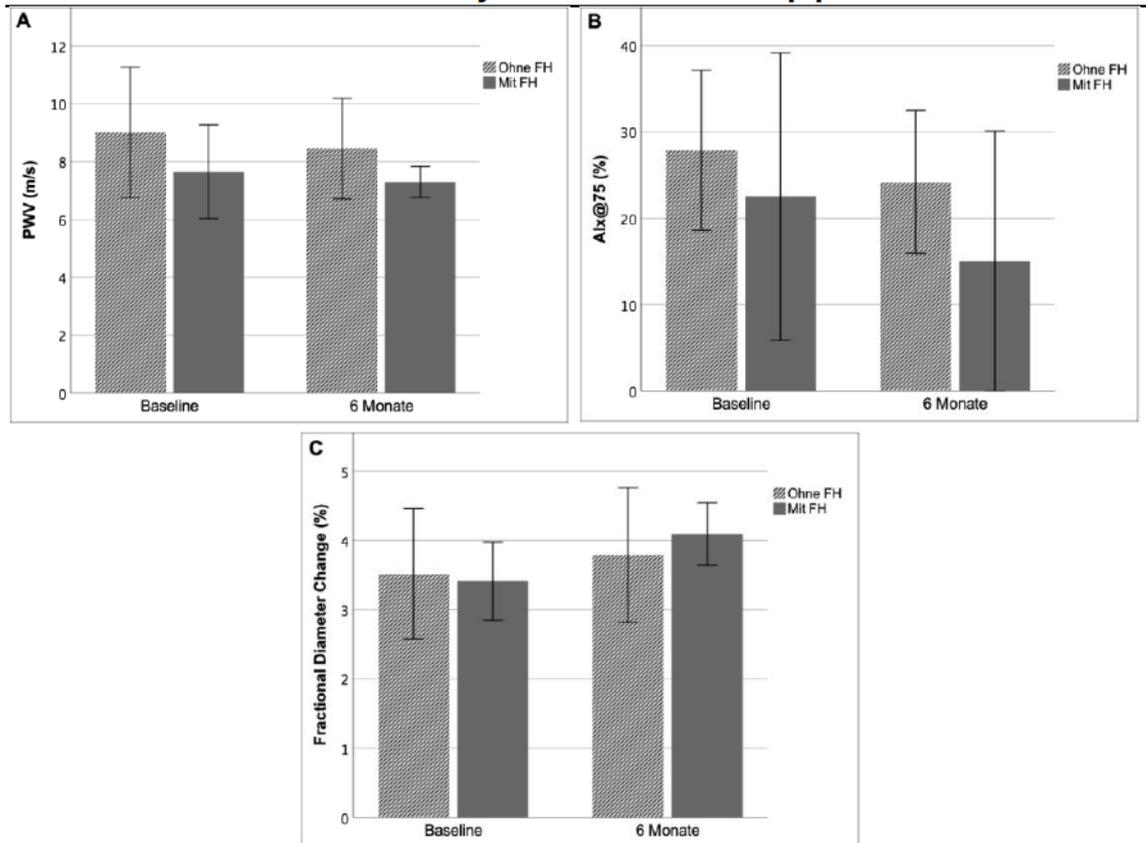


Abbildung 21: Veränderungen verschiedener Parameter der Gefäßsteifigkeit (A = PWV, B = Alx, C = FDC) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie bei Patienten mit oder ohne FH; PWV = Pulswellengeschwindigkeit, Alx@75 = Augmentationsindex bei einer Herzfrequenz von 75/min, FDC = Fractional Diameter Change, FH = familiäre Hypercholesterinämie

3.3.2 Arterieller Einstrom in die Beine

Bei den Probanden zeigte sich im Rahmen der venösen Verschlussplethysmographie nach Strain-Gauge (SG-VVP) eine diskrete Zunahme des arteriellen Einstroms in die Beine von $4,27 \pm 2,79$ %/min auf $4,53 \pm 3,41$ %/min nach sechs Monaten ($p = 0,632$).

In der Gruppe der FH-Patienten war ein höherer arterieller Einstrom in die Beine vor Therapiebeginn zu beobachten (7 ± 4 %/min vs. $3,8 \pm 2,3$ %/min), während sich die Veränderungen unter Therapie nur geringgradig von Patienten ohne FH unterschieden ($0,9 \pm 3,5$ %/min vs. $0,2 \pm 2,9$ %/min).

Eine graphische Darstellung der Gesamt-Veränderungen des arteriellen Einstroms sowie nach Unterteilung in Vorliegen einer FH können Abbildung 22 und 23 entnommen werden.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

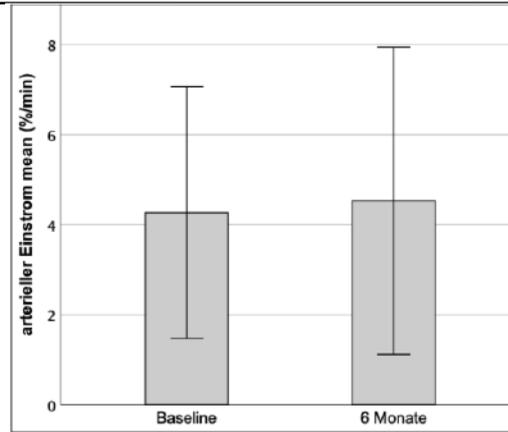


Abbildung 22: Mittlerer arterieller Einstrom in die Beine vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; $p = 0,632$

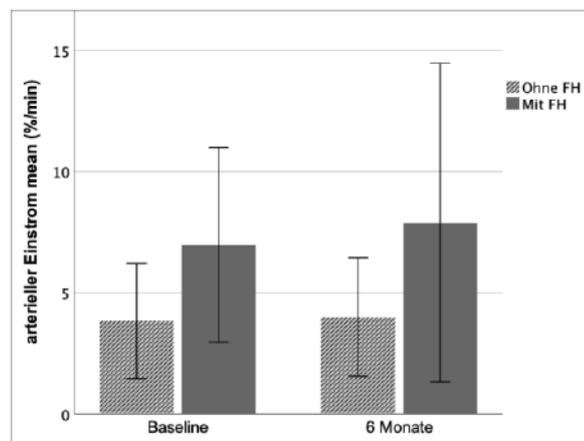


Abbildung 23: Mittlerer arterieller Einstrom in die Beine bei Patienten mit und ohne FH vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; *FH* = familiäre Hypercholesterinämie

3.3.3 Zentrale hämodynamische Parameter

Der periphere bzw. brachiale systolische Blutdruck betrug vor Erstgabe im Durchschnitt $138,3 \pm 18,1$ mmHg und nach sechs Monaten $139,9 \pm 18,7$ mmHg ($p = 0,83$), die diastolischen Werte lagen zu Beginn bei $81,3 \pm 10,9$ mmHg und nach sechs Monaten bei $82,4 \pm 10,9$ mmHg ($p = 0,665$).

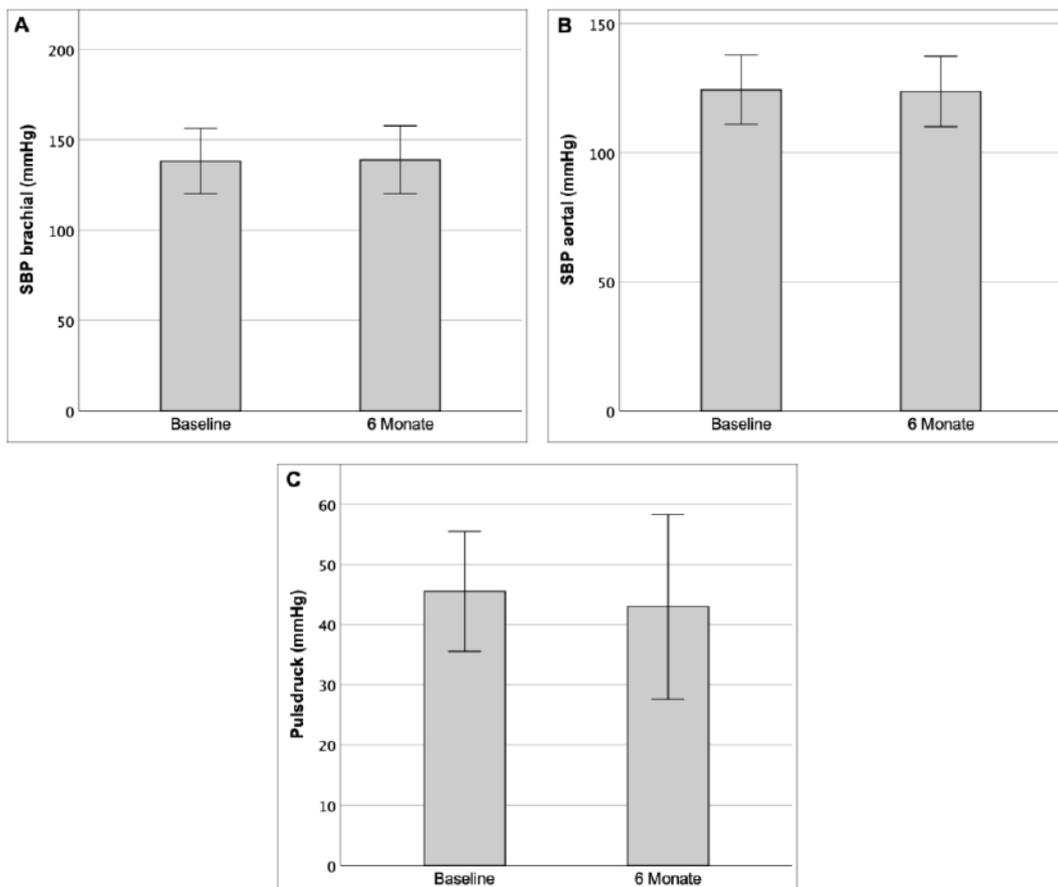
Der zentrale bzw. aortale Blutdruck, welcher mittels Pulswellenanalyse ermittelt wurde, zeigte zu Beginn systolische Werte von $124,4 \pm 13,5$ mmHg und nach sechs Monaten Werte von $123,8 \pm 13,6$ mmHg ($p = 0,799$). Der diastolische zentrale bzw. aortale Blutdruck betrug zu Beginn im Durchschnitt $79,4 \pm 8,3$ mmHg und am Ende des Beobachtungszeitraumes $81 \pm 9,7$ mmHg ($p = 0,442$). Eine graphische Darstellung der Veränderungen des zentralen sowie peripheren Blutdruckes kann Abbildung 24 entnommen werden. Es zeigte sich keine

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Korrelation zwischen dem brachialen oder aortalen systolischen Blutdruck und dem Ausmaß der Gesamtcholesterin- oder LDL-Cholesterin-Reduktion.

Der Pulsdruck zeigte eine diskrete Abnahme von $45,52 \pm 9,97$ mmHg auf $42,96 \pm 15,35$ mmHg nach sechs Monaten, die jedoch unterhalb des Signifikanzniveaus lag ($p = 0,194$). Es zeigte sich ebenfalls keine Korrelation mit dem Ausmaß der Gesamtcholesterin- oder LDL-Cholesterin-Reduktion. Ebenso waren Alter, BMI, das Vorliegen eines Diabetes mellitus oder einer pAVK sowie die Lipid-Komedikation keine prädiktiven Faktoren für Veränderungen der zentralen Hämodynamik.

Nach Unterteilung des Studienkollektivs in Patienten mit FH und ohne FH konnten keine relevanten Unterschiede bezüglich Veränderungen des brachialen ($-0,3 \pm 17,9$ mmHg vs. $0,8 \pm 17,4$ mmHg) oder aortalen Blutdruckes ($0,8 \pm 8,7$ mmHg vs. $-0,2 \pm 11$ mmHg) beobachtet werden. Ebenso waren die Veränderungen des Pulsdruckes unter sechsmonatiger PCSK9-Inhibitor Therapie in beiden Gruppen vergleichbar ($0,8 \pm 9$ mmHg vs. $-4,4 \pm 11,7$ mmHg).



Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Abbildung 24: Entwicklung des brachialen (A) und aortalen (B) systolischen Blutdruckes sowie des Pulsdruckes (C) vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; *SBP* = systolischer Blutdruck

3.4 Mikrozirkulation

Unter PCSK9-Inhibitor Therapie zeigte sich längerfristig eine signifikante Verbesserung der transkutan gemessenen Gewebeoxygenierung. Während vor der Therapie die durchschnittliche Oxygenierung in Händen und Füßen $66,89 \pm 12,35$ % betrug, zeigten sich nach sechs Monaten durchschnittliche StO_2 -Werte von $70,7 \pm 11,14$ % ($p = 0,012$) (vgl. Abbildung 25). Dies entspricht einer durchschnittlichen relativen Zunahme von 6,95 %.

Im Vergleich der „+ Statintherapie“ mit der „- Statintherapie“ Gruppe war kein relevanter Unterschied bezüglich der absoluten oder relativen StO_2 -Veränderungen nach sechs Monaten zu verzeichnen ($+3,6 \pm 5,4$ %, $+5,6$ % vs. $+4,1 \pm 2,2$ %, $+5,8$ %).

Bei fünf Probanden konnte bereits bei der Erstuntersuchung eine eingeschränkte Mikrozirkulation ($\text{StO}_2 \leq 60$ %) beobachtet werden, nach sechs Monaten waren es noch drei Probanden. Darunter befand sich eine Probandin mit langjährigem Diabetes mellitus sowie Nikotinkonsum in der Vorgeschichte, die konstante StO_2 -Werte unter 30 % aufwies. Die Probandin präsentierte sich hierunter klinisch asymptomatisch.

Die durchschnittliche Baseline StO_2 der Extremitäten korrelierte invers mit den Veränderungen der StO_2 unter sechsmonatiger PCSK9-Inhibitor Therapie ($r = -0,533$, $p = 0,006$). Probanden mit geringeren Ausgangs- StO_2 zeigten somit eine stärkere Zunahme der Gewebeoxygenierung als Probanden mit bereits zu Beginn höheren StO_2 -Werten.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

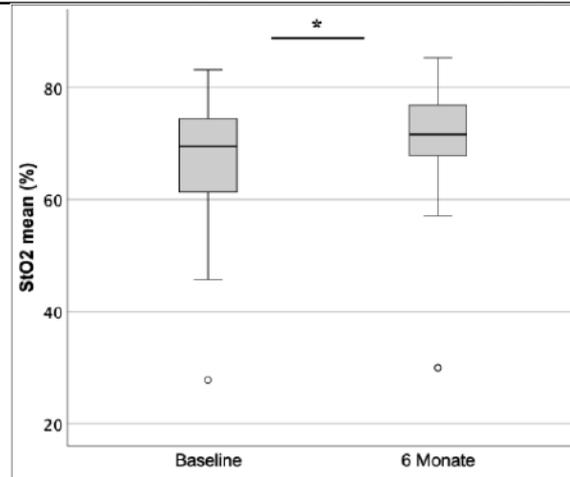


Abbildung 25: Durchschnittliche transkutane Gewebeoxygenierung (StO₂) der Hände und Füße vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; * $p < 0,05$

Bei aktiven Rauchern war bereits zu Beginn der Studie eine geringere transkutane Sauerstoffsättigung messbar als bei Ex-Rauchern oder Nichtrauchern (51,8 % vs. 70,7 % vs. 71,6 %). Aktiver Nikotinkonsum stellte sich als Prädiktor für eine niedrigere Baseline StO₂ vor Therapiebeginn mit einem PCSK9-Inhibitor dar (β -Koeffizient -0,625, $p < 0,001$), nicht jedoch das Vorliegen weiterer kardiovaskulärer Risikofaktoren wie hohes Alter, arterielle Hypertonie, Diabetes mellitus oder pAVK. Mit einem Effektstärkemaß R^2 von 0,391 klärt aktiver Nikotinkonsum 39,1 % der Varianz in den StO₂-Messungen vor Therapiebeginn auf. Nach Durchführung einer multiplen Regressionsanalyse zur Adjustierung von möglichen Confoundern (Alter, BMI, LDL-Cholesterin, systolischer Blutdruck, das Vorliegen einer arteriellen Hypertonie, eines Diabetes mellitus oder einer pAVK) stellte der aktive Nikotinkonsum immer noch einen Prädiktor für eine geringere transkutane Sauerstoffsättigung vor Erstgabe eines PCSK9-Inhibitors dar (β -Koeffizient -0,756, $p < 0,001$).

Nach Unterteilung des Studienkollektivs in Patienten mit FH und ohne FH war zunächst in der FH-Gruppe eine höhere Ausgangs-StO₂ zu beobachten ($71,7 \pm 5,5$ % vs. $66 \pm 17,1$ %). Die periphere StO₂ zeigte bei Patienten ohne FH eine geringe Zunahme nach sechs Monaten, während diese bei FH-Patienten weitestgehend unverändert blieb ($4,7 \pm 7$ % vs. $-0,5 \pm 5,7$ %). Eine graphische Darstellung des Verlaufs ist Abbildung 26 zu entnehmen.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

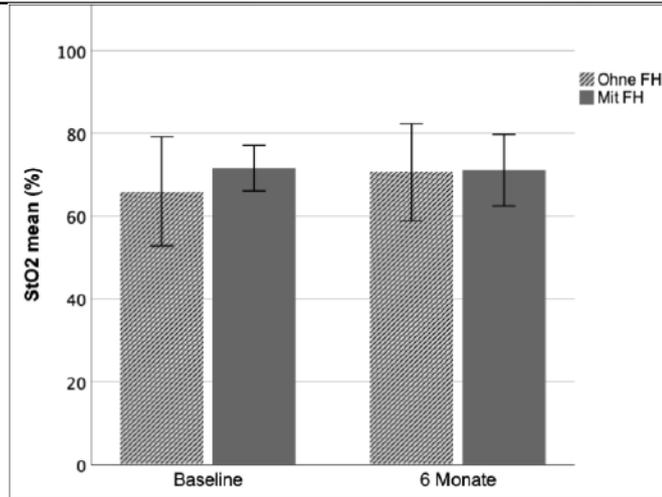


Abbildung 26: Durchschnittliche transkutane Gewebeoxygenierung (StO₂) der Hände und Füße bei Patienten mit und ohne FH vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie; FH = familiäre Hypercholesterinämie

3.5 Endotheliale Funktion

Nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie konnte eine signifikante Verbesserung der FMD der Brachialarterie als Surrogatparameter der endothelialen Funktion beobachtet werden. Bei einer durchschnittlichen FMD vor Therapiebeginn von $5,41 \pm 1,72$ % zeigte sich bei den Followup-Untersuchungen eine durchschnittliche FMD von $6,4 \pm 1,9$ % ($p < 0,001$). Dies entspricht einer durchschnittlichen relativen Zunahme der FMD um 19,4% und einer absoluten Zunahme um $0,97 \pm 0,51$ % beim beobachteten Studienkollektiv innerhalb eines Zeitraums von sechs Monaten (vgl. Abbildung 27).

Es konnten zum Teil große interindividuelle FMD-Ausgangswerte beobachtet werden, so lag die geringste gemessene FMD vor Erstgabe eines PCSK9-Inhibitors bei 2,01 % und die höchste FMD bei 8,54 %. Es zeigte sich eine negative Korrelation zwischen der Baseline-FMD und dem Alter der Probanden ($r = -0,433$, $p = 0,017$). Mit zunehmendem Alter konnte demnach eine geringere FMD beobachtet werden.

Des Weiteren korrelierte die Ausgangs-FMD invers mit sowohl dem brachialen ($r = -0,438$, $p = 0,015$) als auch mit dem aortalen ($r = -0,556$, $p = 0,003$) systolischen Blutdruck zu Beginn der Studie.

In der „+ Statintherapie“ Gruppe zeigte sich im Vergleich zur „- Statintherapie“ Gruppe nach sechs Monaten eine diskret stärker ausgeprägte Verbesserung der FMD, die unterhalb des Signifikanzniveaus lag ($p = 0,63$). Die „+ Statintherapie“ Gruppe zeigte eine absolute Zunahme der FMD von $1,1 \pm 0,5$ % ($5,7 \pm 1,7$ % auf

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

6,9 ± 1,9; +19,5 %), die „- Statintherapie“ Gruppe verzeichnete eine absolute Zunahme von +0,9 ± 0,5 %, (5,2 ± 1,8 % auf 6 ± 1,9 %; +16,8 %).

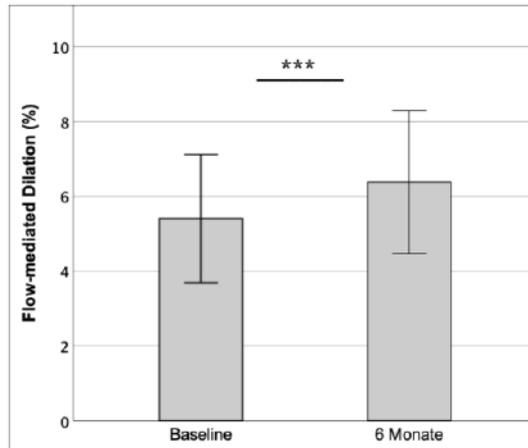


Abbildung 27: Flow-mediated Dilation (FMD) der Brachialarterie vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie, *** = $p < 0,001$

Die Zunahme der FMD korrelierte weder mit dem Alter, dem systolischen Blutdruck noch dem BMI der Probanden. Des Weiteren waren das Geschlecht, der Raucherstatus, das Vorliegen eines Diabetes mellitus oder einer pAVK sowie die weitere Lipid-Komedikation kein Prädiktor für die Veränderungen der FMD. Es konnte keine signifikante Korrelation zwischen Ausmaß der LDL-Senkung und der Verbesserung der FMD beobachtet werden ($r = 0,113$, $p = 0,553$), ebenso zeigte sich keine Korrelation zwischen Gesamt-Cholesterin Senkung und Verbesserung der FMD ($r = 0,081$, $p = 0,672$).

Nach Differenzierung der Ergebnisse zwischen Patienten mit FH und ohne FH zeigte sich in der Tendenz zum einen eine höhere Ausgangs-FMD ($6,1 \pm 1,3$ % vs. $5,3 \pm 1,8$ %) und zum anderen eine stärkere Zunahme der FMD ($+1,2 \pm 0,7$ vs. $+0,9 \pm 0,5$ %) in der FH-Gruppe (s. Abbildung 28).

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

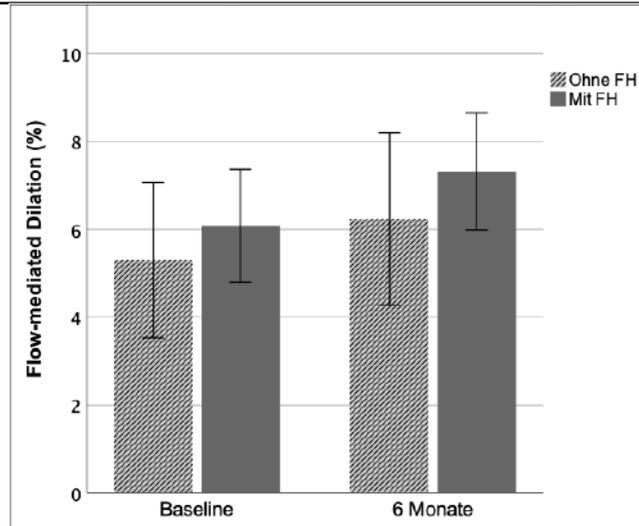


Abbildung 28: Veränderungen der FMD vor Beginn und nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie bei Patienten mit und ohne FH; *FH = familiäre Hypercholesterinämie, FMD = Flow-mediated Dilatation*

4 Diskussion

In der vorliegenden Arbeit wurden längerfristige Effekte einer PCSK9-Inhibitor Therapie bei Patienten mit diagnostizierter Hypercholesterinämie auf unterschiedliche vaskuläre Parameter untersucht. Dabei wurden die Foki auf verschiedene Abschnitte des arteriellen Gefäßbaumes gesetzt: Die Makro- und Mikrostrombahn sowie die Endothelfunktion.

Ziel der Studie war es chronische, pleiotrope Effekte einer PCSK9-Inhibitor Therapie auf verschiedene Abschnitte des arteriellen Gefäßbaumes zu untersuchen, die unabhängig von einer bekannten Gesamtcholesterin- oder LDL-Reduktion auftreten.

Es können folgende wesentliche Ergebnisse der Arbeit zusammengefasst werden:

Nach einer sechsmonatigen PCSK9-Inhibitor Therapie

- Verbessern sich signifikant Parameter der arteriellen Makrostrombahn.
- Verbessert sich signifikant die mikrozirkulatorische Perfusion.
- Verbessert sich signifikant die endotheliale Funktion.
- Konnte, bis auf die Augmentation, keine signifikante Korrelation zwischen Ausmaß der Gesamtcholesterin- oder LDL-Cholesterin-Reduktion und Parametern der Makro- und Mikrozirkulation sowie Endothelfunktion beobachtet werden.

4.1 LDL-Reduktion

In der durchgeführten Arbeit konnte eine signifikante Reduktion sowohl des Gesamt- (-35,6 %) als auch des LDL-Cholesterins (-56 %) unter sechsmonatiger Therapie mit einem PCSK9-Inhibitor beobachtet werden ($p < 0,001$). Diese Ergebnisse sind vergleichbar mit großen randomisierten kontrollierten Studien, in denen die beiden bisher zugelassenen PCSK9-Inhibitoren Evolocumab und Alirocumab zur lipidsenkenden Therapie eingesetzt wurden. In der GAUSS-3 (*Goal Achievement After Utilizing an Anti-PCSK9 Antibody in Statin Intolerant Subjects - 3*)-Studie konnte mit Evolocumab bei Statin-intoleranten Patienten eine durchschnittliche Reduktion des Gesamt-Cholesterins um 36,6 % und des LDL-Cholesterins um 52,8 % nach sechs Monaten beobachtet werden [81]. In den noch größer angelegten FOURIER (*Further Cardiovascular Outcomes*

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Research with PCSK9 Inhibition in Subjects with Elevated Risk; Evolocumab)- und *ODYSSEY (Evaluation of Cardiovascular Outcomes After an Acute Coronary Syndrome During Treatment With Alirocumab; Alirocumab)*-Studien war bei Patienten mit einer koronaren Herzerkrankung, die sich bereits unter Statintherapie befanden, nach 2,2 bzw. 1 Jahren eine LDL-Cholesterin Senkung um 67,4 % bzw. 47,8 % zu verzeichnen [80, 87].

Die Beobachtung in dieser Arbeit, dass der LDL-senkende Effekt von PCSK9-Inhibitoren durch eine vorbestehende Statintherapie tendentiell ausgeprägter ist, deckt sich mit den Ergebnissen großer Studien. Also Ursache wird ein nachgewiesener Anstieg der PCSK9-Spiegel sowie der LDL-Rezeptoren auf den Oberflächen des hepatischen und extrahepatischen Gewebes unter Statintherapie vermutet, der die monoklonale Antikörper-Wirkung der PCSK9-Inhibitoren verstärkt [77, 167].

In dem hier untersuchten Kollektiv war bei höheren Baseline LDL-Cholesterin Werten in der Gruppe der Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie (n = 5) eine stärker ausgeprägte LDL-Cholesterin Senkung messbar als bei Patienten ohne familiäre Hypercholesterinämie (-74,8 % vs. -53,3 %). Damit liegt in dieser Arbeit die durchschnittliche LDL-Cholesterin senkende Wirkung von PCSK9-Inhibitoren bei Patienten mit FH etwas über der von vergleichbaren Studien (- 65,4 %) [168]. Diese Beobachtung ist vermutlich in der geringeren Anzahl an FH-Patienten in dieser Studienpopulation begründet. Die verhältnismäßig stärkere LDL-Cholesterin Senkung bei FH-Patienten im Gegensatz zu nicht-FH-Patienten erklärt sich vermutlich insbesondere durch die höheren Baseline-Werte dieser Patientengruppe.

Den Effekt von PCSK9-Inhibitoren auf die Konzentrationen des proatherogenen Lipoprotein (a) konnte in dieser Arbeit nicht bewertet werden, da bei dem Großteil der Probanden lediglich ein einmaliger Messwert des Lp (a) vorlag. In großen Studien wurde unter PCSK9-Inhibitor Therapie eine signifikante Lp (a) Reduktion von 30-40 % beobachtet [169, 170].

Unter sechsmonatiger PCSK9-Inhibitor Therapie kam es zusammenfassend erwartungsgemäß zu einem signifikanten Abfall insbesondere des LDL-Cholesterins. Das Ausmaß der LDL-Senkung war im vorliegenden Studienkollektiv vergleichbar mit dem großer klinischer Studien.

4.2 Makrozirkulation

Zur Untersuchung der Makrostrombahn unter PCSK9-Inhibitor Therapie wurde eine Reihe klinischer Untersuchungen durchgeführt. Als Parameter der arteriellen Gefäßsteifigkeit wurden die Pulswellengeschwindigkeit (PWV), der Augmentationsindex (Alx) sowie die fraktionelle Diameterzunahme (FDC) gemessen. Zur Quantifizierung des Blutflusses der großen Beinarterien wurde eine venösen Verschlussplethysmographie (VVP) mit Bestimmung des mittleren arteriellen Einstroms gewählt. Des Weiteren wurden Parameter der zentralen Hämodynamik erfasst.

4.2.1 Arterielle Gefäßsteifigkeit

Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) als Goldstandard zur Bestimmung der arteriellen Gefäßsteifigkeit zeigte im Gesamtkollektiv zwar eine Reduktion (von $8,7 \pm 2,2$ m/s auf $8,3 \pm 1,7$ m/s; -4,6 %), diese lag jedoch unterhalb des Signifikanzniveaus ($p = 0,14$). Der Augmentationsindex (-16 %) sowie die FDC (+9 %) als weitere Parameter der arteriellen Gefäßsteifigkeit hingegen zeigten im beobachteten Studienkollektiv eine signifikante Verbesserung ($p < 0,001$). Veränderungen dieser Parameter waren nicht mit Änderungen des peripheren oder aortalen Blutdruckes assoziiert. Aufgrund der Korrelation zwischen Blutdruck und den genannten arteriellen Gefäßparametern ist somit nicht von einer Beeinflussung der Messergebnisse durch diesen Faktor auszugehen.

Sowohl bei Veränderungen der PWV als auch der FDC konnte keine Korrelation zum Ausmaß der LDL-Senkung beobachtet werden. Lediglich die Alx-Veränderungen korrelierten positiv signifikant mit der Abnahme des LDL-Cholesterins. Nach Anpassung an mögliche Confounder war dieser Effekt nicht mehr sichtbar.

Der Effekt einer PCSK9-Inhibitor-Therapie auf Parameter der arteriellen Gefäßsteifigkeit ist in vorigen Arbeiten bisher vor allem bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie untersucht worden.

Scicali et al. zeigten unter einer PCSK9-Inhibitor Therapie zusätzlich zu high-dose Statin- und Ezetimibtherapie bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie ($n = 30$) nach sechs Monaten eine Abnahme der PWV von $9,9 \pm 1,5$ m/s auf $7,7 \pm 1,4$ m/s (-21,9 %) [171]. Mandraffino et al. zeigten ebenfalls bei Patienten mit FH eine Abnahme der PWV um 15 % unter einer

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

sechsmonatigen PCSK9-Inhibitor Therapie als add-on zur Statin- und Ezetimibtherapie (n = 53). Dabei waren die Veränderungen der PWV mit dem Ausmaß der LDL-Cholesterin Reduktion assoziiert ($r = 0,334$, $p < 0,05$) [172].

Zu Patienten ohne familiäre Form der Hypercholesterinämie sind bisher lediglich einige wenige Fallberichte beschrieben, in denen sich die PWV und der Augmentationsindex unter sechsmonatiger PCSK9-Inhibitor Therapie verbessert haben [173, 174]. Dabei variierte der Umfang der PWV-Abnahme sehr stark mit Werten zwischen -52 % und -19 %. Studien mit ähnlichem Patientenkollektiv zu dieser Studie, die den Effekt von PCSK9-Inhibitoren auf die arterielle Gefäßsteifigkeit bei Patienten ohne FH untersucht haben, sind bisher unveröffentlicht.

Ein Grund für die verhältnismäßig geringe PWV-Abnahme in dieser Studie verglichen mit FH-Studien könnte durch das Patientenkollektiv erklärt sein. FH-Patienten sind bei Erstgabe eines PCSK9-Inhibitors in der Regel jünger als nicht-FH Patienten, sodass altersabhängig eine partiell ausgeprägtere Reversibilität der Gefäßsteifigkeit vermutet werden kann. Zudem liegen bei FH-Patienten häufig weniger Komorbiditäten vor (z.B. Diabetes mellitus, KHK).

Effekte einer Statintherapie auf die arterielle Gefäßsteifigkeit sind dahingegen häufiger in Studien untersucht worden. In der Metaanalyse von D'elia et al. konnte unter Statintherapie eine durchschnittliche Reduktion der PWV um 6,8 % beobachtet werden, und dieser Effekt auf die Gefäßsteifigkeit scheint zumindest partiell unabhängig vom LDL-Cholesterin zu sein [49]. Ebenso konnte in der Metaanalyse von Sahebkar et al. eine LDL-Cholesterin unabhängige Reduktion des Alx von durchschnittlich ca. 5 % unter Statinen festgestellt werden [48].

Kanaki et al. zeigten bei 50 Patienten mit Hypercholesterinämie und arterieller Hypertonie unter einer low-dose Statintherapie im Vergleich zur Placebogruppe nach 6 Monaten eine signifikante Abnahme der PWV (-18,4 % vs. +3,9 %), des Alx (-22 % vs. +4 %), sowie des aortalen systolischen Blutdruckes und zentralen Pulsdruckes. Eine Korrelation zum Ausmaß der LDL-Cholesterin Senkung konnte ebenfalls nicht beobachtet werden [175].

In der Tendenz ließ sich eine stärkere Verbesserung der Parameter der arteriellen Gefäßsteifigkeit (PWV, Alx) bei Probanden beobachten, die zusätzlich eine Statin-Therapie erhielten. Diese Beobachtung deutet auf additive Effekte

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

von PCSK9-Inhibitoren und Statinen hin. Diskutiert werden kann ursächlich zum einen die etwas ausgeprägtere LDL-Cholesterin Reduktion durch die Kombinationstherapie, zum anderen die bereits beschriebenen pleiotropen Effekte der Statine selbst. Gegen die alleinigen pleiotropen Effekte von Statinen könnte sprechen, dass die Probanden in dieser Studie bereits eine länger bestehende Statintherapie hatten und diese nicht im zeitlichen Zusammenhang mit der Studie neu initiiert wurde. Potentielle pleiotrope Effekte auf vaskuläre Parameter von Statinen könnten somit außerhalb des Beobachtungszeitraumes der Studie liegen.

Zusammengefasst weisen diese Ergebnisse auf eine Abnahme der arteriellen Gefäßsteifigkeit unter PCSK9-Inhibitor Therapie hin, auch wenn Veränderungen der PWV als Goldstandard in Anbetracht des Gesamtkollektivs unterhalb des Signifikanzniveaus blieben. In der Gruppe der Probanden mit zusätzlicher Statintherapie waren diese Effekte tendenziell ausgeprägter.

Die inhomogenen Ergebnisse dieser Arbeit zum Zusammenhang zwischen arterieller Gefäßsteifigkeit und Ausmaß der LDL-Cholesterin Reduktion unter PCSK9-Inhibitoren lassen in diesem Studienkollektiv keine Aussage zu einer zentralen Tendenz zu. In Studien zu Statinen konnte der positive Effekt auf die arterielle Gefäßsteifigkeit mehrfach gezeigt werden, dieser scheint LDL-unabhängig zu sein. Unter den wenigen Studien zu PCSK9-Inhibitoren gibt es deutliche Hinweise auf eine Abnahme der arteriellen Gefäßsteifigkeit, die Ergebnisse bezüglich einer LDL-Cholesterin Korrelation sind jedoch inkonstant.

4.2.2 Mittlerer arterieller Blutfluss der Beine

Im beobachteten Studienkollektiv wurde eine Strain-Gauge venöse Verschlussplethysmographie zur Beurteilung des arteriellen Einstroms in die Beine durchgeführt. Dabei zeigte sich eine diskrete Zunahme des mittleren arteriellen Einstroms nach sechs Monaten unter PCSK9-Inhibitor Therapie. Die erhobenen Messwerte unterlagen jedoch bei geringer Datenmenge einer großen Streuung (von $4,27 \pm 2,79$ auf $4,53 \pm 3,41$ %/min), die bei der Bewertung der Ergebnisse nicht zu vernachlässigen sein sollte. Bei einem Teil der Probanden konnte aufgrund temporärer technischer Hindernisse die VVP nicht durchgeführt werden, bei einem anderen Teil waren die Messwerte unglaublich und flossen somit nicht in die Auswertung mit ein. Unter diesen Umständen gestaltet sich eine

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Einschätzung der Messergebnisse schwierig. Eine Zunahme des arteriellen Blutflusses unter PCSK9-Inhibitor Therapie kann jedoch potentiell durch eine Verbesserung der Mikrozirkulation zu erklären sein.

Bisher ist noch keine Studie veröffentlicht, die den arteriellen Blutfluss der Beine unter Statin- oder PCSK9-Inhibitor Therapie untersucht haben.

4.2.3 Zentrale Hämodynamik

Es zeigten sich keine signifikanten Änderungen des aortalen und brachialen Blutdrucks nach sechs Monaten ($138,3 \pm 18,1$ vs. $139,9 \pm 18,7$ mmHg und $124,4 \pm 13,5$ vs. $123,8 \pm 13,6$ mmHg). Der zentrale Pulsdruck zeigte eine leichte Abnahme ($45,5 \pm 10$ vs. 43 ± 15 mmHg), die jedoch unterhalb des Signifikanzniveaus lag.

Bei allen Parametern der zentralen Hämodynamik zeigte sich keine Korrelation mit dem Ausmaß der LDL-Cholesterin Reduktion. Vergleichbare Studien, in denen der Einfluss von PCSK9-Inhibitoren auf die zentrale Hämodynamik untersucht wurden, sind nicht bekannt.

Die Datenlage zum Einfluss einer Statintherapie auf zentrale hämodynamische Parameter ist hingegen umfangreicher. Die multizentrischen CAFE-LLA (*Conduit Artery Function Evaluation-Lipid-Lowering Arm*)-Studie, eine Substudie der ASCOT (*Anglo-Scandinavian Cardiac Outcome Trial*)-Studie, konnte bei Patienten mit arterieller Hypertonie über einen Beobachtungszeitraum von 3,5 Jahren keinen Effekt einer low-dose Statintherapie auf den peripheren oder aortalen Blutdruck sowie den zentralen Pulsdruck zeigen [53]. Im Gegensatz dazu konnte in der CARTaGENE Kohorte in Kanada mit über 16.000 Probanden eine Assoziation zwischen einer Statintherapie sowie den LDL-Cholesterin Spiegel und dem aortalen Blutdruck beobachtet werden [176]. Die Reduktion des diastolischen sowie systolischen aortalen Blutdruckes bewegte sich hierbei in einem Bereich von etwa 2-2,5 mmHg. Die Autoren vermuten aufgrund des langen Beobachtungszeitraumes der CAFE-LLA Studie eine Verdeckung des Effektes durch zwischenzeitlich Neuverordnung blutdruckwirksamer Medikamente.

In Anbetracht der geringen Fallzahl der vorliegenden Studie sowie des erwartbar geringen Ausmaßes der Blutdrucksenkung bezogen auf bisherige Studien mit Statinen ist der fehlende signifikanter Effekt nicht überraschend. Aufgrund des

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

engen Zusammenhangs zwischen peripheren bzw. zentralen Blutdruck sowie Alx und PWV kann zumindest von einem Blutdruck-unabhängigen Effekt der PCSK9-Inhibitor Therapie auf diese Parameter ausgegangen werden.

4.3 Mikrozirkulation

In dieser Studie konnte gezeigt werden, dass es unter eine sechsmonatigen PCSK9-Inhibitor Therapie zu einer signifikanten Verbesserung der transkutan gemessenen Gewebeoxygenierung um ca. 7 % kommt. Einen Unterschied zwischen Probanden mit oder ohne vorbestehende Statintherapie konnte nicht beobachtet werden.

Die durchschnittlichen Ausgangs-StO₂ Werte der Extremitäten lagen zu Studienbeginn bei 66,9 ± 12,4%. Damit liegen die Werte in diesem Studienkollektiv unterhalb der Normwerte von gesunden Probanden, die durchschnittlich bei etwa 84 % (Hände) bzw. 70 % (Füße) liegen [177, 178]. Hier gilt zu erwähnen, dass sich die Messpunkte in den genannten Studien geringfügig von denen in dieser Arbeit unterschieden, was die Vergleichbarkeit erschwert.

Ursächlich für den geringeren Ausgangs-StO₂ können die multiplen Komorbiditäten im Patientenkollektiv sein. Ein langjähriger Diabetes mellitus führt zu einer Schädigung der Kapillaren und somit zu einer verminderten Perfusion in der Mikrozirkulation. Eine periphere arterielle Verschlusskrankheit führt zu Einschränkungen der Makrozirkulation insbesondere der unteren Extremität und somit konsekutiv zu einer verminderten Durchblutung der nachgeschalteten Mikrostrombahn [179, 180]. Im vorliegenden Patientenkollektiv präsentierte sich aktiver Nikotinkonsum als Determinante einer niedrigen Baseline StO₂ (p <0,001) als auch der StO₂-Veränderung nach sechs Monaten (p = 0,043). Ähnliche Effekte konnten in Vorstudien mittels Laser-Doppler Durchflussmessung unmittelbar nach dem Rauchen einer Zigarette erhoben werden [181, 182], was eine Einschränkung der peripheren Mikrozirkulation durch Nikotinkonsum vermuten lässt.

Zu den signifikanten Unterschieden zwischen Rauchern und Nichtrauchern in dieser Studie könnte zudem der geringe Anteil an aktiven Rauchern am Gesamtkollektiv beigetragen haben (n = 6), sodass einzelne Probanden mit sehr geringem Ausgangs-StO₂, wie es in diesem Kollektiv vorkam, bereits einen signifikanten Unterschied zwischen beiden Gruppen implizieren.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Studien zum Effekt einer lipidsenkenden Therapie auf die periphere Mikrozirkulation sind bisher kaum durchgeführt worden. Haak et al. konnten in einer placebokontrollierten Studie (n = 48) nach einer sechswöchigen Statintherapie eine verbesserte Mikrozirkulation bei Patienten mit Hypercholesterinämie beobachten (p <0,01) [183]. Erfasst wurde diese mittels Kapillarmikroskopie sowie Laser-Doppler Flussmessung an jeweils einem Finger. Einiger Jahre zuvor hatten Haak et al. bereits eine Verbesserung der peripheren Mikrozirkulation unter Fibraten, einem Lipidsenker der älteren Generation, beobachten können [184]. Dies lässt einen zumindest partiellen Effekt durch die LDL-Senkung selbst vermuten.

Der Pathomechanismus hinter der eingeschränkten Mikrozirkulation bei Hypercholesterinämie wurde vielfach untersucht, eine erhöhte Kapillarpermeabilität im Sinne einer endothelialen Barriestörung scheint wahrscheinlich. Als Ursache werden oxidativ veränderte LDL-Moleküle sowie freie Sauerstoffradikale im Rahmen von oxidativem Stress vermutet, die mit der Glykokalyx der Endothelzellen interagieren und diese zerstören [185]. Dieser biochemische Prozess, welcher Ähnlichkeiten zu den Auswirkungen einer Hypercholesterinämie auf die Endothelfunktion in Widerstandsgefäßen aufweist, scheint somit ebenso im Kapillarbett abzulaufen.

Zusammenfassend zeigte sich zwar eine geringe, jedoch signifikante Zunahme der peripheren Gewebesättigung nach sechs Monaten im beobachteten Kollektiv. Einflüsse von PCSK9-Inhibitoren auf die Mikrozirkulation waren bisher noch nicht Gegenstand klinischer Studien. Die Untersuchungen der peripheren Mikrozirkulation der Hände und Füße in dieser Arbeit mittels Near-infrared Spektroskopie (NIRS) scheint die erste Studie zu sein, die diesen Aspekt verfolgt.

4.4 Endothelfunktion

Im untersuchten Studienkollektiv betrug der Mittelwert der gemessenen flussvermittelten Vasodilatation (FMD) vor Erstgabe eines PCSK9-Inhibitors $5,4 \pm 1,7$ %. Es ließen sich große interindividuelle Unterschiede bei den Ausgangswerten beobachten (min. FMD 2,01 %, max. FMD 8,54 %). Damit liegt ein großer Teil der beobachteten Werte unterhalb der geschlechter- und altersabhängigen Referenzwerte von ca. 5,5 - 9,5 % für die Normalbevölkerung <75 Jahren und ohne kardiovaskuläre Risikofaktoren [186]. Dies lässt sich

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

zumind est partiell durch die bei allen Patienten vorliegende Hypercholesterinämie erklären. In unterschiedlichen Studien konnte bereits der Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Hypercholesterinämie und einer verringerten FMD belegt werden [187-189]. Das hier untersuchte Studienkollektiv hatte zudem zusätzliche kardiovaskuläre Risikofaktoren und Vorerkrankungen. Insbesondere eine koronare Herzkrankheit [131], ein arterieller Hypertonus [121, 123] sowie Nikotinabusus [190] stellen nachgewiesene Risikofaktoren für die Ausbildung einer Endotheldysfunktion dar und gehen mit einer reduzierten FMD einher. Zudem wiesen die Patienten im Studienkollektiv zum Teil große Altersdifferenzen auf (jüngstes Patientenalter 29 Jahre, höchstes Patientenalter 83 Jahre), sodass die physiologische altersabhängige Abnahme der FMD zur Erklärung dieser Beobachtung vor PCSK9-Inhibitor Erstgabe ebenfalls beitragen könnte [191].

In dieser Arbeit konnte eine signifikante Verbesserung der FMD unter einer längerfristigen PCSK9-Inhibitor Therapie beobachtet werden ($5,41 \pm 1,72$ % vs. $6,38 \pm 1,91$ %). Dies entspricht einer durchschnittlichen relativen Zunahme der FMD um 19,4 %. Bei Patienten mit einer vorbestehenden Statintherapie war die FMD-Zunahme im beobachteten Zeitraum zudem tendenziell ausgeprägter. Ursächlich können, ähnlich wie bei den Parametern der arteriellen Gefäßsteifigkeit, additive Effekte von PCSK9-Inhibitoren und Statinen diskutiert werden durch z.B. eine stärkere LDL-Reduktion oder zusätzliche pleiotrope Effekte durch die Statine selbst.

Die Subgruppe der FH-Patienten wies bereits zu Beginn der Studie höhere FMD-Werte auf als Patienten ohne FH ($6,1 \pm 1,3$ % vs. $5,3 \pm 1,8$ %). Darüber hinaus verzeichnete die FH-Gruppe eine tendenziell stärkere Zunahme der FMD nach sechs Monaten. Dieser Umstand könnte dadurch erklärt werden, dass die FH-Patienten in dieser Studie im Durchschnitt ca. 17 Jahre jünger waren als Patienten ohne FH (46 ± 13 vs. 63 ± 12 Jahre). In der FH-Gruppe gab es zudem keinen Patienten mit aktivem Nikotinkonsum oder Diabetes mellitus. Die erwartungsgemäß inverse Korrelation zwischen FMD und Lebensalter zeigte sich auch in dieser Studie ($r = -0,433$, $p = 0,017$).

Vorherige klinische Studien gaben ebenfalls Hinweise auf den Effekt einer PCSK9-Inhibitor Therapie auf die FMD. Maulucci et al. untersuchten in einer

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

kleinen Studie mit vorwiegend männlichem Patientenkollektiv (n = 14) die Endothelfunktion bei Patienten mit Hypercholesterinämie und stattgehabtem Myokardinfarkt vor mehr als sechs Monaten. Es zeigte sich bei einer durchschnittlichen LDL-Cholesterin Reduktion von 59 % eine Verbesserung der FMD um 40 % ($6,3 \pm 4,1$ % auf $8,8 \pm 6,3$ % ($p = 0,004$)). Die Patienten erhielten eine zweimonatige PCSK9-Inhibitor Therapie zusätzlich zu einer bestehenden high-dose Statintherapie und Ezetimib. Dieser Effekt auf die Endothelfunktion war proportional zur LDL-Cholesterin Reduktion ($r = 0,69$, $p = 0,006$) [192]. Ein ausgeprägterer vaskulärer Effekt durch die dreifache lipidsenkende Therapie bei allen Probanden kann hierbei diskutiert werden. Di Minno et al. konnten eine Zunahme der FMD unter einer 3-monatigen PCSK9-Inhibitor Therapie zusätzlich zur maximal tolerierten Statindosis bei Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie (n = 25) von $4,78 \pm 2,27$ % zu Beginn auf $10,6 \pm 5,89$ % zeigen [193], was einer durchschnittlichen Zunahme der FMD von >120 % entspricht. Die durchschnittliche LDL-Cholesterin Reduktion lag in diesem Patientenkollektiv bei 52 %, die Reduktion des als *small-dense* definierten LDL-Cholesterins betrug 46 %. Interessanterweise korrelierte letztere, nicht aber das Ausmaß der gesamten LDL-Reduktion mit den FMD-Veränderungen.

Cacciottolo et al. untersuchten bei einem kleinen Studienkollektiv mit jungen gesunden Probanden ohne Hypercholesterinämie oder andere Vorerkrankungen ebenfalls den Effekt einer PCSK9-Inhibitor Therapie auf die Endothelfunktion. Nach einmaliger Gabe ließ sich nach zwei Wochen trotz signifikanter LDL-Cholesterin Reduktion keine Verbesserung der FMD beobachten, diese zeigte sich erst zwei Wochen später nach zusätzlicher Zugabe eines Statins [194]. Diese Erkenntnisse sprechen zumindest gegen kurzfristige Effekte von PCSK9-Inhibitoren auf das Endothel.

Ähnliche Studienergebnisse mit Verbesserung der endothelialen Funktion sind bisher vor allem unter Statintherapie beobachtet worden. Dieser Effekt konnte sowohl bei Diabetikern [195], bei Patienten nach akutem Koronarsyndrom [196], sowie bei Patienten mit KHK [197], metabolischem Syndrom [70] und familiärer Hypercholesterinämie [198] gezeigt werden. Die Verbesserung der endothelialen Funktion konnte sowohl kurz- [199] als auch langfristig mit einem Followup von bis zu vier Jahren [52] gezeigt werden. Reriani et al. zeigten in einer großen Metaanalyse mit 34 eingeschlossenen randomisierten kontrollierten Studien eine

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

durchschnittliche absolute Verbesserung der peripheren FMD unter Statintherapie von 1,45 % verglichen mit einem Placebo [52]. Dieser Effekt war statistisch signifikant und scheint unabhängig von Statinpräparat und -dosis, der Einnahmedauer sowie der LDL-Cholesterin Senkung zu sein [200, 201]. Es wird vermutet, dass der Effekt auf einem erhöhten Angebot von NO durch die Statintherapie beruht [55, 202].

Als zentralen Mechanismus in der Pathophysiologie der endothelialen Dysfunktion bei Patienten mit Hypercholesterinämie wird die Bioverfügbarkeit von NO vermutet [139]. NO wird größtenteils über die endotheliale NO-Synthase aus L-Arginin vom Endothel selbst synthetisiert und die Ursachen einer verminderten Verfügbarkeit sind multifaktoriell. Zum einen scheint die Inaktivierung von NO durch reaktive Sauerstoffspezies im Rahmen von vermehrtem oxidativen Stress [118], zum anderen die direkte Hemmung der NO-Synthase durch unterschiedliche Mechanismen eine Rolle zu spielen. Patienten mit Hypercholesterinämie, ebenso wie Patienten mit arterieller Hypertonie oder Diabetes mellitus Typ 2, weisen eine erhöhte Plasmakonzentrationen von asymmetrischem Dimethylarginin auf, einem endogenen NO-Synthase Inhibitor [203, 204]. Dabei scheint insbesondere das Verhältnis zwischen asymmetrischem Dimethylarginin und L-Arginin, dem Substrat der NO-Synthase zur Generierung von NO, von Bedeutung zu sein [205]. Bei gesunden Personen mit Hypercholesterinämie konnten Maas et al. beispielsweise ubiquitär eine reduzierte NO-Synthase feststellen [206]. Inwiefern PCSK9-Inhibitoren potentiell diesen Pathomechanismus beeinflussen können wird in Kapitel 4.5 näher erläutert.

Somit konnten zwar in weiteren Studien die signifikante Verbesserung der FMD unter längerfristiger PCSK9-Inhibitor Therapie bei Hypercholesterinämie beobachtet werden, jedoch zeigen die Ergebnisse bezüglich des Ausmaßes der FMD-Zunahme zum Teil große Diskrepanzen. Dies ist vermutlich zum einen durch geringe Fallzahlen und zum anderen durch das meist junge FH-Patientenkollektiv erklärbar. Wie auch in dieser Arbeit scheint der Effekt auf die FMD bei Patienten mit FH stärker ausgeprägt zu sein, wobei das jüngere Patientenalter mit potentiell höherem Maß an Reversibilität der eingeschränkten Endothelfunktion diskutiert werden kann.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Zum jetzigen Zeitpunkt ist eine Korrelation zwischen Umfang der LDL-Cholesterin Senkung und Verbesserung der FMD unabhängig von der Art der lipidsenkenden Therapie noch nicht abschließend geklärt, da bisherige Studien zum Teil konträre Ergebnisse liefern. So deutet zwar ein großer Teil der Studien auf keine signifikante Korrelation zwischen beiden Parametern hin [197, 201, 207], in einigen randomisierten kontrollierten Studien konnte dieser jedoch nachgewiesen werden [192, 208]. In dieser Arbeit korrelierte die FMD zu keinem Zeitpunkt mit den absoluten Werten (Baseline oder nach sechs Monaten) oder den Änderungen der LDL-Cholesterin Werte, was in Zusammenschau mit den inkonstanten Ergebnissen der Vorstudien auf pleiotrope Effekte der PCSK9-Inhibitoren hindeuten könnte.

4.5 Pleiotrope Effekte

Statine stellen derzeit die Erstlinien-Therapie bei der Behandlung der Hypercholesterinämie in der Primär- und Sekundärprävention kardiovaskulärer Erkrankungen dar. Ihnen wird neben ihrem lipidsenkenden Effekt noch eine Reihe weiterer vorteilhafter Eigenschaften für das kardiovaskuläre System zugeschrieben. Diese sogenannten pleiotropen Effekte von Statinen werden kontrovers diskutiert, da ihre klinische Signifikanz unklar und die eindeutige Abgrenzung von cholesterinsenkenden Effekten schwierig ist. Statine werden die Hemmung der Proliferation glatter Muskelzellen in der Gefäßwand [209] sowie antiinflammatorische und antioxidative Effekte [210-212] zugeschrieben. Unter anderem führen sie zu einer Senkung des inflammatorischen Markers CRP und haben eine stabilisierende Wirkung auf atherosklerotische Plaques [213].

Ob diese oder ähnliche Effekte auch unter einer PCSK9-Inhibitor Therapie zu beobachten sind, ist zum aktuellen Zeitpunkt noch nicht vollständig geklärt. Die Hauptfunktion von PCSK9 als Protease wurde zunächst lokal in Verbindung mit dem LDL-Rezeptor und seiner Degradation vermutet. Einige Arbeiten konnten jedoch die Expression von PCSK9 in verschiedensten anderen Zellen und Geweben feststellen. Insbesondere von Interesse scheint die Expression der Protease in Endothelzellen und glatten Muskelzellen der Gefäßwand sowie in Makrophagen zu sein, eine erste Studie konnte das Vorkommen von PCSK9 in koronaren Plaques belegen [214, 215]. Die AtheroRemo-IVUS (*The European Collaborative Project on Inflammation and Vascular Wall Remodeling in*

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Atherosclerosis - Intravascular Ultrasound)-Studie zeigte bei 581 Patienten mit akutem Koronarsyndrom oder stabiler Angina pectoris, dass Serum PCSK9 Spiegel mit der Größe des nekrotischen Kerns koronarer Plaques korrelieren [216]. Dieser Effekt war unabhängig vom LDL-Cholesterin Spiegel und unabhängig von einer Statintherapie. Ebenso scheinen in dieser Studie die Serum PCSK9 Konzentrationen sowohl mit dem Ausmaß an Inflammation koronarer Plaques als auch mit den Serum *high sensitive* (hs)-CRP Spiegeln assoziiert zu sein. In einer großen Metaanalyse konnte jedoch der Effekt von PCSK9-Inhibitoren auf die Konzentrationen an hs-CRP nicht belegt werden [217].

Aus diesen Erkenntnissen resultiert die Vermutung, dass PCSK9-Inhibitoren neben ihrem bekannten Effekt auf LDL-Rezeptoren noch weitere direkte oder indirekte antiatherogene Einflüsse auf die Gefäßwand haben. Die bereits erwähnte GLAGOV-Studie konnte bei Statin-vorbehandelten Patienten sogar ein Regression koronarer atherosklerotischer Plaques unter Evolocumab Therapie beobachten, was diese Hypothese unterstützt [218]. Da nahezu alle Patienten in großen klinischen Studien bei Einleitung einer PCSK9-Inhibitor Therapie bereits mit Statinen vortherapiert wurden, ist eine unabhängige Einschätzung des PCSK9-Inhibitor Effekts auf atherosklerotische Prozesse nur eingeschränkt möglich. Kühnast et al. konnten in einer experimentellen Studie mit Mäusen unter Alirocumab Therapie eine dosisabhängige Reduktion atherosklerotischer Läsionen in der Aortenwurzel beobachten [88]. Dieser war unter alleiniger Alirocumab-Therapie zu beobachten und wurde durch eine zusätzlich eingeleitete Statintherapie weiter verstärkt. Diese Ergebnisse suggerieren einen antiatherogenen Effekt einer PCSK9-Inhibitor Monotherapie ohne Background-Statintherapie. Es fehlen derzeit jedoch große klinische Studien, die diese Annahme belegen.

Darüber hinaus scheint die PCSK9-Expression in den oben genannten Zelltypen in engem Zusammenhang mit proinflammatorischen Vorgängen und der Produktion reaktiver Sauerstoffspezies zu stehen [219]. In einem kleinen Kollektiv (n = 9) mit KHK-Patienten konnten Lankin et. al. unter PCSK9-Inhibitor Therapie zusätzlich zur maximal tolerierten Statindosis eine signifikante Reduktion in der Menge an oxidativ verändertem LDL-Cholesterin im Plasma feststellen. Eine reduzierte Aktivität der antioxidativen Enzyme Glutathion-

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Peroxidase und Superoxid-Dismutase war hingegen nicht zu beobachten [220]. Es lässt sich vermuten, dass PCSK9-Inhibitoren über die indirekte Hochregulation von LDL-Rezeptoren nicht nur zu einem verstärkten Abbau von LDL-Cholesterin, sondern auch von oxidiertem LDL-Cholesterin führen. Direkte Effekte auf Parameter des oxidativen Stresses sind weiterhin unklar. Im Vergleich dazu zeigte die Arbeit von Di Minno et al. (n = 25) eine Abnahme der oxidativen Marker 11-dehydro-thromboxane (11-TXB₂) und 8-isoprostaglandin-2alpha (8-iso-PGF₂α) unter PCSK9-Inhibitor Therapie [193]. Ein unabhängiger Effekt auf inflammatorische Marker wie CRP, Interleukine oder Tumornekrosefaktor α (TNFα) konnte für PCSK9-Inhibitoren nicht eindeutig belegt werden [217]. In Anbetracht dieser Studienergebnisse ist ein antiinflammatorischer Effekt von PCSK9-Inhibitoren, der mögliche pleiotrope Effekte erklären könnte, weiterhin nicht eindeutig geklärt, es gibt jedoch Hinweise die darauf hindeuten.

Ein weiterer diskutierter Mechanismus, der gefäßförderliche Effekte erklären könnte, ist die beobachtete Reduktion des atherogenen Lipoprotein (a) um bis zu 30 % unter PCSK9-Inhibitor Therapie. Dieser Effekt ist bei Statinen nicht zu beobachten. Als Mechanismus hierfür wird von einer erhöhten Lp(a) Clearance über hochregulierte LDL-Rezeptoren sowie eine verminderte Synthese aufgrund von geringerer Verfügbarkeit von Apo-B ausgegangen [169, 170]. Dieser Effekt scheint umso größer, je höher die Ausgangs-Lp(a) Spiegel sind. Es gibt jedoch Hinweise, dass es über diese Erklärung hinaus noch weitere Mechanismen geben muss [221].

Zusammenfassend zeigten sich in dieser Arbeit keine Hinweise auf eine Korrelation zwischen Ausmaß der LDL-Cholesterin Reduktion unter PCSK9 Inhibitor Therapie und den Einflüssen auf vaskuläre Parameter. Diese fehlende Korrelation könnte auf eigene pleiotrope Effekte von PCSK9-Inhibitoren hindeuten.

4.6 Methodenkritik und Limitation der Studie

Die Ergebnisse dieser Studie decken sich in großen Teilen mit vorausgegangenen Arbeiten bezüglich des Effekts auf die arterielle Gefäßsteifigkeit sowie die Endothelfunktion unter PCSK9-Inhibitor Therapie.

Durch die Unterschiede in der lipidsenkenden Komedikation und dem Patientenalter unseres Kollektivs ist die Vergleichbarkeit gegenüber anderen

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Studien jedoch erschwert. Es handelt sich hierbei zudem um eine Studie ohne Randomisierung oder Kontrollgruppe mit Statintherapie und/oder eine Placebo. Ein Vergleich zu Studien mit ähnlichem Versuchsaufbau konnte somit lediglich in der Literatur gezogen werden. Ebenso gehört die geringe Fallzahl von $n = 32$ zu den Limitationen dieser Arbeit.

Bei der Erhebung der Pulswellenanalyse (AIx und zentrale hämodynamische Parameter) wurden Messwiederholungen durchgeführt und ein Mittelwert gebildet, um Messschwankungen und -fehler zu minimieren. Es wurden zudem nur Messwerte aufgenommen, bei denen die Schwankungen in den einzelnen Pulswellen gering waren (sog. *Operator Index* >85 %). Trotz bestmöglichem Versuch der Einhaltung identischer Messbedingungen wurden die Untersuchungen nicht immer zur gleichen Tageszeit durchgeführt. Aufgrund von diversen Komorbiditäten der Probanden und einer häufigen Komedikation mit blutdruckwirksamen Medikamenten erfolgten somit die Messungen nicht immer im gleichen zeitlichen Abstand zur Medikamenteneinnahme, was Einfluss auf die Ergebnisse haben kann.

Bei Beobachtung der PWV-Veränderungen fällt eine Streuung der Messwerte auf. Die PWV-Messungen wurden aufgrund des höheren Zeitaufwandes jeweils einmalig durchgeführt, was diesen Effekt erklären könnte. Zudem spielt bei der Erhebung der genannten Parameter der zum Messzeitpunkt aktuelle brachiale Blutdruck eine Rolle, der für die Berechnung einzeitig erhoben wird. Abhängig von der Zeitspanne zwischen peripherer Blutdruckmessung und Aufnahme repräsentativer Pulswellen zur Messung der PWV kann es unter Umständen zu einer kurzfristigen Veränderung des Blutdruckes kommen. Dies würde zu einer Ausgabe verfälschter Messwerte durch das Gerät (*SphygmoCor*®) kommen. Diese Blutdruckschwankungen können durch eine Vielzahl von Determinanten beeinflusst werden. Dazu zählt die Latenz zur Einnahme antihypertensiver Medikamente sowie physischer oder psychischer Stress im zeitlichen Zusammenhang mit der Untersuchung.

Die erhobenen VVP Messwerte unterlagen ebenfalls einer großen Streuung (von $4,27 \pm 2,79$ auf $4,53 \pm 3,41$ %/min), was vermutlich auf die Fehleranfälligkeit der SG-VVP in Bezug auf die Messung des arteriellen Blutflusses zurückzuführen ist. Während der insgesamt dreiminütigen Messaufzeichnung findet lediglich über eine Dauer von 3 Sekunden zu Beginn die Berechnung des arteriellen Einstroms

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

statt. Da einige Patienten Schwierigkeiten hatten, die Beine während der Messung in vollständiger Ruhe in Position zu halten, kam es in einigen Fällen zu unglaublichen Messergebnissen. Darüber hinaus neigt die Anbringung der Sensoren der Dehnungs-Messstreifen am Schienbein mittels Klebefolie zu Artefakten. Insbesondere trockene Haut oder starker Beinbehaarung sind hierfür ursächlich. Die Ergebnisse zum arteriellen Blutstrom der Beine sollten daher im Wissen dieses Umstands betrachtet werden.

Die NIRS-Messungen zur Quantifizierung der transkutanen Sauerstoff-Gewebesättigung wurden aufgrund des gewählten Nachbeobachtungszeitraumes von sechs Monaten zu unterschiedlichen Jahreszeiten mit zum Teil Unterschieden in der Außentemperatur aufgenommen. Es wurde zwar sehr auf die Einhaltung der standardisierten Messbedingungen geachtet, jedoch sind einer Zunahme der Perfusion in den Extremitäten bei hohen Außentemperaturen sowie eine Abnahme durch Vasokonstriktion bei Kälte nicht vollständig auszuschließen.

Die Bestimmung der FMD der Brachialarterie gilt aktuell als Goldstandard zur Beurteilung der endothelialen Funktion. In der vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass eine sechsmonatige Therapie mit einem PCSK9-Inhibitor zu einer signifikanten Verbesserung der FMD führt. Die Aufnahme sowie Auswertung der sonographischen FMD-Aufnahmen unterliegt einer inter- sowie intra-observer Variabilität, was die Aussagekraft einschränkt [222]. In dieser Arbeit wurden zur FMD-Bestimmung die Ultraschall-Aufnahmen sowie die Auswertung mittels separater Software von derselben Person durchgeführt. Zur Minimierung von Messfehlern wurden zudem pro Messzeitpunkt drei Messungen des Brachialarterien-Diameters durchgeführt und ein Mittelwert gebildet. Aufgrund des langen Beobachtungszeitraumes von sechs Monaten waren zudem geringe Veränderungen in der Begleitmedikation der Probanden nicht auszuschließen.

Aufgrund der Covid-19-Pandemie wurden viele der ambulanten Termine in der Lipidambulanz der Uniklinik Düsseldorf verschoben, sodass zum Teil große Unterschiede im Followup-Zeitraum zustande kamen ($7,5 \pm 2,4$ Monate statt geplanten 6 Monaten Followup-Zeit).

4.7 Schlussfolgerung

In dieser Studie sollten die chronischen Effekte einer neu eingeleiteten PCSK9-Inhibitor Therapie auf Makro- und Mikrostrombahn sowie Endothelfunktion untersucht werden.

In kleineren Vorarbeiten wurden bereits pleiotrope Einflüsse von PCSK9-Inhibitoren auf Parameter der Makrozirkulation und Endothelfunktion diskutiert. Das ist die erste Studie, die einen ganzheitlichen, vaskulären Einfluss von PCSK9-Inhibitoren mit Fokus auf die verschiedene Abschnitte des arteriellen Gefäßbaumes bei einem Kollektiv mit überwiegend nicht-FH-Patienten untersucht.

Eine anschließende Studie mit größerem Patientenkollektiv würde die Aussagekraft deutlich erhöhen, sowie gegebenenfalls mehr Hinweise auf pathophysiologische Mechanismen geben können. In dieser Studie gab es lediglich zwei Messzeitpunkte, vor Erstgabe und nach sechs Monaten. Zusätzliche Messzeitpunkte mit kürzeren Intervallen könnten ggf. kurzfristige oder transiente Effekte unter PCSK9-Inhibitor Therapie aufdecken. Ebenso wäre ein längerer Beobachtungszeitraum von wissenschaftlichem Interesse, um längerfristige und ggf. andauernde Effekte auf die vaskulären Parameter zu untersuchen.

Insbesondere Patienten mit familiärer Hypercholesterinämie, die bereits im jungen Alter ein stark erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse haben, könnten von möglichen pleiotropen Effekten einer PCSK9-Inhibitor Therapie profitieren. Zudem ergaben sich Hinweise, dass eine Kombinationstherapie von PCSK9-Inhibitoren und Statinen über den LDL-senkenden Effekt hinaus noch weitere vaskuloprotektive auf Parameter der arteriellen Gefäßsteifigkeit sowie der Endothelfunktion haben könnte. Diese Beobachtung bekräftigt den bereits empfohlenen Ansatz, falls es von Patienten vertragen wird, zusätzlich zur PCSK9-Inhibitor Therapie additiv ein Statinpräparat zu geben.

Die klinische Sicherheit einer langfristigen Einnahme von Evolocumab und Alirocumab wurden bereits mehrfach in großen Studien bestätigt. PCSK9-Inhibitoren stellen eine relativ neue therapeutische Option zur Senkung des LDL-Cholesterins in Bereiche dar, die zuvor nicht erreichbar schienen. Entsprechend des aktuellen Expertenkonsenses bezüglich der LDL-Cholesterin Zielwerte in der

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

Sekundärprävention („*the lowest, the best*“) stellen PCSK9-Inhibitoren somit eine vielversprechende Therapieoption dar.

In Zusammenschau der Ergebnisse dieser Arbeit gibt es Hinweise, dass PCSK9-Inhibitoren bei günstigem Nebenwirkungsprofil auch langfristig signifikant positive Auswirkungen auf die verschiedenen Abschnitte des kardiovaskulären Systems im Sinne der Makro-, Mikrostrombahn und Endothelfunktion haben. Diese Beobachtung kann somit den Einsatz von PCSK9-Inhibitoren im klinischen Alltag sowohl in der Primär- als auch in der Sekundärprävention kardivaskulärer Ereignisse unterstützen, insbesondere in der Kombinationstherapie mit einem Statinpräparat.

5 Literaturverzeichnis

1. Schremmer, J., et al., *Chronic PCSK9 inhibitor therapy leads to sustained improvements in endothelial function, arterial stiffness, and microvascular function*. *Microvascular Research*, 2023: p. 104513.
2. World Health Organization, World Heart Federation, and W.S. Organization, *Global atlas on cardiovascular disease prevention and control*. Geneva, Switzerland: WHO, 2012.
3. Organization, W.H., *World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases 2010*. . Geneva, Switzerland: WHO, 2011.
4. Benjamin, E.J., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics-2017 Update: A Report From the American Heart Association*. *Circulation*, 2017. **135**(10): p. e146-e603.
5. Benjamin, E.J., et al., *Heart Disease and Stroke Statistics 2019 Update: A Report From the American Heart Association*. *Circulation*, 2019. **139**(10): p. e56-e528.
6. Geneva, W.H.O., *Global Health Estimates 2020: Deaths by Cause, Age, Sex, by Country and by Region, 2000-2019*. 2020.
7. (Destatis), S.B., *Tabelle: Anzahl der Gestorbenen nach Kapiteln der ICD-10 und nach Geschlecht für 2019*. https://www.destatis.de/DE/Themen/Gesellschaft-Umwelt/Gesundheit/Todesursachen/Tabellen/gestorbene_anzahl.html, Stand 30.11.2020, zuletzt aufgerufen am 30.06.2021, 2020.
8. Vogt, A., *The genetics of familial hypercholesterolemia and emerging therapies*. *The application of clinical genetics*, 2015. **8**: p. 27-36.
9. Nordestgaard, B.G., et al., *Familial hypercholesterolaemia is underdiagnosed and undertreated in the general population: guidance for clinicians to prevent coronary heart disease: consensus statement of the European Atherosclerosis Society*. *European heart journal*, 2013. **34**(45): p. 3478-90a.
10. Ferranti, S.D.d., et al., *Prevalence of Familial Hypercholesterolemia in the 1999 to 2012 United States National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES)*. *Circulation*, 2016. **133**(11): p. 1067-1072.
11. Santos, R.D., et al., *Defining severe familial hypercholesterolaemia and the implications for clinical management: a consensus statement from the International Atherosclerosis Society Severe Familial Hypercholesterolemia Panel*. *The Lancet Diabetes & Endocrinology*, 2016. **4**(10): p. 850-861.
12. Cuchel, M., et al., *Homozygous familial hypercholesterolaemia: new insights and guidance for clinicians to improve detection and clinical management. A position paper from the Consensus Panel on Familial Hypercholesterolaemia of the European Atherosclerosis Society*. *European heart journal*, 2014. **35**(32): p. 2146-2157.
13. Mach, F., et al., *2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: lipid modification to reduce cardiovascular risk: The Task Force for the management of dyslipidaemias of the European Society of Cardiology (ESC) and European Atherosclerosis Society (EAS)*. *European Heart Journal*, 2019.
14. Stone, N.J., et al., *2013 ACC/AHA Guideline on the Treatment of Blood Cholesterol to Reduce Atherosclerotic Cardiovascular Risk in Adults: A*

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

-
- Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines. Journal of the American College of Cardiology, 2014. 63(25, Part B): p. 2889-2934.*
15. Organization, W.H., *The European health report 2012: Charting the way to well-being.* Copenhagen: WHO, 2012.
 16. Assmann, G., P. Cullen, and H. Schulte, *Simple Scoring Scheme for Calculating the Risk of Acute Coronary Events Based on the 10-Year Follow-Up of the Prospective Cardiovascular Münster (PROCAM) Study.* Circulation, 2002. **105**(3): p. 310-315.
 17. Tabas, I., K.J. Williams, and J. Borén, *Subendothelial Lipoprotein Retention as the Initiating Process in Atherosclerosis.* Circulation, 2007. **116**(16): p. 1832-1844.
 18. Borén, J. and K.J. Williams, *The central role of arterial retention of cholesterol-rich apolipoprotein-B-containing lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis: a triumph of simplicity.* Current Opinion in Lipidology, 2016. **27**(5).
 19. Laslett, L.J., et al., *The Worldwide Environment of Cardiovascular Disease: Prevalence, Diagnosis, Therapy, and Policy Issues. A Report From the American College of Cardiology, 2012.* **60**(25 Supplement): p. S1-S49.
 20. Cholesterol Treatment Trialists, C., *Efficacy and safety of more intensive lowering of LDL cholesterol: a meta-analysis of data from 170 000 participants in 26 randomised trials.* The Lancet, 2010. **376**(9753): p. 1670-1681.
 21. Silverman, M.G., et al., *Association Between Lowering LDL-C and Cardiovascular Risk Reduction Among Different Therapeutic Interventions: A Systematic Review and Meta-analysis.* JAMA, 2016. **316**(12): p. 1289-1297.
 22. Holmes, M.V., et al., *Mendelian randomization of blood lipids for coronary heart disease.* European heart journal, 2015. **36**(9): p. 539-550.
 23. Ference, B.A., et al., *Effect of Long-Term Exposure to Lower Low-Density Lipoprotein Cholesterol Beginning Early in Life on the Risk of Coronary Heart Disease: A Mendelian Randomization Analysis.* Journal of the American College of Cardiology, 2012. **60**(25): p. 2631-2639.
 24. Navarese, E.P., et al., *Baseline low-density lipoprotein cholesterol to predict the extent of cardiovascular benefit from lipid-lowering therapies: a review.* Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother, 2019. **5**(1): p. 47-54.
 25. Enas, E.A., et al., *Lipoprotein(a): An independent, genetic, and causal factor for cardiovascular disease and acute myocardial infarction.* Indian Heart J, 2019. **71**(2): p. 99-112.
 26. Nordestgaard, B.G., et al., *Lipoprotein(a) as a cardiovascular risk factor: current status.* European heart journal, 2010. **31**(23): p. 2844-2853.
 27. van der Valk, F.M., et al., *Oxidized Phospholipids on Lipoprotein(a) Elicit Arterial Wall Inflammation and an Inflammatory Monocyte Response in Humans.* Circulation, 2016. **134**(8): p. 611-624.
 28. Schmidt, K., et al., *Structure, function, and genetics of lipoprotein (a).* Journal of lipid research, 2016. **57**(8): p. 1339-1359.
 29. Clarke, R., et al., *Genetic variants associated with Lp(a) lipoprotein level and coronary disease.* N Engl J Med, 2009. **361**(26): p. 2518-28.
 30. Kamstrup, P.R., et al., *Genetically elevated lipoprotein(a) and increased risk of myocardial infarction.* JAMA, 2009. **301**(22): p. 2331-9.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

31. Kamstrup, P.R., et al., *Extreme lipoprotein(a) levels and risk of myocardial infarction in the general population: the Copenhagen City Heart Study*. *Circulation*, 2008. **117**(2): p. 176-184.
32. Bauters, C., et al., *Reaching low-density lipoprotein cholesterol treatment targets in stable coronary artery disease: Determinants and prognostic impact*. *Archives of Cardiovascular Diseases*, 2018. **111**(11): p. 634-643.
33. Scandinavian Simvastatin Survival Study, G., *Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S)*. *The Lancet*, 1994. **344**(8934): p. 1383-1389.
34. Masana, L., et al., *Clinical and pathophysiological evidence supporting the safety of extremely low LDL levels-The zero-LDL hypothesis*. *J Clin Lipidol*, 2018. **12**(2): p. 292-299 e3.
35. Raichlen, D.A., et al., *Physical activity patterns and biomarkers of cardiovascular disease risk in hunter-gatherers*. *Am J Hum Biol*, 2017. **29**(2): p. e22919.
36. Sorrentino, V., et al., *Identification of a loss-of-function inducible degrader of the low-density lipoprotein receptor variant in individuals with low circulating low-density lipoprotein*. *European Heart Journal*, 2013. **34**(17): p. 1292-1297.
37. Zhao, Z., et al., *Molecular characterization of loss-of-function mutations in PCSK9 and identification of a compound heterozygote*. *American journal of human genetics*, 2006. **79**(3): p. 514-523.
38. Alberts, A.W., et al., *Mevinolin: a highly potent competitive inhibitor of hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent*. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1980. **77**(7): p. 3957-61.
39. Ford, I., et al., *Long-Term Safety and Efficacy of Lowering Low-Density Lipoprotein Cholesterol With Statin Therapy: 20-Year Follow-Up of West of Scotland Coronary Prevention Study*. *Circulation*, 2016. **133**(11): p. 1073-80.
40. Group, L.-T.I.w.P.i.I.D.L.S., *Prevention of cardiovascular events and death with pravastatin in patients with coronary heart disease and a broad range of initial cholesterol levels*. *N Engl J Med*, 1998. **339**(19): p. 1349-57.
41. Sacks, F.M., et al., *The effect of pravastatin on coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events Trial investigators*. *N Engl J Med*, 1996. **335**(14): p. 1001-9.
42. Shepherd, J., et al., *Prevention of coronary heart disease with pravastatin in men with hypercholesterolemia. West of Scotland Coronary Prevention Study Group*. *N Engl J Med*, 1995. **333**(20): p. 1301-7.
43. Group, H.P.S.C., *MRC/BHF Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20 536 high-risk individuals: a randomised placebocontrolled trial*. *The Lancet*, 2002. **360**(9326): p. 7-22.
44. Ford, I., et al., *Long-term follow-up of the West of Scotland Coronary Prevention Study*. *N Engl J Med*, 2007. **357**(15): p. 1477-86.
45. Group, L.-T.I.w.P.i.I.D.L.S., *Long-term effectiveness and safety of pravastatin in 9014 patients with coronary heart disease and average cholesterol concentrations: the LIPID trial follow-up*. *Lancet*, 2002. **359**(9315): p. 1379-87.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

46. Endres, M., et al., *Stroke protection by 3-hydroxy-3-methylglutaryl (HMG)-CoA reductase inhibitors mediated by endothelial nitric oxide synthase*. Proc Natl Acad Sci U S A, 1998. **95**(15): p. 8880-5.
47. Kostner, G.M., et al., *HMG CoA reductase inhibitors lower LDL cholesterol without reducing Lp(a) levels*. Circulation, 1989. **80**(5): p. 1313-9.
48. Sahebkar, A., et al., *Effects of statin therapy on augmentation index as a measure of arterial stiffness: A systematic review and meta-analysis*. International Journal of Cardiology, 2016. **212**: p. 160-168.
49. D'elia, L., et al., *Effect of statin therapy on pulse wave velocity: A meta-analysis of randomized controlled trials*. Clinical and Experimental Hypertension, 2018. **40**(7): p. 601-608.
50. Frick, M., et al., *Short- and long-term changes of flow-mediated vasodilation in patients under statin therapy*. J Clin Cardiol, 2002. **25**(6): p. 291-294.
51. O'Driscoll, G., D. Green, and R.R. Taylor, *Simvastatin, an HMG-coenzyme A reductase inhibitor, improves endothelial function within 1 month*. Circulation, 1997. **95**(5): p. 1126-31.
52. Reriani, M.K., et al., *Effects of statins on coronary and peripheral endothelial function in humans: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. European Journal of Cardiovascular Prevention and Rehabilitation, 2011. **18**(5): p. 704-716.
53. Williams, B., et al., *Impact of Statin Therapy on Central Aortic Pressures and Hemodynamics*. Hypertension, 2009. **119**(1): p. 53-61.
54. Ichihara, A., et al., *Long-term effects of statins on arterial pressure and stiffness of hypertensives*. Journal of Human Hypertension, 2005. **19**(2): p. 103-109.
55. Laufs, U., et al., *Upregulation of Endothelial Nitric Oxide Synthase by HMG CoA Reductase Inhibitors*. Circulation, 1998. **97**(12): p. 1129-1135.
56. Gong, X., et al., *Long-term atorvastatin improves age-related endothelial dysfunction by ameliorating oxidative stress and normalizing eNOS/iNOS imbalance in rat aorta*. Exp Gerontol, 2014. **52**: p. 9-17.
57. Plenge, J.K., et al., *Simvastatin Lowers C-Reactive Protein Within 14 Days*. Circulation, 2002. **106**(12): p. 1447-1452.
58. Rasmussen, L.M., et al., *Diverse effects of inhibition of 3-hydroxy-3-methylglutaryl-CoA reductase on the expression of VCAM-1 and E-selectin in endothelial cells*. The Biochemical journal, 2001. **360**(Pt 2): p. 363-370.
59. Chung, H.K., et al., *Statin inhibits interferon- γ -induced expression of intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) in vascular endothelial and smooth muscle cells*. Experimental & Molecular Medicine, 2002. **34**(6): p. 451-461.
60. Ridker, P.M., et al., *Long-term effects of pravastatin on plasma concentration of C-reactive protein. The Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators*. Circulation, 1999. **100**(3): p. 230-5.
61. Massaro, M., et al., *Statins inhibit cyclooxygenase-2 and matrix metalloproteinase-9 in human endothelial cells: anti-angiogenic actions possibly contributing to plaque stability*. Cardiovasc Res, 2010. **86**(2): p. 311-20.
62. Bruckert, E., et al., *Mild to moderate muscular symptoms with high-dosage statin therapy in hyperlipidemic patients--the PRIMO study*. Cardiovasc Drugs Ther, 2005. **19**(6): p. 403-14.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

63. Nelson, A.J., N.J. Pagidipati, and C.B. Granger, *The SAMSON trial: using a placebo to improve medication tolerability*. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother, 2021. **7**(3): p. e13.
64. Kristiansen, O., et al., *Effect of atorvastatin on muscle symptoms in coronary heart disease patients with self-perceived statin muscle side effects: a randomized, double-blinded crossover trial*. Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother, 2021. **7**(6): p. 507-516.
65. Law, M. and A.R. Rudnicka, *Statin safety: a systematic review*. Am J Cardiol, 2006. **97**(8a): p. 52c-60c.
66. Collins, R., et al., *Interpretation of the evidence for the efficacy and safety of statin therapy*. Lancet, 2016. **388**(10059): p. 2532-2561.
67. Pandor, A., et al., *Ezetimibe monotherapy for cholesterol lowering in 2,722 people: systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials*. Journal of internal medicine, 2009. **265**(5): p. 568-580.
68. Cannon, C.P., et al., *Ezetimibe Added to Statin Therapy after Acute Coronary Syndromes*. N Engl J Med, 2015. **372**(25): p. 2387-2397.
69. Zhang, L., et al., *Meta-analysis of the effects of statin therapy on endothelial function in patients with diabetes mellitus*. Atherosclerosis, 2012. **223**(1): p. 78-85.
70. Westerink, J., et al., *High-dose statin monotherapy versus low-dose statin/ezetimibe combination on fasting and postprandial lipids and endothelial function in obese patients with the metabolic syndrome: The PANACEA study*. Atherosclerosis, 2013. **227**(1): p. 118-24.
71. Ye, Y., et al., *Effect of high-dose statin versus low-dose statin plus ezetimibe on endothelial function: a meta-analysis of randomized trials*. J Cardiovasc Pharmacol Ther, 2012. **17**(4): p. 357-65.
72. Horton, J.D., J.C. Cohen, and H.H. Hobbs, *PCSK9: a convertase that coordinates LDL catabolism*. J Lipid Res, 2009. **50** Suppl: p. S172-7.
73. Anderson, T.J., et al., *Microvascular function predicts cardiovascular events in primary prevention: long-term results from the Firefighters and Their Endothelium (FATE) study*. Circulation, 2011. **123**(2): p. 163-9.
74. Zhu, Y.M., et al., *Association of Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) With Cardiovascular Risk in Primary Prevention*. Arterioscler Thromb Vasc Biol, 2015. **35**(10): p. 2254-9.
75. Leucker, T., et al., *Evolocumab rapidly reverses impaired coronary endothelial function in six weeks in people living with HIV and in patients with dyslipidemia*. European Heart Journal, 2019. **40**(Supplement_1).
76. Leander, K., et al., *Circulating Proprotein Convertase Subtilisin/Kexin Type 9 (PCSK9) Predicts Future Risk of Cardiovascular Events Independently of Established Risk Factors*. 2016. **133**(13): p. 1230-1239.
77. Nozue, T., *Lipid Lowering Therapy and Circulating PCSK9 Concentration*. Journal of atherosclerosis and thrombosis, 2017. **24**(9): p. 895-907.
78. Robinson, J.G., et al., *Efficacy and safety of alirocumab in reducing lipids and cardiovascular events*. N Engl J Med, 2015. **372**(16): p. 1489-99.
79. Blom, D.J., et al., *A 52-week placebo-controlled trial of evolocumab in hyperlipidemia*. N Engl J Med, 2014. **370**(19): p. 1809-19.
80. Giugliano, R.P., et al., *Clinical efficacy and safety of achieving very low LDL-cholesterol concentrations with the PCSK9 inhibitor evolocumab: a prespecified secondary analysis of the FOURIER trial*. The Lancet, 2017. **390**(10106): p. 1962-1971.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

81. Nissen, S.E., et al., *Efficacy and Tolerability of Evolocumab vs Ezetimibe in Patients With Muscle-Related Statin Intolerance: The GAUSS-3 Randomized Clinical Trial*. JAMA, 2016. **315**(15): p. 1580-90.
82. Sullivan, D., et al., *Effect of a monoclonal antibody to PCSK9 on low-density lipoprotein cholesterol levels in statin-intolerant patients: the GAUSS randomized trial*. JAMA, 2012. **308**(23): p. 2497-506.
83. Schmidt, A.F., et al., *PCSK9 monoclonal antibodies for the primary and secondary prevention of cardiovascular disease*. The Cochrane database of systematic reviews, 2017. **4**(4): p. CD011748-CD011748.
84. Gaudet, D., et al., *Effect of alirocumab, a monoclonal proprotein convertase subtilisin/kexin 9 antibody, on lipoprotein(a) concentrations (a pooled analysis of 150 mg every two weeks dosing from phase 2 trials)*. The American journal of cardiology, 2014. **114**(5): p. 711-715.
85. Raal, F.J., et al., *Reduction in lipoprotein(a) with PCSK9 monoclonal antibody evolocumab (AMG 145): a pooled analysis of more than 1,300 patients in 4 phase II trials*. Journal of the American College of Cardiology, 2014. **63**(13): p. 1278-1288.
86. Schwartz, G.G., et al., *Effect of alirocumab, a monoclonal antibody to PCSK9, on long-term cardiovascular outcomes following acute coronary syndromes: Rationale and design of the ODYSSEY Outcomes trial*. American Heart Journal, 2014. **168**(5): p. 682-689.e1.
87. Schwartz, G.G., et al., *Alirocumab and Cardiovascular Outcomes after Acute Coronary Syndrome*. N Engl J Med, 2018. **379**(22): p. 2097-2107.
88. Kuhnast, S., et al., *Alirocumab inhibits atherosclerosis, improves the plaque morphology, and enhances the effects of a statin*. J Lipid Res, 2014. **55**(10): p. 2103-12.
89. Nissen, S.E. and S.J. Nicholls, *Results of the GLAGOV trial*. Cleve Clin J Med, 2017. **84**(12 Suppl 4): p. e1-e5.
90. Thedrez, A., et al., *Homozygous Familial Hypercholesterolemia Patients With Identical Mutations Variably Express the LDLR (Low-Density Lipoprotein Receptor): Implications for the Efficacy of Evolocumab*. Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology, 2018. **38**(3): p. 592-598.
91. Ross, R., *The pathogenesis of atherosclerosis: a perspective for the 1990s*. Nature, 1993. **362**(6423): p. 801-809.
92. Egan, B.M., et al., *Hypertension in the United States, 1999 to 2012: progress toward Healthy People 2020 goals*. Circulation, 2014. **130**(19): p. 1692-1699.
93. Mitchell, G.F., et al., *Cross-sectional correlates of increased aortic stiffness in the community: the Framingham Heart Study*. Circulation, 2007. **115**(20): p. 2628-36.
94. McEniery, C.M., et al., *The Impact of Cardiovascular Risk Factors on Aortic Stiffness and Wave Reflections Depends on Age*. Hypertension, 2010. **56**(4): p. 591-597.
95. Kozakova, M., et al., *The impact of age and risk factors on carotid and carotid-femoral pulse wave velocity*. Journal of hypertension, 2015. **33**(7): p. 1446-1451.
96. Cecelja, M. and P. Chowienczyk, *Dissociation of aortic pulse wave velocity with risk factors for cardiovascular disease other than hypertension: a systematic review*. Hypertension (Dallas, Tex. : 1979), 2009. **54**(6): p. 1328-1336.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

97. Tousoulis, D., M. Charakida, and C. Stefanadis, *Endothelial function and inflammation in coronary artery disease*. Heart (British Cardiac Society), 2006. **92**(4): p. 441-444.
98. Libby, P., *Inflammation in atherosclerosis*. Nature, 2002. **420**(6917): p. 868-874.
99. Li, J., et al., *Association of cigarette smoking with radial augmentation index: the Circulatory Risk in Communities Study (CIRCS)*. Hypertens Res, 2018. **41**(12): p. 1054-1062.
100. Nurnberger, J., et al., *Augmentation index is associated with cardiovascular risk*. J Hypertens, 2002. **20**(12): p. 2407-14.
101. Weber, T., et al., *Increased arterial wave reflections predict severe cardiovascular events in patients undergoing percutaneous coronary interventions*. Eur Heart J, 2005. **26**(24): p. 2657-63.
102. Sutton-Tyrrell, K., et al., *Elevated aortic pulse wave velocity, a marker of arterial stiffness, predicts cardiovascular events in well-functioning older adults*. Circulation, 2005. **111**(25): p. 3384-3390.
103. Laurent, S., et al., *Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients*. Hypertension, 2001. **37**(5): p. 1236-41.
104. Siafaka, A., et al., *Acute effects of smoking on skeletal muscle microcirculation monitored by near-infrared spectroscopy*. Chest, 2007. **131**(5): p. 1479-85.
105. Sörensen, B.M., et al., *Cardiovascular risk factors as determinants of retinal and skin microvascular function: The Maastricht Study*. PloS one, 2017. **12**(10): p. e0187324-e0187324.
106. Shah, S.J., et al., *Prevalence and correlates of coronary microvascular dysfunction in heart failure with preserved ejection fraction: PROMIS-HFpEF*. European heart journal, 2018. **39**(37): p. 3439-3450.
107. Zafrani, L. and C. Ince, *Microcirculation in Acute and Chronic Kidney Diseases*. American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation, 2015. **66**(6): p. 1083-1094.
108. Gupta, A. and S. Bhatnagar, *Vasoregression: A Shared Vascular Pathology Underlying Macrovascular And Microvascular Pathologies?* Omics : a journal of integrative biology, 2015. **19**(12): p. 733-753.
109. Knottnerus, I.L.H., et al., *Endothelial dysfunction in lacunar stroke: a systematic review*. Cerebrovascular diseases (Basel, Switzerland), 2009. **27**(5): p. 519-526.
110. Santos, M., et al., *Microvascular pathology in late-life depression*. Journal of the neurological sciences, 2012. **322**(1-2): p. 46-49.
111. Tousoulis, D., et al., *Endothelial dysfunction in conduit arteries and in microcirculation. Novel therapeutic approaches*. Pharmacology & therapeutics, 2014. **144**(3): p. 253-267.
112. Anderson, T.J., *Assessment and treatment of endothelial dysfunction in humans*. Journal of the American College of Cardiology, 1999. **34**(3): p. 631-638.
113. Mayer, B., et al., *Biosynthesis of endothelium-derived relaxing factor: A cytosolic enzyme in porcine aortic endothelial cells Ca²⁺-dependently converts L-arginine into an activator of soluble guanylyl cyclase*. Biochemical and Biophysical Research Communications, 1989. **164**(2): p. 678-685.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

114. Palmer, R.M.J., D.S. Ashton, and S. Moncada, *Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine*. *Nature*, 1988. **333**(6174): p. 664-666.
115. Ignarro, L.J., et al., *Endothelium-derived relaxing factor produced and released from artery and vein is nitric oxide*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1987. **84**(24): p. 9265-9269.
116. Furchgott, R.F. and J.V. Zawadzki, *The obligatory role of endothelial cells in the relaxation of arterial smooth muscle by acetylcholine*. *Nature*, 1980. **288**(5789): p. 373-6.
117. Moncada, S. and A. Higgs, *The L-Arginine-Nitric Oxide Pathway*. *N Engl J Med*, 1993. **329**(27): p. 2002-2012.
118. Förstermann, U. and W.C. Sessa, *Nitric oxide synthases: regulation and function*. *European heart journal*, 2012. **33**(7): p. 829-837d.
119. Fuster, V., et al., *The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes (2)*. *N Engl J Med*, 1992. **326**(5): p. 310-318.
120. Trepels, T., A.M. Zeiher, and S. Fichtlscherer, *The Endothelium and Inflammation*. *Endothelium*, 2006. **13**(6): p. 423-429.
121. Kelm, M. and B.E. Strauer, *Endotheliale Dysfunktion: Therapeutische und prognostische Relevanz*. *Der Internist*, 1999. **40**(12): p. 1300-1307.
122. Kelm, M. and J. Rath, *Endothelial dysfunction in human coronary circulation: relevance of the L-arginine-NO pathway*. *J Basic Research in Cardiology*, 2001. **96**(2): p. 107-127.
123. Panza, J.A., et al., *Abnormal Endothelium-Dependent Vascular Relaxation in Patients with Essential Hypertension*. *N Engl J Med*, 1990. **323**(1): p. 22-27.
124. Hink, U., et al., *Mechanisms Underlying Endothelial Dysfunction in Diabetes Mellitus*. 2001. **88**(2): p. e14-e22.
125. Rizzoni, D., et al., *Structural Alterations in Subcutaneous Small Arteries of Normotensive and Hypertensive Patients With Non-Insulin-Dependent Diabetes Mellitus*. *Circulation*, 2001. **103**(9): p. 1238-1244.
126. Bolton, C.H., et al., *Endothelial dysfunction in chronic renal failure: roles of lipoprotein oxidation and pro-inflammatory cytokines*. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2001. **16**(6): p. 1189-1197.
127. Landmesser, U., et al., *Vascular Oxidative Stress and Endothelial Dysfunction in Patients With Chronic Heart Failure*. *Circulation*, 2002. **106**(24): p. 3073-3078.
128. Engler, M.M., et al., *Antioxidant Vitamins C and E Improve Endothelial Function in Children With Hyperlipidemia*. *Circulation*, 2003. **108**(9): p. 1059-1063.
129. Ceriello, A., et al., *Effect of Postprandial Hypertriglyceridemia and Hyperglycemia on Circulating Adhesion Molecules and Oxidative Stress Generation and the Possible Role of Simvastatin Treatment*. *Diabetes*, 2004. **53**(3): p. 701-710.
130. Fuster, V., et al., *The Pathogenesis of Coronary Artery Disease and the Acute Coronary Syndromes (1)*. *N Engl J Med*, 1992. **326**(4): p. 242-250.
131. Manganaro, A., et al., *Endothelial Dysfunction in Patients With Coronary Artery Disease: Insights From a Flow-Mediated Dilatation Study*. *Sage Journals*, 2014. **20**(6): p. 583-588.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

132. Bush, D.E., et al., *Estrogen Replacement Reverses Endothelial Dysfunction in Postmenopausal Women*. The American Journal of Medicine, 1998. **104**(6): p. 552-558.
133. Toborek, M. and S. Kaiser, *Endothelial cell functions. Relationship to atherogenesis*. J Basic Research in Cardiology, 1999. **94**(5): p. 295-314.
134. Lee, R., K.M. Channon, and C. Antoniades, *Therapeutic strategies targeting endothelial function in humans: clinical implications*. Curr Vasc Pharmacol, 2012. **10**(1): p. 77-93.
135. Taddei, S., et al., *Age-Related Reduction of NO Availability and Oxidative Stress in Humans*. Hypertension, 2001. **38**(2): p. 274-279.
136. Cai, H. and D.G. Harrison, *Endothelial Dysfunction in Cardiovascular Diseases: The Role of Oxidant Stress*. Circulation Res, 2000. **87**(10): p. 840-844.
137. Malek, A.M., S.L. Alper, and S. Izumo, *Hemodynamic Shear Stress and Its Role in Atherosclerosis*. JAMA, 1999. **282**(21): p. 2035-2042.
138. Reddy, K.G., et al., *Evidence that selective endothelial dysfunction may occur in the absence of angiographic or ultrasound atherosclerosis in patients with risk factors for atherosclerosis*. Journal of the American College of Cardiology, 1994. **23**(4): p. 833-843.
139. Anderson, T.J., et al., *Systemic nature of endothelial dysfunction in atherosclerosis*. The American Journal of Cardiology, 1995. **75**(6, Supplement 1): p. 71B-74B.
140. Gokce, N., et al., *Predictive value of noninvasively determined endothelial dysfunction for long-term cardiovascular events in patients with peripheral vascular disease*. Journal of the American College of Cardiology, 2003. **41**(10): p. 1769-1775.
141. Ludmer, P.L., et al., *Paradoxical Vasoconstriction Induced by Acetylcholine in Atherosclerotic Coronary Arteries*. N Engl J Med, 1986. **315**(17): p. 1046-1051.
142. Halcox, J.P.J., et al., *Prognostic Value of Coronary Vascular Endothelial Dysfunction*. Circulation, 2002. **106**(6): p. 653-658.
143. Schächinger, V., M.B. Britten, and A.M. Zeiher, *Prognostic Impact of Coronary Vasodilator Dysfunction on Adverse Long-Term Outcome of Coronary Heart Disease*. Circulation, 2000. **101**(16): p. 1899-1906.
144. Suwaidi, J.A., et al., *Long-Term Follow-Up of Patients With Mild Coronary Artery Disease and Endothelial Dysfunction*. Circulation, 2000. **101**(9): p. 948-954.
145. Heiss, C., et al., *Impact of cocoa flavanol intake on age-dependent vascular stiffness in healthy men: a randomized, controlled, double-masked trial*. Age (Dordrecht, Netherlands), 2015. **37**(3): p. 9794-9794.
146. Wilkinson, I.B., et al., *Reproducibility of pulse wave velocity and augmentation index measured by pulse wave analysis*. J Hypertens, 1998. **16**(12 Pt 2): p. 2079-84.
147. Hayward, C.S., et al., *Assessment of endothelial function using peripheral waveform analysis. A clinical application*, 2002. **40**(3): p. 521-528.
148. Karamanoglu, M., et al., *An analysis of the relationship between central aortic and peripheral upper limb pressure waves in man*. European Heart Journal, 1993. **14**(2): p. 160-167.
149. Pauca, A.L., M.F. O'Rourke, and N.D. Kon, *Prospective Evaluation of a Method for Estimating Ascending Aortic Pressure From the Radial Artery Pressure Waveform*. Hypertension, 2001. **38**(4): p. 932-937.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

150. Roman, M.J., et al., *Central Pressure More Strongly Relates to Vascular Disease and Outcome Than Does Brachial Pressure*. *Hypertension*, 2007. **50**(1): p. 197-203.
151. Baulmann, J., et al., *Arterielle Gefäßsteifigkeit und Pulswellenanalyse: Positionspapier zu Grundlagen, Methodik, Beeinflussbarkeit und Ergebnisinterpretation*. *Deutsche Medizinische Wochenschrift*, 2010.
152. van den Wijngaard, J.P.H.M., M. Siebes, and B.E. Westerhof, *Comparison of arterial waves derived by classical wave separation and wave intensity analysis in a model of aortic coarctation*. *Medical & Biological Engineering & Computing*, 2009. **47**(2): p. 211-220.
153. McEniery, C.M., et al., *Normal Vascular Aging: Differential Effects on Wave Reflection and Aortic Pulse Wave Velocity: The Anglo-Cardiff Collaborative Trial (ACCT)*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2005. **46**(9): p. 1753-1760.
154. Bramwell, J.C. and A.V. Hill, *Velocity of Transmission of the Pulse-Wave and Elasticity of Arteries*. *The Lancet*, 1922. **199**(5149): p. 891-892.
155. Van Bortel, L.M., et al., *Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity*. *J Hypertens*, 2012. **30**(3): p. 445-8.
156. Sharman, J., P. Boutouyrie, and S. Laurent, *Arterial (Aortic) Stiffness in Patients with Resistant Hypertension: from Assessment to Treatment*. *Current Hypertension Reports*, 2017. **19**.
157. Rosfors, S., L.M. Persson, and L. Blomgren, *Computerized Venous Strain-gauge Plethysmography is a Reliable Method for Measuring Venous Function*. *European Journal of Vascular and Endovascular Surgery*, 2014. **47**(1): p. 81-86.
158. ELCAT GmbH, W., *Plethysmographische Applikationen (vasolab 320)*.
159. Stern, M., et al., *Microvascular tissue perfusion after postcatheterization pseudoaneurysm treatment*. *Clin Hemorheol Microcirc*, 2022.
160. Jalil, B., et al., *Assessment of hand superficial oxygenation during ischemia/reperfusion in healthy subjects versus systemic sclerosis patients by 2D near infrared spectroscopic imaging*. *Comput Methods Programs Biomed*, 2018. **155**: p. 101-108.
161. Joannides, R., et al., *Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo*. *Circulation*, 1995. **91**(5): p. 1314-9.
162. Matsuzawa, Y., et al., *Prognostic Value of Flow-Mediated Vasodilation in Brachial Artery and Fingertip Artery for Cardiovascular Events: A Systematic Review and Meta-Analysis*. *J Am Heart Assoc*, 2015. **4**(11).
163. Green, D.J., et al., *Flow-Mediated Dilatation and Cardiovascular Event Prediction*. *Hypertension*, 2011. **57**(3): p. 363-369.
164. Inaba, Y., J.A. Chen, and S.R. Bergmann, *Prediction of future cardiovascular outcomes by flow-mediated vasodilatation of brachial artery: a meta-analysis*. *The International Journal of Cardiovascular Imaging*, 2010. **26**(6): p. 631-640.
165. Brevetti, G., et al., *Endothelial dysfunction and cardiovascular risk prediction in peripheral arterial disease: additive value of flow-mediated dilatation to ankle-brachial pressure index*. *Circulation*, 2003. **108**(17): p. 2093-8.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

166. Thijssen, D.H.J., et al., *Expert consensus and evidence-based recommendations for the assessment of flow-mediated dilation in humans*. Eur Heart J, 2019. **40**(30): p. 2534-2547.
167. Mabuchi, H. and A. Nohara, *Therapy: PCSK9 inhibitors for treating familial hypercholesterolaemia*. Nat Rev Endocrinol, 2015. **11**(1): p. 8-9.
168. Dufour, R., et al., *Open-label therapy with alirocumab in patients with heterozygous familial hypercholesterolemia: Results from three years of treatment*. Int J Cardiol, 2017. **228**: p. 754-760.
169. Raal, F.J., et al., *Reduction in lipoprotein(a) with PCSK9 monoclonal antibody evolocumab (AMG 145): a pooled analysis of more than 1,300 patients in 4 phase II trials*. J Am Coll Cardiol, 2014. **63**(13): p. 1278-1288.
170. Gaudet, D., et al., *Effect of alirocumab, a monoclonal proprotein convertase subtilisin/kexin 9 antibody, on lipoprotein(a) concentrations (a pooled analysis of 150 mg every two weeks dosing from phase 2 trials)*. Am J Cardiol, 2014. **114**(5): p. 711-5.
171. Scicali, R., et al., *Analysis of Arterial Stiffness and Sexual Function after Adding on PCSK9 Inhibitor Treatment in Male Patients with Familial Hypercholesterolemia: A Single Lipid Center Real-World Experience*. Journal of clinical medicine, 2020. **9**(11): p. 3597.
172. Mandraffino, G., et al., *Arterial stiffness improvement after adding on PCSK9 inhibitors or ezetimibe to high-intensity statins in patients with familial hypercholesterolemia: A Two-Lipid Center Real-World Experience*. Journal of Clinical Lipidology, 2020. **14**(2): p. 231-240.
173. Cicero, A.F.G., et al., *Improvement in arterial stiffness after short-term treatment with PCSK9 inhibitors*. Nutr Metab Cardiovasc Dis, 2019. **29**(5): p. 527-529.
174. Mauro, F., et al., *Effects of a short-term alirocumab administration on the aortic stiffness: preliminary results*. Journal of Geriatric Cardiology : JGC, 2019. **16**(10): p. 782-784.
175. Kanaki, A.I., et al., *Effects of Low-Dose Atorvastatin on Arterial Stiffness and Central Aortic Pressure Augmentation in Patients With Hypertension and Hypercholesterolemia*. American Journal of Hypertension, 2013. **26**(5): p. 608-616.
176. Lamarche, F., et al., *Central and Brachial Blood Pressures, Statins, and Low-Density Lipoprotein Cholesterol: A Mediation Analysis*. Hypertension, 2018. **71**(3): p. 415-421.
177. Gargani, L., et al., *Near-infrared spectroscopic imaging of the whole hand: A new tool to assess tissue perfusion and peripheral microcirculation in scleroderma*. Semin Arthritis Rheum, 2019. **48**(5): p. 867-873.
178. Ubbink, D.T. and B. Koopman, *Near-infrared spectroscopy in the routine diagnostic work-up of patients with leg ischaemia*. Eur J Vasc Endovasc Surg, 2006. **31**(4): p. 394-400.
179. McMillan, D.E., *The microcirculation in diabetes*. Microcirc Endothelium Lymphatics, 1984. **1**(1): p. 3-24.
180. Beckman, J.A., et al., *Microvascular Disease, Peripheral Artery Disease, and Amputation*. Circulation, 2019. **140**(6): p. 449-458.
181. Monfrecola, G., et al., *The acute effect of smoking on cutaneous microcirculation blood flow in habitual smokers and nonsmokers*. Dermatology, 1998. **197**(2): p. 115-8.
182. van Adrichem, L.N., et al., *Acute effects of cigarette smoking on microcirculation of the thumb*. Br J Plast Surg, 1992. **45**(1): p. 9-11.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

183. Haak, E., et al., *Fluvastatin therapy improves microcirculation in patients with hyperlipidaemia*. *Atherosclerosis*, 2001. **155**(2): p. 395-401.
184. Haak, T., et al., *Fenofibrate improves microcirculation in patients with hyperlipidemia*. *European journal of medical research*, 1998. **3**(1-2): p. 50-54.
185. Vink, H., A.A. Constantinescu, and J.A. Spaan, *Oxidized lipoproteins degrade the endothelial surface layer : implications for platelet-endothelial cell adhesion*. *Circulation*, 2000. **101**(13): p. 1500-2.
186. Tomiyama, H., T. Saisu, and A. Yamashina, *Measurement of Flow-Mediated Vasodilatation*. *Int Heart J*, 2017. **58**(2): p. 158-162.
187. Lewandowski, P., et al., *Noninvasive assessment of endothelial function and vascular parameters in patients with familial and nonfamilial hypercholesterolemia*. *Pol Arch Med Wewn*, 2014. **124**(10): p. 516-24.
188. Creager, M.A., et al., *Impaired vasodilation of forearm resistance vessels in hypercholesterolemic humans*. *J Clin Invest*, 1990. **86**(1): p. 228-34.
189. Vladimirova-Kitova, L., D. Terzieva, and B. Marinov, *Intima-Media Thickness and Flow-Mediated Vasodilation in Asymptomatic Subjects with Newly Detected Severe Hypercholesterolemia*. *Echocardiography*, 2009. **26**(9): p. 1060-1068.
190. Johnson, H.M., et al., *Effects of smoking and smoking cessation on endothelial function: 1-year outcomes from a randomized clinical trial*. *J Am Coll Cardiol*, 2010. **55**(18): p. 1988-95.
191. Gerhard, M., et al., *Aging Progressively Impairs Endothelium-Dependent Vasodilation in Forearm Resistance Vessels of Humans*. *Hypertension*, 1996. **27**(4): p. 849-853.
192. Maulucci, G., et al., *Improved endothelial function after short-term therapy with evolocumab*. *J Clin Lipidol*, 2018. **12**(3): p. 669-673.
193. Di Minno, A., et al., *Endothelial function improvement in patients with familial hypercholesterolemia receiving PCSK-9 inhibitors on top of maximally tolerated lipid lowering therapy*. *Thrombosis Research*, 2020. **194**: p. 229-236.
194. Cacciottolo, P., et al., *Investigating the lowest threshold of vascular benefits from LDL lowering with a PCSK9 inhibitor in healthy volunteers – results from the intensity-low study*. *Heart* 2020. **106**(Suppl 2): p. A109-A110.
195. Brunetti, N.D., et al., *Improvement in endothelium dysfunction in diabetics treated with statins: a randomized comparison of atorvastatin 20 mg versus rosuvastatin 10 mg*. *J Interv Cardiol*, 2007. **20**(6): p. 481-7.
196. Altun, I., et al., *Effect of statins on endothelial function in patients with acute coronary syndrome: a prospective study using adhesion molecules and flow-mediated dilatation*. *Journal of clinical medicine research*, 2014. **6**(5): p. 354-361.
197. Ostad, M.A., et al., *Flow-mediated dilation in patients with coronary artery disease is enhanced by high dose atorvastatin compared to combined low dose atorvastatin and ezetimibe: Results of the CEZAR study*. *Atherosclerosis*, 2009. **205**(1): p. 227-232.
198. de Jongh, S., et al., *Early statin therapy restores endothelial function in children with familial hypercholesterolemia*. *Journal of the American College of Cardiology*, 2002. **40**(12): p. 2117-2121.
199. Fichtlscherer, S., et al., *Differential effects of short-term lipid lowering with ezetimibe and statins on endothelial function in patients with CAD: clinical*

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

- evidence for 'pleiotropic' functions of statin therapy. *Eur Heart J*, 2006. **27**(10): p. 1182-90.
200. Koh, K.K., et al., *Simvastatin Improves Flow-Mediated Dilation but Reduces Adiponectin Levels and Insulin Sensitivity in Hypercholesterolemic Patients*. *Cardiovascular and Metabolic Risk*, 2008. **31**(4): p. 776-782.
201. Matsue, Y., et al., *Differences in action of atorvastatin and ezetimibe in lowering low-density lipoprotein cholesterol and effect on endothelial function: randomized controlled trial*. *Circ J*, 2013. **77**(7): p. 1791-8.
202. John, S., et al., *Lipid-independent effects of statins on endothelial function and bioavailability of nitric oxide in hypercholesterolemic patients*. *American Heart Journal*, 2005. **149**(3): p. 473.e1-473.e10.
203. Maas, R., et al., *Asymmetrical dimethylarginine (ADMA) and coronary endothelial function in patients with coronary artery disease and mild hypercholesterolemia*. *Atherosclerosis*, 2007. **191**(1): p. 211-9.
204. Gać, P., et al., *Cardiovascular risk factors and the concentration of asymmetric dimethylarginine*. *Adv Clin Exp Med*, 2020. **29**(1): p. 63-70.
205. Bode-Böger, S.M., F. Scalera, and L.J. Ignarro, *The L-arginine paradox: Importance of the L-arginine/asymmetrical dimethylarginine ratio*. *Pharmacol Ther*, 2007. **114**(3): p. 295-306.
206. Maas, R., et al., *Simultaneous assessment of endothelial function, nitric oxide synthase activity, nitric oxide-mediated signaling, and oxidative stress in individuals with and without hypercholesterolemia*. *Clin Chem*, 2008. **54**(2): p. 292-300.
207. Liu, P.Y., et al., *Evidence for statin pleiotropy in humans: differential effects of statins and ezetimibe on rho-associated coiled-coil containing protein kinase activity, endothelial function, and inflammation*. *Circulation*, 2009. **119**(1): p. 131-8.
208. Garcia, M.M., et al., *Endothelial Effect of Statin Therapy at a High Dose Versus Low Dose Associated with Ezetimibe*. *Arq Bras Cardiol*, 2016. **106**(4): p. 279-88.
209. Indolfi, C., et al., *Effects of hydroxymethylglutaryl coenzyme A reductase inhibitor simvastatin on smooth muscle cell proliferation in vitro and neointimal formation in vivo after vascular injury*. *J Am Coll Cardiol*, 2000. **35**(1): p. 214-21.
210. Ridker, P.M., et al., *Measurement of C-reactive protein for the targeting of statin therapy in the primary prevention of acute coronary events*. *N Engl J Med*, 2001. **344**(26): p. 1959-65.
211. Wagner, A.H., et al., *Improvement of nitric oxide-dependent vasodilatation by HMG-CoA reductase inhibitors through attenuation of endothelial superoxide anion formation*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2000. **20**(1): p. 61-9.
212. Liberale, L., et al., *Statins reduce vascular inflammation in atherogenesis: A review of underlying molecular mechanisms*. *Int J Biochem Cell Biol*, 2020. **122**: p. 105735.
213. Ridker PM, D.E., Fonseca FA, Genest J, Gotto AM Jr, Kastelein JJ, Koenig W, Libby P, Lorenzatti AJ, MacFadyen JG, Nordestgaard BG, Shepherd J, Willerson JT, Glynn RJ; *JUPITER Study Group Rosuvastatin to prevent vascular events in men and women with elevated C-reactive protein*. *N Engl J Med*, 2008: p. 2195-2207.

Error! Use the Home tab to apply Überschrift 1 to the text that you want to appear here.

214. Ferri, N., et al., *Proprotein convertase subtilisin kexin type 9 (PCSK9) secreted by cultured smooth muscle cells reduces macrophages LDLR levels*. *Atherosclerosis*, 2012. **220**(2): p. 381-6.
215. Ragusa, R., et al., *PCSK9 and atherosclerosis: Looking beyond LDL regulation*. *European Journal of Clinical Investigation*, 2021. **51**(4): p. e13459.
216. Cheng, J.M., et al., *PCSK9 in relation to coronary plaque inflammation: Results of the ATHEROREMO-IVUS study*. *Atherosclerosis*, 2016. **248**: p. 117-22.
217. Sahebkar, A., et al., *Effect of monoclonal antibodies to PCSK9 on high-sensitivity C-reactive protein levels: a meta-analysis of 16 randomized controlled treatment arms*. *Br J Clin Pharmacol*, 2016. **81**(6): p. 1175-90.
218. Nicholls, S.J., et al., *Effect of Evolocumab on Progression of Coronary Disease in Statin-Treated Patients: The GLAGOV Randomized Clinical Trial*. *JAMA*, 2016. **316**(22): p. 2373-2384.
219. Ding, Z., et al., *Hemodynamic shear stress via ROS modulates PCSK9 expression in human vascular endothelial and smooth muscle cells and along the mouse aorta*. *Antioxid Redox Signal*, 2015. **22**(9): p. 760-71.
220. Lankin, V.Z., et al., *PCSK9 Inhibitor causes a decrease in the level of oxidatively modified low-density lipoproteins in patients with coronary artery diseases*. *Ter Arkh*, 2018. **90**(9): p. 27-30.
221. Shapiro, M.D., et al., *Relationship Between Low-Density Lipoprotein Cholesterol and Lipoprotein(a) Lowering in Response to PCSK9 Inhibition With Evolocumab*. *J Am Heart Assoc*, 2019. **8**(4): p. e010932.
222. Celermajer, D.S., *Reliable endothelial function testing: at our fingertips?* *Circulation*, 2008. **117**(19): p. 2428-30.

6 Danksagung

An erster Stelle möchte ich meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Roberto Sansone für die Betreuung meiner Arbeit danken. Er stand zu jedem Zeitpunkt unterstützend und beratend zur Seite. Seine Begeisterung und Motivation für die Medizin haben mein wissenschaftliches sowie klinisches Arbeiten geprägt.

Mein ausgesprochener Dank geht an die hervorragende Betreuung durch Dr. med. Manuel Stern, der mich durch das gesamte Projekt inklusive Vor- und Nachbereitung geleitet hat und auch viel private Zeit hierfür investiert hat. Er stand mir sowohl in wissenschaftlichen als auch in organisatorischen Fragen jederzeit zur Seite und hat einen maßgeblichen Beitrag zur Entwicklung dieser Arbeit beigetragen. Er unterstützt mich auch nach Abschluss der Arbeit weiterhin als Oberarzt sowie Mentor während meiner beruflichen und wissenschaftlichen Ausbildung als Assistenzärztin am Universitätsklinikum Düsseldorf.

Ich bedanke mich bei jedem einzelnen Mitglied unserer angiologischen Arbeitsgruppe, die meine Arbeit mit konstruktiver Kritik und Vorschlägen nach vorne gebracht haben. Insbesondere gilt mein Dank Sven Baasen, Brigitte Eichstädt sowie Miriam Schillings, die mich in die angiologischen Methodiken eingewiesen und angeleitet haben.

Ein weiterer Dank geht an Herrn Prof. Dr. rer. nat. Christoph Suschek für seine gutachterliche Tätigkeit.

Zuletzt danke ich meiner wunderbaren Familie. Meinen Eltern, die mich in allen Lebenslagen unterstützen, mich zu Hause zu jeder Tages- und Nachtzeit mit offenen Armen empfangen und mir bedingungslosen Rückhalt geben. Meinen drei Geschwistern, die immer ein offenes Ohr für mich haben und mir durch unseren starken Zusammenhalt sehr viel Kraft spenden (Lisa, dir insbesondere für das mühsame Korrekturlesen meiner gesamten Dissertationsschrift). Und zuletzt meiner Patentante Dietlind, die mich gemeinsam mit ihrem Mann Stephan das gesamte Studium hindurch unterstützt haben, bei allen großen Ereignissen in meinem Leben teilgenommen haben und für mich wie meine zweiten Eltern sind.

Ihnen widme ich in Liebe und Dankbarkeit diese Arbeit.