

Aus der Medizinischen Klinik - Innenstadt
der Ludwig-Maximilians-Universität München

Direktor: Professor Dr. med. Martin Reincke

Aberrante Rezeptorexpression bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus

Dissertation

zum Erwerb des Doktorgrades der Medizin
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Yana Georgieva Suttmann
aus Sofia, Bulgarien

Jahr

2011

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. M. Reincke

Mitberichterstatter: Priv. Doz. Dr. Christoph Auernhammer
Prof. Dr. Malte Linder

Mitbetreuung durch den
Promovierten Mitarbeiter: Dr. med. O. Zwermann

Dekan: Prof. Dr. med. Dr. h.c. M. Reiser, FACR, FRCR

Tag der mündlichen
Prüfung: 30.06.2011

Meinen Töchtern
Hannah und Kalina
gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
1. Einleitung.....	11
1.1. Primärer Hyperaldosteronismus.....	11
1.1.1. Grundlagen.....	11
1.1.2. Epidemiologie und klinische Bedeutung.....	13
1.2. Aberrante Rezeptorexpression in Nebennierenrindentumoren.....	15
1.2.1. Aberrante Rezeptoren bei Cushing-Syndrom.....	15
1.2.2. Aberrante Rezeptoren bei primärem Hyperaldosteronismus	18
2. Zielsetzung der Arbeit.....	23
3. Methoden und Materialien.....	24
3.1. Patienten und Probanden.....	24
3.1.1. Einschlusskriterien.....	24
3.1.2. Ausschlusskriterien.....	24
3.1.3. Abbruchkriterien.....	25
3.1.4. Patienten.....	25
3.1.5. Probanden.....	27
3.2. Methoden.....	28
3.2.1. Diagnostik des Conn-Syndroms.....	28
3.2.2. Testprotokoll.....	33
3.2.2.1. Tag 1.....	33
3.2.2.2. Tag 2.....	34
3.2.2.3. Tag 3.....	30
3.2.3. Hormonassays.....	37
3.2.3.1. Bestimmung von Aldosteron.....	37

3.2.3.2.	Bestimmung von Cortisol	37
3.2.3.3.	Bestimmung von Renin	37
3.3.	Klinische Labormaterialien und Aufbewahrung der Blutproben	37
3.4.	Auswertung	38
3.4.1.	Deskriptive Auswertung	38
3.4.2.	Statistische Auswertung	38
4.	Ergebnisse	40
4.1.	Allgemeine Beobachtungen	40
4.2.	Testergebnisse	43
4.3.	Zusammenfassung der Aldosteronergebnisse	49
4.4.	Zusammenfassung der Cortisolergebnisse	51
5.	Diskussion	53
5.1.	Diskussion der allgemeinen Beobachtungen	54
5.2.	Diskussion der Ergebnisse des Orthostase -Tests	55
5.3.	Diskussion der Ergebnisse des Mahlzeiten-Tests	57
5.4.	Diskussion der Ergebnisse der ACTH-Stimulation	57
5.5.	Diskussion der Ergebnisse der GnRH-Stimulation	58
5.6.	Diskussion der Ergebnisse der TRH-Stimulation	59
5.7.	Diskussion der Ergebnisse der Glukagon-Stimulation	60
5.8.	Diskussion der Ergebnisse der Vasopressin-Stimulation	61
5.9.	Diskussion der Ergebnisse der Metoclopramid-Stimulation	63
5.10.	Diskussion der möglichen Störfaktoren	64
6.	Ausblick	67
7.	Zusammenfassung	70

Literaturverzeichnis	71
Danksagung	79
Veröffentlichungen	80

Abkürzungsverzeichnis

5HT = 5-Hydroxytryptamin = Serotonin

Abb. = Abbildung

ACE = *engl.* Angiotensin Converting Enzyme

ACTH = Adrenocorticotropes Hormon

AIMAH = ACTH unabhängige makronoduläre Nebennierenhyperplasie

cAMP = cyclisches Adenosinmonophosphat

APA = Aldosteron-produzierendes Adenom

ARQ = Aldosteron-Renin-Quotient

AT = Angiotensin

AVP = L-Arginin-Vasopressin

(B)IAH = (bilaterale) idiopathische adrenale Hyperplasie

CT = Computertomographie

EDTA = Ethylendiamintetraacetat

FSH = follikelstimulierendes Hormon

GIP = Gastrin inhibitorisches Peptid

GnRH = Gonadotropin Releasing-Hormon = Gonadoliberin

GSH = glucocorticoidsupprimierbarer Hyperaldosteronismus

hCG = humanes Choriongonadotropin

HPA(-Achse) = Hypothalamus-Hypophysen-Nebennieren Achse =
engl. Hypothalamic-pituitary-adrenocortical (axis)

(K x) = Kontrollperson (Nummer 1 bis 8)

LH = luteinisierendes Hormon

MAP = mittlerer arterieller Blutdruck

MCP = Metoclopramid (Paspertin®)

MRT = Magnetresonanztomographie

MW = Mittelwert

NaCl = Natriumchlorid = Kochsalz

NN-Katheter = Nebennierenkatheter

NNR = Nebennierenrinde

(P x) = Patient (Nummer 1 bis 12)

PCR = Polymerase-Kettenreaktion = *engl.* polymerase chain reaction

PHA = Primärer Hyperaldosteronismus

RAA-System = Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

RIA = *engl.* Radio Immun Assay

mRNA = Boten- Ribonukleinsäure = *engl.* messenger ribonuclein acid

RR = Blutdruck nach **Riva Rocci**

SD = Standardabweichung = *engl.* standard deviation

SEM = Standardfehler = *engl.* standard error of the mean

Tab. = Tabelle

T₃ = Trijodthyronin

T₄ = Tetrajodthyronin

TRH = Thyreotropin Releasing Hormon

TSH = Thyreoidea-stimulierendes Hormon

UAH = unilaterale adrenale Hyperplasie

1. Einleitung

1.1. Primärer Hyperaldosteronismus

1.1.1. Grundlagen

Der primäre Hyperaldosteronismus (PHA) wurde erstmals 1955 von dem amerikanischen Professor für Innere Medizin Jerome Conn beschrieben, als die autonome Sekretion des Mineralocorticoids Aldosteron aus einer Nebennierenrindenhyperplasie bzw. aus einem Nebennierenrindenadenom (*Conn JW, 1955*).

Aldosteron ist ein klassisches Steroidhormon, das in der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde aus Cholesterin gebildet wird und zu den Mineralocorticoiden zählt. Gelegentlich auch als das Dursthormon bezeichnet, gehört es zu der Enzymkaskade des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, das eine Schlüsselrolle in dem Mineral- und Wasserhaushalt, sowie auch in der Blutdruckregulation des menschlichen Organismus spielt. Im Normalfall werden die Synthese bzw. die Sekretion von Aldosteron bei Volumenmangel oder Hypotonie durch Angiotensin II angeregt. Das führt im distalen Nephron zu Na- bzw. Wasser- Retention, was seinerseits eine Expansion des intravasalen Volumens und Anstieg des arteriellen Blutdruckes zur Folge hat. Im Austausch gegen Natrium werden Kalium und Protonen ausgeschieden. Eine Rückkoppelung erfolgt über den juxtaglomerulären Apparat, der bei Bedarf die Reninausschüttung anregt oder bremst. Renin ist der Stimulus, welcher das inaktive Enzym Angiotensinogen in seine aktive Form Angiotensin I umwandelt, welches seinerseits unter der Wirkung von Angiotensin Converting Enzyme (ACE) in Angiotensin II umgebaut wird (Abb. 1).

Eine autonome Aldosteronausschüttung, die nicht dem oben beschriebenen Mechanismus unterliegt, hat im Regelfall eine abnorme Natrium- und Wasser-Retention zur Folge, die zu der klassischen Symptom-Trias des Conn-Syndroms - Hypertonie, metabolische Alkalose und Hypokaliämie, sowie zu weiteren daraus folgenden Organschäden führt. Der Aldosteronüberschuss selbst ist weiterhin verantwortlich für endotheliale Dysfunktion, reduzierte Gefäßcompliance und prothrombotische Veränderungen der Plasmagerinnung. Daraus resultieren

unabhängig vom Bluthochdruck verursachte Organschäden, wie zum Beispiel eine linksventrikuläre Hypertrophie, eine diastolische Dysfunktion oder eine Fibrosebildung am Herzen (Rossi GP et al., 2008). Außerdem ist die Prävalenz von Schlaganfällen und Niereninsuffizienz bei Patienten mit PHA deutlich höher als bei Primärhypertonikern (Rossi GP et al., 2006; Milliez P et al., 2005; Reincke, JCEM 2008).

Dass eine mildere normokaliämische Variante des PHA existieren kann, zeigte Conn zehn Jahre später in einer weiteren Studie, bei der 14 Hypertoniker ohne Hypokaliämie in der Vorgeschichte erfolgreich an einem Aldosteron-produzierenden Nebennierenadenom operiert wurden (Conn JW, 1965).

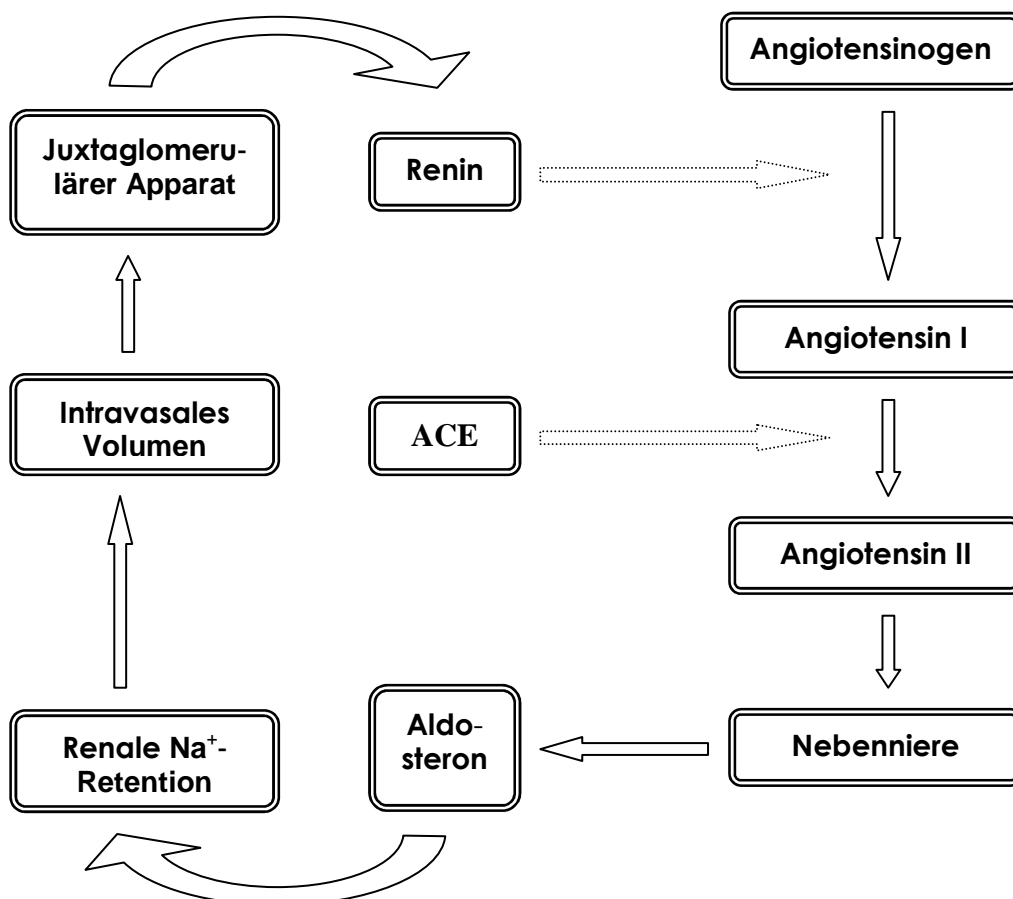


Abb.1. Regulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems

1.1.2. Epidemiologie und klinische Bedeutung

Das klassische Conn-Syndrom mit Hypokaliämie, Hypertonie und metabolischer Alkalose wurde bisher mit einer Häufigkeit von 0,5-2% bei Patienten mit Hypertonie angegeben. In mehreren Studien konnte gezeigt werden, dass der PHA in seiner milden normokaliämischen Variante eine der häufigsten monokausalen Ursachen einer sekundären arteriellen Hypertonie ist. Neueren Studien zufolge, konnte eine Aldosteron-Überproduktion bei bis zu 12% der hypertensiven Patienten festgestellt werden (*Fardella C 2000; Mulatero P, 2004; Rossi GP, 2006; Fogari R 2007*). Bei bis zu einem Viertel der Patienten mit einer therapierefraktären Hypertonie liegt ein PHA vor (*Calhoun DA et al., 2004*). Dabei steigt das Risiko der Erkrankung mit dem Schweregrad der Hypertonie an. So konnte die Prävalenz des PHA bei Patienten mit Hypertonie Grad I (RR <160/100mmHg), Grad II und Grad III (RR >180/110mmHg) nach WHO mit 2%, 8% und 13% bestimmt werden (*Mosso L et al., 2003*). Auf die Bundesrepublik hochgerechnet bedeutet dies, dass bei ca. 25 Millionen Hypertonikern bis zu 2,5 Millionen Bundesbürger einen PHA aufweisen könnten (*Born-Frontsberg E et al., 2008*). Auch wenn man annimmt, dass in den oben genannten Studien mögliche Selektionsbias aufgetreten sind (sie wurden in Hypertonie-Spezialambulanzen durchgeführt, wo die Prävalenz der normokaliämischen PHA vermutlich größer ist als in der Normalbevölkerung), die zu einer Überschätzung um den Faktor 2-3 geführt hätten, läge die Prävalenz immer noch deutlich im 5-stelligen Bereich.

Der PHA wird meistens bei Patienten im mittleren Alter diagnostiziert (durchschnittliches Alter bei Stellung der Diagnose 42 Jahre). In einer Studie mit 136 Patienten (*Ferris JB et al., 1978*) trat er bei mehr Frauen (64%) als Männern (36%) auf.

Ein PHA wird überwiegend durch ein Aldosteron-produzierendes Adenom (APA) oder durch eine idiopathische adrenale Hyperplasie (IAH), in der Regel bilateral (BIAH), verursacht. Sehr selten treten die drei familiären Formen auf, die durch das vererbte Auftreten von Adenomen bzw. Nebennierenhyperplasie und dem medikamentös fast unbeherrschbarem Hypertonus im Kindes- und Jugendalter gekennzeichnet sind. Während der familiäre Hyperaldosteronismus Typ I mit typischen genetischen

Veränderungen assoziiert wird, ist die Genese der anderen zwei Typen unbekannt (Tab. 1).

Bei etwa zwei Drittel der Patienten mit einem Conn Syndrom besteht eine bilaterale Nebennierenhyperplasie, die eine lebenslange medikamentöse Behandlung mit einem Mineralocorticoidantagonisten (z.B. Spironolacton) erfordert. Dabei handelt es sich um eine genetisch noch nicht näher charakterisierte Erkrankung, für die normale oder kleinknotig veränderte hyperplastische Nebennieren typisch sind. Ein Drittel der PHA-Fälle beruhen auf Aldosteron-produzierenden Adenomen, die eine Adrenalectomie erforderlich machen (Schirpenbach C et al., 2009). Die klassische hypokaliämische PHA-Variante ist in 60 bis 90 % der Fälle durch ein Adenom verursacht (Phillips JL et al., 2000), für die normokaliämische Variante ist in den meisten Fällen (60%) eine bilaterale Hyperplasie die Ursache (Loh KC et al., 2000; Gordon RD et al., 1994).

Tab. 1 Unterformen des primären Hyperaldosteronismus

Unterform	Häufigkeit	Merkmal
Bilaterale idiopathische adrenale Hyperplasie (BIAH)	Ca. 70% der Fälle	Häufiger mit Normokaliämie
Aldosteronproduzierendes Adenom (APA)	Ca. 30% der Fälle	Häufiger mit Hypokaliämie
Unilaterale Hyperplasie	Selten	Variabel
Familiärer Hyperaldosteronismus Typ I	<1%	Autosomal dominant, chimäres Gen aus Aldosteronsynthase und 11 β -Hydroxylase; Hypertonus im jugendlichen Alter; kein Ansprechen auf übliche Antihypertensiva
Familiärer Hyperaldosteronismus Typ II	<1%	Familiäres Auftreten von Adenom und/oder Nebennierenhyperplasie; autosomal dominant, unbekannter Genlocus
Familiärer Hyperaldosteronismus Typ III	Sehr selten	Hypertonus im Kindesalter; starke Nebennierenhyperplasie; kein Ansprechen auf Dexamethason
Aldosteronproduzierendes Karzinom	Sehr selten	Meist große adrenale Raumforderung, infiltrativ, Bildung weiterer Steroide

1.2. Aberrante Rezeptorexpression in Nebennierenrindentumoren

1.2.1. Aberrante Rezeptoren bei Cushing-Syndrom

Anfang der siebziger Jahre gab es erste Hinweise darauf, dass in der Nebennierenrinde eine abnorme Rezeptoraktivität vorkommen könnte. Bei ihren in vitro Versuchen mit gesunden Rattennebenieren und solchen mit cortisolproduzierenden Tumoren konnten Ney und Mitarbeiter neben einer für die beiden Gruppen vergleichbaren physiologischen Reaktion auf die Stimulation mit ACTH, eine abnorme Cortisolsekretion nach der Gabe von TSH und Adrenalin aus den pathologisch veränderten Geweben feststellen (*Schorr I et al., 1971, Hinshaw HT et al. 1974*). Als mögliche Erklärung dieser Beobachtungen wurde entweder eine strukturelle Veränderung des ACTH-Rezeptors in den Tumorzellen, oder aber die Existenz abnormer Hormonrezeptoren angenommen. 1987 haben Hamet und Mitarbeiter als Erste eine so genannte „food dependent“ Cortisol-Produktion vorgestellt (*Hamet P et al., 1987*). Sie beschrieben den Fall eines 41-jährigen Mannes mit sekundärem Cushing Syndrom und einem unilateralen Nebennierenadenom, dessen Cortisolkonzentrationen im Blut nüchtern und nach längeren Fastenintervallen normal waren, aber eindeutig in den pathologischen Bereich nach jeder Mahlzeit anstiegen. Solche Cortisolanstiege nach Nahrungszufuhr waren durch Gabe von Dexamethason nicht supprimierbar. Die direkte Auswirkung des Gastrin inhibitorischen Peptidhormons (GIP) wurde in dieser Studie nicht weiter charakterisiert. 1992 berichten zwei unabhängige Forschungsgruppen über jeweils eine Patientin mit ACTH unabhängigem Hypercortisolismus. (*Lacroix A et al. 1992, Reznik Y et al., 1992*) In beiden Fällen wurde die Cortisolproduktion durch den physiologischen postprandialen Anstieg von GIP angeregt und diese Wirkung konnte durch Gabe von Somatostatin vor der oralen Glukosezufuhr unterdrückt werden. Durch die Infusion von gastrointestinalem Peptidhormon konnte man die Cortisolsekretion in den beschriebenen Fällen stimulieren, bei gesunden Personen jedoch nicht.

In den folgenden Jahren wurden mehrere in vitro und in vivo Studien durchgeführt, die die Existenz eines Hypercortisolismus, der durch andere Hormone als ACTH verursacht wird, bestätigen konnten (*für Review siehe Lacroix A et al., 2001 und Christopoulos S et al., 2005*). Es wurden Patienten mit adrenalem Cushing Syndrom

untersucht, verursacht entweder durch ACTH unabhängige makronoduläre Nebennierenhyperplasie (AIMAH), durch cortisolproduzierende Nebennierenadenome oder Inzidentalome mit einem begleitenden subklinischen Cushing Syndrom. Bei fast allen Gewebeproben von AIMAH-Patienten konnte mindestens eine Art aberranter Rezeptoren festgestellt werden, darunter GIP-, LH/hCG-, Glukagon- und Interleukin 1-Rezeptoren. Die Überexpression von β -adrenergen Rezeptoren, sowie Serotonin- Vasopressin- und Angiotensin II-Rezeptoren, die sich physiologischerweise in der Nebennierenrinde befinden, scheint in manchen Fällen auch als Trigger eines Hypercortisolismus zu wirken (*Willenberg HS 1998, Arnaldi G 1998, Daidoh H 1998, Mircescu H 2000, Nakamura Y 2001, Cartier D 2003, Mannelli M 2003, Louiset E 2008*).

1999 entwickelte die Forschungsgruppe von André Lacroix in Montréal, Canada, (*Lacroix A et al., 1999*) ein Testprotokoll zum systematischen Screening auf aberrante Rezeptoren bei Cushing-Patienten. Unter standardisierten Bedingungen wurden bei den Patienten Stimulationstests durchgeführt (Orthostasetest, Mahlzeitentest, ACTH-, GnRH-, TRH-, Glukagon-, AVP- und Metoclopramidstimulation) und parallel die Cortisolkonzentrationen im Blut gemessen. Bei einem eindeutigen Anstieg von über 50% des Basalwertes wurden weitere Bestätigungstests angestrebt, um die Existenz abnormer Rezeptoren zu sichern oder zu spezifizieren. Yves Reznik und Mitarbeiter (*Reznik Y et al., 2004*) führten ein ähnliches Protokoll bei 21 Patienten mit unilateralen Nebenniereninzidentalomen durch und verglichen deren Ergebnisse mit sechs gesunden Kontrollpersonen. Sie kamen zu der Schlussfolgerung, dass aberrante Hormonrezeptoren eine sehr häufige Erscheinung bei Nebennierenadenomen mit autonomer Funktion sind.

Die Entdeckung von aberranten adrenalen Rezeptoren bei Patienten mit ACTH unabhängigem Cushingsyndrom (nicht adenombedingt) eröffnet die Möglichkeit einer individuellen medikamentösen Therapie der Erkrankung. In der Regel können solche Patienten nur durch eine bilaterale Adrenalektomie geheilt werden, was seinerseits mit erheblichen gesundheitlichen Einschränkungen verbunden ist. Durch die medikamentöse Blockade der atypischen endokrin aktiven Rezeptoren, zum Beispiel mit Propranolol bei abnormen β -Rezeptoren (*Lacroix A et al., 1997*) oder

durch Antagonisierung der Hormonwirkung, wie zum Beispiel durch Gabe von Octreotid (Somatostatinanalog) bei GIP-abhängigem Hypercortisolismus (*Reznik Y et al., 1992*), wird die Möglichkeit einer konservativen Therapie eröffnet. Auch die Therapie mit GnRH-Agonisten bei AIMAH Patienten mit LH-abhängigem Cushing-Syndrom wird zurzeit erforscht (*Bourdeau I et al., 2001; Goodarzi MO et al., 2003*).

1.2.2. Aberrante Rezeptoren beim primären Hyperaldosteronismus

Analog zu den oben genannten Studien hat die mögliche abnorme Expression von Hormonrezeptoren bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus in den letzten Jahren das Interesse mehrerer Forschungsgruppen geweckt. Es wurden bis dato vor allem in vitro Studien durchgeführt, die die Existenz solcher Rezeptoren, zum Beispiel durch Real-Time-PCR, in situ Hybridisation oder immunhistochemisch nachweisen konnten. Dabei handelt es sich um Peptidhormonrezeptoren, die entweder physiologisch auf der Nebennierenrinde vorkommen (ACTH-, AVP-, Serotonin-Rezeptoren), jedoch nicht primär an der Aldosteronsynthese beteiligt sind, oder solche, die im Normalfall entweder gar nicht, oder nur in sehr geringer Zahl (LH, GnRH-Rezeptoren) an dieser Stelle vorhanden sind (*Ye P et al., 2007*). Es wurden auch wenige in vivo Versuche beschrieben, bei denen die Auswirkungen von extern verabreichten Rezeptorliganden beobachtet wurden (*Perraudin V et al., 1998; Lefebvre H et al., 2002*).

Alle oben erwähnten Hormonrezeptoren gehören zu der Gruppe der membranständigen G-Protein-gekoppelten Rezeptoren. Das durch die Bindung eines Peptidhormons aktivierte Gs-Protein stimuliert die Adenylatcyclase, was zu einem Anstieg des intrazellulären cAMP-Spiegels führt. Vermittelt über diesen Second-Messenger werden schließlich gewebespezifische Reaktionen eingeleitet. Die Existenz abnormer Rezeptoren in der Nebennierenrinde, bzw. eine erhöhte Rezeptor-mRNA-Konzentration bedeutet nicht automatisch, dass eine hormonelle Wirkung zu erwarten ist. Es stellt sich die Frage, ob auch aberrante Rezeptoren in der Lage wären, die adrenale Adenylatcyclase anzuregen und auf diese Weise den intrazellulären Weg bis zur Aldosteronsynthese in Gang zu setzen.

Schon in den 70-er Jahren wurde von der Schlüsselrolle des **adrenocorticotropen Hormons** in der Steroidsynthese berichtet. Die Expression von ACTH-Rezeptoren und die positive Auswirkung des Hormons auf die adrenale Adenylatcyclase konnte sehr früh festgestellt werden (*Matsukura et al., 1980*). Allerdings wurde diese Wirkung hauptsächlich auf die Cortisol-Synthese bezogen. Heutzutage weiß man, dass ein akuter ACTH-Anstieg physiologischerweise auch zu Aldosteronproduktion führt (*Oelkers W et al., 1988*). Für Aldosteron-produzierende Adenome ist die ACTH-

Abhängigkeit des Aldosteronexzesses gut dokumentiert (*Mancini T et al., 2003*). Dies korreliert mit der starken ACTH-Rezeptor-mRNA-Expression in Aldosteronomen, die in mehreren Untersuchungen nachgewiesen werden konnte (*Reincke M et al., 1997,1998*). Eine Regulation durch das RAA-System findet bei dem größten Teil der Adenome nicht mehr statt. Im Gegensatz dazu ist die Aldosteronsekretion bei der idiopathischen Nebennierenhyperplasie typischerweise von **Angiotensin** abhängig (*Wisgerhof M et al., 1985*).

Allerdings zeigte eine Untersuchung von Mune und Mitarbeitern (*Mune T et al., 1993*), dass bei chirurgisch gesichertem aldosteron-produzierendem Adenom auch andere Stimuli – in dem Fall Furosemid – eine Verdoppelung der Aldosteronsekretion induzieren konnte. *Nomura et al. (1992)* stellten fest, dass bei sechs Patienten mit gesichertem Adenom und Aldosteronanstieg unter Orthostase eine Angiotensin-II-Infusion nur bei einer Minderheit der Patienten einen Aldosteronanstieg induzierte. Diese Befunde deuten darauf hin, dass neben ACTH und Angiotensin II auch andere Hormone an der Aldosteronfreisetzung beteiligt sein könnten.

Eine besondere Stellung in der Steroidogenese in der Nebennierenrinde hat das antidiuretische Hormon (ADH), mit anderem Namen **Arginin-Vasopressin (AVP)**. Es wird durch Nervenzellen in den Kerngebieten des Hypothalamus gebildet und im Hypophysenhinterlappen gespeichert. Die Wirkung von AVP entfaltet sich durch die Bindung an drei verschiedene Rezeptoren. Die $V_{1(a)}$ Rezeptoren befinden sich vor allem auf Gefäßzellen und vermitteln den blutdrucksteigernden Effekt von AVP. Sie sind aber auch auf adrenocorticalen Zellen zu finden und haben dort einen direkten stimulierenden Effekt auf die Aldosteron- und Cortisol-Sekretion (*Peraudin V et al., 2006; Mune T et al., 2002; Guillonet al., 1995*). Die renalen V_2 Rezeptoren sind für die antidiuretische Wirkung verantwortlich. Durch die Bindung an die hypophysenspezifischen V_3 (V_{1b}) Rezeptoren wird die ACTH-Sekretion potenziert und dadurch indirekt die Steroidsynthese (*Gillies GE et al., 1982*). Zusätzlich ist bekannt, dass AVP nicht nur im Hypothalamus, sondern auch in der Medulla und in dem Cortex der Nebenniere gebildet wird, was auf eine mögliche autokrine und/oder parakrine Regulation der Steroidsynthese vor Ort hinweist (*Peraudin V et al., 1993*). *Peraudin et al. (2006)* konnten AVP-Produktion auch in APA-Präparaten nachweisen, unter anderem auch in steroidogenen Zellen. Unter physiologischen Bedingungen sind die zirkulierenden Vasopressinkonzentrationen nicht ausreichend um die

adrenalen V_1 Rezeptoren zu aktivieren. Unter pathologischen Bedingungen allerdings, wenn die Vasopressinkonzentration steigt (z.B. Hypotonie), kann es dazu kommen, dass AVP die Steroidsekretion stimuliert. Rein hypothetisch könnte das bedeuten, dass die Produktion von Aldosteron unter Umständen vollständig durch die Nebennieren stimuliert werden könnte, indem seine Synthese durch adrenal produziertes Vasopressin über V_1 Rezeptoren angeregt wird.

Ping Ye und Mitarbeiter (2007) konnten die Existenz mehrerer abnormer Hormonrezeptoren in Gewebepreparaten aus aldosteronproduzierenden Adenomen nachweisen. LH- und GnRH-, sowie 5HT-4-, Glutamat- und Endothelin-Rezeptoren waren in signifikant erhöhter Zahl vorhanden.

Das Gonadotropin Releasing-Hormon (**GnRH**) wird physiologischerweise im Hypothalamus gebildet und bewirkt durch Bindung an seine Rezeptoren in der Hypophyse die Synthese und Sekretion der sogenannten Gonadotropine - das luteinisierende Hormon (**LH**) und das follikelstimulierende Hormon (FSH). Diese wiederum entfalten ihre Wirkung durch Bindung an Rezeptoren in den menschlichen Keimdrüsen (Eierstöcke bzw. Testes). Eine direkte Verbindung zu der Aldosteronsynthese besteht im Normalfall nicht. Allerdings entdeckten *Saner-Amight et al. (2005)* bei manchen Aldosteron-produzierenden Adenomen (in ihrer Studie 9 von 18 Präparaten) eine sehr hohe Expression an LH-Rezeptor-mRNA. Gleichzeitig konnten sie beweisen, dass das LH die Aktivität des Aldosteronsynthase-Gens¹ deutlich steigert, und deuteten das als alternativen Weg der Aldosteronproduktion in APA.

In der Studie von *Ping Ye (2007)* wurde nur auf einem von 28 Adenomen eine signifikante Erhöhung der LH-Rezeptoren nachgewiesen, allerdings wurden bei 11 von diesen Präparaten GnRH-Rezeptoren in viel höherer Dichte als in gesunden Nebennieren festgestellt. Unterstützend zu diesen Daten sind die Ergebnisse des in vitro Teiles unserer Studie (hier nur zitiert), bei der in 4 von 15 aldosteronproduzierenden Nebennierentumoren eine GnRH-Rezeptor-Expression nachgewiesen wurde. Im Vergleich zu gesundem Nebennierengewebe wurde in 14 von 15 Präparaten LH-Rezeptor-mRNA überexprimiert (*Zwermann O et al., 2009*).

¹ Die Aldosteronsynthase katalysiert die letzten drei Schritte in der Mineralocorticoid-Synthese, bei denen in der Zona glomerulosa aus 11-Deoxycorticosteron Aldosteron gebildet wird.

1983 untersuchte eine Forschungsgruppe in Indiana (*Ganguly A et al., 1983*) den dopaminergen Effekt auf die Aldosteronproduktion. Nach der Gabe des Dopaminantagonisten **Metoclopramid** registrierten sie bei allen getesteten Personen (11 Gesunde, 8 PA-Patienten sowohl mit APA als auch mit Hyperplasie, und 5 Patienten mit glucocorticoidsupprimierbarem Hyperaldosteronismus(GSH)) einen Aldosteronanstieg. Allerdings waren die Aldosteronkonzentrationen bei den gesunden Personen, sowie bei den GSH-Patienten niedriger als bei den beiden Formen des primären Hyperaldosteronismus. Es ist bekannt, dass Metoclopramid an Dopamin (D2)- und an Serotonin (5HT-3 und 5HT-4)-Rezeptoren bindet. Deshalb konnte man nicht ausschließen, dass der o.g. Effekt durch die Wirkung auf die Serotoninrezeptoren hervorgerufen wurde. Schon 1972 konnten Tait und Mitarbeiter (*Tait SA et al., 1972*) Rattenglomerulosazellen mit **Serotonin** stimulieren, was als Hinweis auf das Vorhandensein von **5-HT-Rezeptoren** interpretiert wurde. Anfang der Achtziger zeigten Gross und Mitarbeiter (*Gross MD et al., 1981*) einen eindeutigen Zusammenhang zwischen den Aldosteronkonzentrationen bei Patienten mit idiopathischem Hyperaldosteronismus und der Gabe des Serotonininhibitors Cyproheptidin. Einige Jahre später konnten bei einigen Patienten mit APA durch die Gabe des selektiven Serotoninantagonisten Ketanserin ein transienter Abfall des Bluthochdruckes, sowie der Aldosteron- und Cortisolplasmakonzentrationen nachgewiesen werden (*Mantero F et al. 1985*). Aktuellere Studien (*Lefebvre H et al., 2002; Cartier D et al., 2005*) konnten eine deutliche Erhöhung der 5-HT4 Rezeptor-mRNA in Proben aus aldosteronproduzierenden Tumoren messen. Gleichzeitig hat die orale Gabe von Cisaprid (5HT-4-Rezeptoragonist) bei Patienten mit APA zu einem signifikanten Aldosteronanstieg geführt, ohne signifikante Änderung der Spiegel von Renin, Cortisol oder Kalium. Zur Kontrolle wurde denselben Testpersonen ein Plazebopräparat verabreicht, was keine Auswirkung auf den Aldosteronspiegel zeigte. Allerdings konnten Lefebvre und Mitarbeiter eine stimulierende (positive) Serotoninwirkung auf die Aldosteronsynthese nicht nur bei Patienten mit idiopathischem Hyperaldosteronismus, sondern auch bei gesunden Menschen feststellen. Daraus wurde die Schlussfolgerung gezogen, dass sowohl adenomatöse, als auch hyperplastische und normale Glomerulosazellen funktionsfähige Serotoninrezeptoren exprimieren (*Lefebvre H et al., 1995, 2000*).

Das **Thyreotropin Releasing Hormon** (TRH) wird im Hypothalamus gebildet und über das hypothalamisch-hypophysäre Pfortadersystem zum Vorderlappen der Hirnanhangsdrüse (Adenohypophyse) transportiert. Dort stimuliert TRH die Bildung und die Ausschüttung des Thyreoidea-stimulierenden Hormons (TSH). Über das TSH stimuliert das Thyreoliberin indirekt die Ausschüttung der Schilddrüsenhormone T4 und T3. Bis dato wurde die Auswirkung von TRH bzw. TSH auf die Funktion der Nebenniere in vivo nicht näher erforscht. Es ist bekannt, dass TSH in vitro die cAMP Produktion in adrenocorticalen Tumoren bei Ratten und Menschen stimulieren kann (*Matsukura S et al., 1980; Schorr I & Ney RL 1971*). Dutton et al. konnten TSH-Rezeptor-mRNA in verschiedenen extrathyroidalen humanen Gewebeproben nachweisen, unter anderem auch in der Nebenniere (*Dutton CM et al., 1997*). Ob solche Rezeptoren auf der Nebennierenrinde exprimiert werden und ob diese eine Auswirkung auf die Aldosteronproduktion haben, ist unbekannt.

Glukagon ist ein Peptidhormon, dessen Hauptaufgabe die Erhöhung des Blutzuckerspiegels ist. Es wird über die Vorstufen Präproglukagon und Präglukagon in den Langerhans-Inseln des Pankreas (α -Inselzellen) gebildet. Bei Blutzuckerabfall, aber auch nach einer proteinreichen Mahlzeit oder bei länger andauernder körperlicher Arbeit sowie Stress, wird Glukagon von der Bauchspeicheldrüse in die Blutbahn abgegeben. Dieses Hormon ist in seiner Wirkung auf den Glucose-, Protein- und Fettsäurestoffwechsel ein Gegenspieler des Insulins. Eine Auswirkung auf die Aldosteronsynthese ist bis jetzt noch nicht beschrieben worden, jedoch haben in der Reznik-Studie 4 von 21 Patienten mit ACTH-unabhängigem Cushing Syndrom einen eindeutigen Cortisolanstieg nach Glukagon-Gabe gezeigt (*Reznik Y et al., 2004*).

2. Zielsetzung der Arbeit

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass das Morbiditätsrisiko von PHA-Patienten deutlich höher ist als das bei Patienten mit essentieller Hypertonie. Andererseits, da eine Diagnostik (siehe 3.1.1.) bzw. Therapie in den meisten Fällen möglich ist, ist der PHA eine der wenigen kurierbaren Formen der arteriellen Hypertonie. Daher wurde von Arbeitsgruppen der Ludwig-Maximilians-Universität in München ein mehrteiliges, grundlagenwissenschaftliches und klinisches Projekt zu diesem Thema entworfen. Innerhalb dieses Gesamtprojektes befassen sich die einzelnen Teile, zu denen auch diese Arbeit gehört, mit der Verbesserung der Diagnostik des Conn-Syndroms.

Es sind, wie bisher dargestellt, eine Reihe von Rezeptoren beschrieben worden, die ektop in Nebennierentumoren exprimiert werden und sowohl in vitro, als auch in vivo zu einer Hormonsekretion führen können. Allerdings fehlt bis dato eine systematische Studie, die auf der Basis eines standardisierten Testprotokolls die Existenz abnormer Peptidhormonrezeptoren in der Nebennierenrinde von Patienten mit einem Conn-Syndrom im Vergleich zu gesunden Probanden untersucht. Das Ziel dieser Studie ist ein solches Protokoll zu erstellen, durchzuführen und klinisch zu untersuchen, ob beim primären Hyperaldosteronismus eine aberrante Rezeptorexpression vorkommt und inwieweit sie Anteil an der Pathophysiologie der Aldosteronproduktion hat. Sollte dies der Fall sein, könnte das einerseits diagnostisch, andererseits therapeutisch erhebliche Konsequenzen haben. Weiterhin soll die Hormonrezeptoraktivität der zwei häufigsten Subtypen des PHA, nämlich des Aldosteron-produzierenden Adenoms (APA) und der bilateralen idiopathischen Hyperplasie (BIAH), verglichen werden. Dies könnte nähere Hinweise auf die Entstehung und die Pathophysiologie der Grunderkrankung bringen.

3. Methoden und Materialien

3.1. Patienten und Probanden

Diese Studie wurde von der Ethikkommission der Ludwig-Maximilians-Universität in München begutachtet und freigegeben.

3.1.1. Einschlusskriterien

- schriftliche Zustimmung, volle Zustimmungsfähigkeit
- Alter über 18 Jahre
- für die Patientengruppe: klinisch und laborchemisch gesicherte Diagnose eines Conn-Syndroms (siehe 3.2.1.)
- für die Probandengruppe: keine klinischen Hinweise auf einen primären Hyperaldosteronismus bzw. keine essentielle Hypertonie

3.1.2. Ausschlusskriterien

- Alter unter 18 Jahre
- fehlende oder zweifelhafte Zustimmungsfähigkeit
- Kontrollgruppe: Vorbestehende schwere Erkrankungen, Dauermedikation (Ausnahme: Schmerzmittel, Schilddrüsenhormonsubstitution, Kontrazeptiva, Antazida)
- jede schwere Erkrankung, die aus medizinischer Sicht eine Teilnahme am Kochsalzbelastungstest oder den Stimulationstests risikobehaftet erscheinen lässt (z.B. große Hypophysentumore, schlecht eingestellter Diabetes mellitus, Phäochromozytom)
- für die Kochsalzbelastung: hypertone Krise, akute Herzerkrankungen, Herzinsuffizienz
- für die Stimulationstests: hypertensive Entgleisung, akute Herzerkrankungen, bekanntes Krampfleiden, bekannte Unverträglichkeit einzelner der verwendeten Pharmaka
- Schwangerschaft
- Alkohol- oder Drogenmissbrauch

3.1.3. Abbruchkriterien

Bei den Stimulations- und Belastungstests erfolgt ein Abbruch der Untersuchung, wenn

- starke Nebenwirkungen auftreten, die eine Behandlung an anderem Ort (z.B. Überwachungsstation) erforderlich machen.
- sich nachträglich Ausschlusskriterien oder das Nichtvorhandensein von Einschlusskriterien (siehe oben) herausstellen.
- der anwesende Arzt es aus medizinischen Gründen für indiziert hält.
- der Patient / Proband seine Einwilligung widerruft.

Ein Abbruch der Gesamtstudie war aufgrund ihrer rein diagnostischen Natur nicht zu erwarten und auch nicht vorgesehen.

Die Teilnahme an dieser klinischen Studie war freiwillig. Es stand jedem Teilnehmer frei, die Studie ohne Angabe von Gründen vorzeitig zu verlassen bzw. seine Einwilligung zurückzuziehen.

3.1.4. Patienten

An der Studie nahmen insgesamt 12 Patienten mit klinisch und laborchemisch gesichertem primärem Hyperaldosteronismus freiwillig teil. Alle Patienten entsprachen den Einschlusskriterien. Es konnten keine Ausschlusskriterien festgestellt werden. Die Diagnose "Conn-Syndrom" basierte, wie unten beschrieben, auf dem pathologischen Renin-Aldosteron-Quotienten und der insuffizienten Aldosteron-suppression nach dem Kochsalzbelastungstest (2 Liter 0.9%NaCl-Infusion innerhalb von 4 Stunden). Nach ausführlichem Aufklärungsgespräch mit dem betreuenden Arzt unterschrieben alle Teilnehmer die Patienteneinwilligungserklärung für diese Studie. Keiner brach die Studie vorzeitig ab.

Die Patienten wurden weiterhin in zwei Untergruppen aufgeteilt – 7 Patienten mit bilateraler idiopathischer adrener Hyperplasie (BIAH) und 5 mit aldosteronproduzierenden Adenomen der Nebennierenrinde (APA). Für diese Aufteilung wurden die Ergebnisse des Orthostasetests, die bildgebenden Verfahren (Sonographie, MRT, CT), sowie die selektive Blutabnahme aus den

Nebennierenvenen herangezogen. Sollten sich die Patienten nach Diagnostik und Studienabschluss einer Adrenalectomie als therapeutische Maßnahme unterzogen haben, wurde die histologische Untersuchung der Operationspräparate ebenso zur Kenntnis genommen. Auf diese Weise musste bei einem Patienten (P8) die Diagnose Adenom durch unilaterale adrenale Hyperplasie (UAH) ersetzt werden. In der Studie zählte er daher zu der Gruppe der BIAH-Patienten.

Alle Patientencharakteristika sind in Tabelle 1A und B zusammengefasst.

Spironolacton wurde für mindestens vier Wochen vor Durchführung der Stimulationstests pausiert. β -Blocker und ACE-Hemmer wurden mindestens acht Tage vor Anfang der Studie abgesetzt und durch andere Antihypertensiva ersetzt, die die in der Studie gemessenen Parameter nicht beeinflussen (Ca-Antagonisten, Alpha-Blocker).

Die Tests wurden bei 11 von 12 Patienten während ihres stationären Aufenthalts in der Medizinischen Klinik der Ludwig-Maximilians-Universität München an drei aufeinanderfolgenden Tagen durchgeführt. Einer kam an zwei Wochenenden ambulant in die Klinik.

Tabelle 1A: Klinische Charakteristika der 12 Patienten, Aldosteronkonzentrationen werden in pg/ml angegeben

N	Alter	Sex	Diagnose	RR	MAP	ARQ	K+(mmol/l)
1	63	m	BIAH	155/90	111,7	118.8	3.3
2	60	w	BIAH	160/100	120	37.1	3.6
3	65	m	BIAH	160/100	120	15.4	3.4
4	63	w	Adenom	180/110	133,3	247.8	3.1
5	62	m	BIAH	190/110	136,7	49.9	4
6	28	w	Adenom	155/110	125	32.8	1.9
7	45	w	Adenom	130/90	103,3	286.5	2.6
8	58	m	UAH/Adenom	170/100	123,3	50.9	3.4
9	64	m	Adenom	150/90	110	63.1	3
10	47	m	BIAH/Adenom	160/90	113,3	35	3.3
11	69	w	BIAH	160/110	126,7	74.6	3.1
12	55	w	Adenom	140/100	113,3	107.9	3.4

Norm <26

Tabelle 1B: Klinische Charakteristika der 12 Patienten, Aldosteronkonzentrationen werden in pg/ml angegeben

N	Diagnose	NaCl-Belastung		Orthostase		NN-Katheter	
		vor	Nach	8:00**	12:00	NNV links	NNV rechts
1	BIAH	234	96.2	189	369	1946.7	1334.5
2	BIAH	130.6	114.5	163	99	261.8*	2342
3	BIAH	35	36	35.972	54.726	40.7	1200
4	Adenom	231.5	286.6	612.7	446	1418	460
5	BIAH	454.3	258.7	88.5	256.9	162	513
6	Adenom	411.5	372.2	266.9	405.7	1200	233.9
7	Adenom	458.4	321.3	622.5	564.9	466.5	902.7
8	UAH/Adenom	143.9	84.2	60.494	104.97	6906	3228
9	Adenom	139.8	5.5	83.753	178.189	38183	18392
10	BIAH/Adenom	85	80	100	205	-	-
11	BIAH	113.5	77.6	98.3	82.1	7074	101.2*
12	Adenom	215.8	101	240.3	172.7	5800	92

Norm <70

**liegend

*zentral

3.1.5. Probanden

Acht gesunde Personen wurden als Kontrollgruppe in die Studie eingeschlossen. Nach gründlicher Anamnese und körperlicher Untersuchung konnten keine schweren Erkrankungen festgestellt werden, keiner litt an Hypertonie und es konnten keine weiteren Ausschlusskriterien festgestellt werden. Alle unterschrieben die Probandeneinwilligungserklärung, und keiner brach die Studie vorzeitig ab. Die Probandencharakteristika sind in Tabelle 2 zusammengefasst.

Tabelle 2: Klinische Charakteristika der 8 Probanden

n	Alter	Sex	RR	MAP	K+(mmol/l)	ARQ
1	23	w	110/80	90	4.1	3.8
2	29	w	120/80	93.3	3.8	10.8
3	23	w	120/90	100	3.9	5.3
4	24	w	100/70	80	4	14.7
5	27	w	90/60	70	3.4	22.5
6	31	m	130/80	103.3	4.1	2.6
7	26	m	130/70	103.3	4.2	6.5
8	25	w	110/80	90	3.8	4.6

Tabelle 3: Zusammenfassung der klinischen Charakteristika aller Studienteilnehmer
(Durchschnitt \pm Standardabweichung)

	BIAH	APA	Control
N	7	5	8
Alter	60.6 \pm 7.0	51 \pm 14.9	26 \pm 2.9
Art. Mitteldruck (durchschnittlich)	123.1 \pm 9.5	117 \pm 12.0	91.24 \pm 11.7
min. K⁺ Level (mmol/l)	3.44 \pm 0.29	2.8 \pm 0.6	3.9 \pm 0.25
Aldosteron / Renin Ratio	54.5 \pm 33.6	147.6 \pm 113.2	8.8 \pm 6.4
Aldo post NaCl (durchschnittlich)	107.7 \pm 71.1	217.3 \pm 156.5	n.d.
n Antihypertensiva (durchschnittlich)	3.7 \pm 1.3	2.6 \pm 0.6	0 \pm 0
n spontane Hypokalämien	3	4	0

3.2. Methoden

3.2.1. Diagnostik des Conn-Syndroms

Die Aufnahme eines Patienten in die Studie setzte eine ausführliche Diagnostik zum Beweis des Vorliegens eines primären Hyperaldosteronismus voraus. Grundsätzlich besteht der Verdacht auf einen PHA bei Patienten mit einer therapierefraktären Hypertonie, definiert als Nichterreichen des Zielblutdrucks von 140/90 mmHg trotz Behandlung mit drei ausreichend dosierten Antihypertensiva, inklusive eines Diuretikums (*Calhoun DA et al., 2008*). Eine Hypokaliämie als Teil des PHA-Symptomenkomplexes ist, wie schon erwähnt, nicht obligatorisch. Trotzdem war das Serumkalium bei allen bis auf einen teilnehmenden Patienten im unteren Normbereich oder erniedrigt (Tabelle 1A). Eine Übersicht bezüglich des diagnostischen Vorgehens bei Verdacht auf PHA vor Aufnahme in diese Studie gibt Abbildung 2 am Ende dieses Kapitels.

Als gängiges Screeningverfahren für den PHA gilt zurzeit die Bestimmung der absoluten **Aldosteron-Serum-Konzentration** in Kombination mit dem **Aldosteron-Renin-Quotienten (ARQ)**. Das Prinzip dieses Tests besteht darin, dass mit einer Dauererhöhung des Aldosteronspiegels in Folge einer Überproduktion bei primärem Hyperaldosteronismus der Reninspiegel im Blut unterdrückt wird, was zu höheren ARQ-Werten führt. Antihypertensiva wie ACE-Hemmer, β -Blocker und

Aldosteronrezeptorantagonisten (Spironolacton) können die Einzelparameter sowie den Quotienten in unvorhersehbarer Weise beeinflussen. Aus diesem Grund wurde nach Möglichkeit versucht, die oben genannten Medikamente mindestens eine Woche (Spironolacton - 4 Wochen) vor der Durchführung der Diagnostik, wenn klinisch vertretbar, abzusetzen oder zumindest umzustellen. Als Alternativpräparate, welche kaum mit der Messung des ARQ interferieren, wurden Kalziumantagonisten vom Nifedipintyp, sowie α_1 -Blocker angesetzt (*Diederich S et al., 2008*). Aufgrund der zirkadianen Rhythmik von Renin und Aldosteron erfolgte die Messung jeweils am frühen Vormittag zwischen 8 und 10 Uhr. Da die Werte von der Körperposition stark abhängig sind, mussten die Patienten mindestens 2 Stunden aufgestanden sein und die Blutabnahme erfolgte dann nach 15 Minuten sitzender Position.

Um die Spezifität des Screenings zu verbessern, sollte eine erhöhte Aldosteron-Renin-Ratio nur in Gegenwart einer ebenfalls erhöhten Aldosteronkonzentration gewertet werden. Ist das der Fall, können verschiedene Tests verwendet werden, um eine fehlende Supprimierbarkeit von Aldosteron zu bestätigen. Zu Sicherung der Diagnose haben wir bei unseren Patienten einen **NaCl-Belastungstest** durchgeführt. Bei diesem Verfahren erhält der Patient über 4 Stunden 2000ml 0,9% NaCl-Lösung, wobei vor und nach der Infusion die Aldosteronkonzentration gemessen wird. Nach einer akuten Volumenbelastung wird im Normalfall eine Suppression des RAA-Systems bzw. des Serum-Aldosterons erwartet. Eine Aldosteronkonzentration $<50\text{pg/ml}$ (139 pmol/l) nach Kochsalzinfusion schließt die Diagnose PHA aus, bei einer Aldosteronkonzentration von über 100pg/ml ($277,4\text{ pmol/l}$) gilt das Conn-Syndrom als gesichert. Im Bereich zwischen 50 und 100pg/ml ist eine sichere Aussage nicht möglich (*Funder JW et al., 2008*). Eine engmaschige Überwachung der Patienten ist erforderlich, da als Nebenwirkung durch die massive Volumenbelastung ein starker Blutdruckanstieg möglich ist. Der alleinige NaCl-Belastungstest gilt nicht mehr als sichere Screening-Methode für den PHA, da er eine geringe Spezifität (84-97%) und Sensitivität (90-100%) aufweist (*E.Born-Frontsberg, Der Internist 2009*). In einer früheren Studie mit 1036 nicht vorselektierten hypertensiven Patienten wurde mit diesem Test nur bei 2,2% ein PHA diagnostiziert (*Streeten DH et al., 1979*). Eine kleinere Studie, bei der das Plasmaaldosteron im Bezug zur Reninaktivität gemessen wurde, deutet darauf hin, dass die Inzidenz des PHA bei ca. 10% der essentiellen Hypertoniker liegt (*Gordon*

RD et al., 1994). Durch die Kombination beider Testverfahren kann jedoch eine sehr hohe diagnostische Sicherheit erreicht werden.

Bei gesichertem PHA ist eine weitere Abklärung der **Differentialdiagnosen APA vs. BIAH** im Hinblick auf die weitere Therapie notwendig. Hierfür werden sowohl biochemische (Aldosteronbestimmung im Orthostasetest) als auch bildgebende Verfahren (Sonographie, CT oder MRT) eingesetzt. Da in dieser Studie beide Formen des PHA verglichen werden sollten, wurde auf diese ausgedehnte Diagnostik viel Wert gelegt.

Für den **Orthostasetest** wird die Serumaldosteronkonzentration um 8 Uhr bei mindestens seit drei Stunden liegendem Patienten mit der Konzentration um 12 Uhr bei stehendem Patienten verglichen. Ein scheinbar paradoxer Aldosteronabfall ist charakteristisch für die Aldosteron-produzierenden Adenome, die eine ACTH-abhängige Hormonsekretion aufweisen, aber nicht mehr auf Angiotensin II ansprechen (*Mancini T et al., 2003*). Im Gegensatz dazu ist die Aldosteronsekretion bei der idiopathischen Nebennierenhyperplasie typischerweise Angiotensin II-abhängig (*Wisgerhof M et al., 1985*), was sich mit einem Anstieg der Aldosteronkonzentration unter Orthostase äußert. Die Ergebnisse des Orthostasetests werden mit denen der jeweiligen **bildgebenden Untersuchungen** verglichen (in den meisten Fällen MRT oder CT). Sollten die Diagnosen übereinstimmen, wird die entsprechende spezifische Therapie durchgeführt, bei APA einseitige Adrenalectomie, bei BIAH Spironolactontherapie.

Allerdings sind ca. 30% aller Adenome Angiotensin II-sensibel und zeigen einen Aldosteronanstieg bei aufrechter Körperhaltung (*Nomura K et al., 1992*). In solchen Fällen, in denen die Ergebnisse des Orthostasetests denen der bildgebenden Verfahren nicht entsprechen, und deshalb eine eindeutige Diagnose nicht gestellt werden kann, ist eine **selektive Venenblutentnahme** mit Aldosteron- und Cortisolbestimmung indiziert. Bei Patienten mit APA ist ein Gradient des Aldosteron/Cortisol-Quotienten von mindestens 3:1 zu der tumortragenden Seite zu erwarten. Allerdings erfordert diese Untersuchung sehr viel Erfahrung und die Fehlerquote ist relativ hoch. Die Erfolgsrate für eine adäquate Durchführung der Untersuchung und ein aussagekräftiges Ergebnis liegt etwa bei 63-97%.

Die Studientests wurden unmittelbar nach der Diagnostik, aber vor dem Beginn der Therapie durchgeführt.

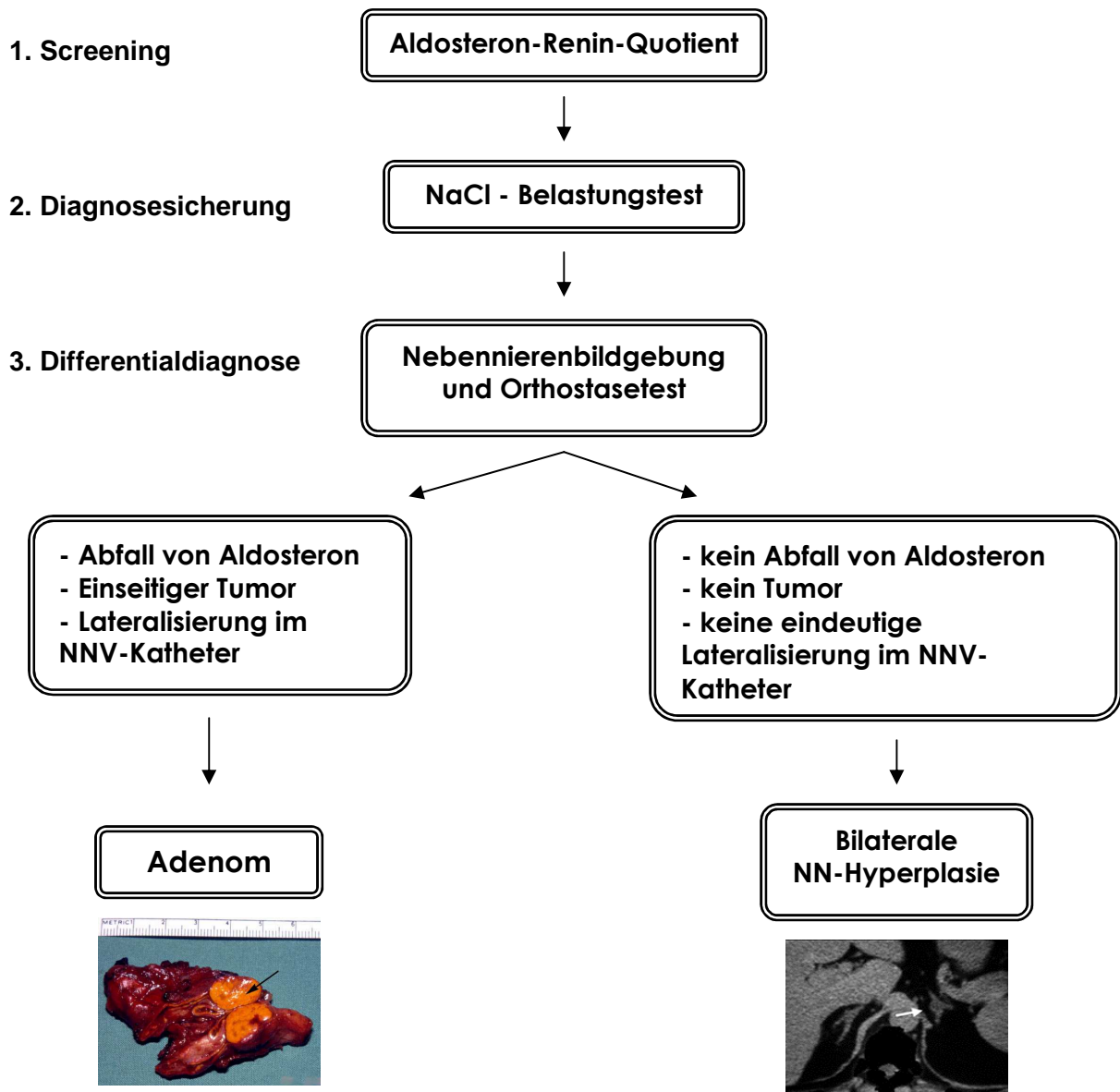


Abb.2. Diagnostisches Vorgehen bei der Abklärung des primären Hyperaldosteronismus bei den Patienten dieser Studie.

3.2.2. Testprotokoll

Als Grundlage für diese Studie wurde ein Dreitages-Testprotokoll (Tabelle 4) aus den Studien von *Lacroix et al (2001)* und *Reznik et al (2004)* adaptiert, mit dem die Aktivität von aberranten Hormonrezeptoren untersucht werden sollte (Tabelle 5). Acht endokrinologische Stimulationstests wurden an drei Tagen durchgeführt und aus den durchschnittlich halbstündlich entnommenen Blutproben wurden Aldosteron-Tagesprofile erstellt. Anhand dieser Tagesprofile wollte man später feststellen, durch welche Botenstoffe eine Aldosteronausschüttung zu provozieren war. Parallel zu den Blutentnahmen wurden auch Speichelproben gesammelt, die als Material für einen anderen Teil des Gesamtprojekts „Conn-Syndrom“ dienen sollten, und deshalb hier nicht weiter erwähnt werden.

Tabelle 4: Dreitages-Testprotokoll

1. Tag		2. Tag		3. Tag		
Liegen ab 5:00, Aufstehen erst nach 2. Blutentnahme		Keine Vorbereitung		Keine Vorbereitung		
Testsubstanz	Blutentnahme	Testsubstanz	Blutentnahme	Testsubstanz	Blutentnahme	
8:00	X liegend	8:00	X	8:00	Dex 0,5 mg X	
8:15	X Orthostase liegend aufstehen	8:15	X 100µg GnRH i.v.	8:15	X 10 iE AVP i.m.	
8:30		8:30		8:30		
8:45		8:45		8:45		
9:00		9:00		9:00		
9:15		9:15		9:15		
9:30		9:30		9:30		
9:45		9:45		9:45		
10:00		10:00		10:00		
10:15		X		10:15		X
10:30				10:30		X 10 mg MCP i.v.
10:45				10:45		X
11:00				11:00		X
11:15		11:15	X			
11:30		11:30	X 200µg TRH i.v.			
11:45		11:45	X			
12:00		12:00	X			
12:15	X	12:15	X			
12:30	X Testmahlzeit	12:30	X	12:30	X	
12:45		12:45		12:45		
13:00	X	13:00	X	13:00		
13:15		13:15		13:15		
13:30	X	13:30	X	13:30		
13:45		13:45		13:45		
14:00	X	14:00	X	14:00		
14:15		14:15		14:15		
14:30	X	14:30	X	14:30		
14:45	X 250 µg ACTH i.v.	14:45	X 1mg Glukagon i.v.	14:45		
15:00		15:00		15:00		
15:15	X	15:15	X	15:15		
15:30		15:30		15:30		
15:45	X	15:45	X	15:45		
16:00		16:00		16:00		
16:15	X	16:15		16:15		
16:30		16:30		16:30		
16:45	X	16:45		16:45		
17:00		17:00		17:00		
		23:00	Dex 1 mg			

Mit x sind die regelmäßigen Blutabnahmen markiert

Tabelle 5: Alle Stimulationstests mit den von ihnen zu stimulierenden Rezeptoren

Test	Rezeptor	
Orthostase	AT II-/ β -adrenerge-Rezeptoren	Tag 1
Testmahlzeit	GIP-Rezeptoren	
ACTH-Stimulation	ACTH-Rezeptoren	
GnRH-Stimulation	LH/hCG-Rezeptoren	Tag 2
TRH-Stimulation	TRH/TSH-Rezeptoren	
Glukagon-Stimulation	Glukagon-Rezeptoren	
AVP-Stimulation	Vasopressin-Rezeptoren	Tag 3
MCP-Stimulation	5-HT4-Rezeptoren	

3.2.2.1. Tag 1

Am ersten Tag wurden ein Orthostasetest, ein Mahlzeit (Mixed Meal) – Test und eine ACTH - Stimulation durchgeführt (Schema 1).



Schema 1. Tag 1

08:15-12:15 Orthostasetest

Durch den Orthostasetest wurde der Einfluß von Katecholaminen und Angiotensin II auf die Aldosteronsekretion untersucht. Die Studienteilnehmer mussten ab fünf Uhr morgens liegen bleiben. Um 8 Uhr wurde ihnen eine Verweilkanüle in eine Armvene gelegt und die ersten zwei Blutproben im Abstand von 15 Minuten entnommen. Danach wurden die Personen aufgefordert aufzustehen und die nächsten Stunden aufrecht zu bleiben und sich dabei nach Möglichkeit ohne große körperliche Anstrengung zu bewegen. Weitere Blutproben für diesen Test wurden um 8:45, 10:15 und 12:15 entnommen.

12:30-14:30 Mahlzeit-Test

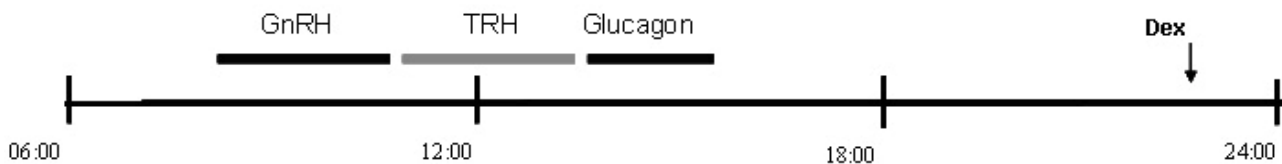
Um 12:30 wurde ein standardisiertes Mittagsmenu serviert und es wurden weiterhin alle 30 Minuten Blutproben abgenommen. Mit der Testmahlzeit wurde die adrenale Reaktion auf gastrointestinale Hormone getestet.

14:45-16:45 ACTH-Stimulation

Um 14:45 wurden 250µg ACTH 1-24 (Synacthen®, Novartis, Nürnberg, Deutschland) intravenös verabreicht, um die Aktivität von ACTH-Rezeptoren auf der Nebennierenrinde zu beobachten. Blutproben wurden halbstündlich bis 16:45 gesammelt.

3.2.2.2. Tag 2

Am Tag 2 wurden GnRH-, TRH- und Glucagon-Stimulationen durchgeführt (Schema 2). Um 8:00 wurde die erste Blutprobe abgenommen, die als Basalwert für den ersten Test dienen sollte.



Schema 2. Tag 2

08:15-11:15 GnRH-Stimulation

Um 8:15 wurde den Testpersonen 100µg GnRH (Relefact LHRH®, Aventis-Sanofi, Frankfurt, Deutschland) injiziert. Blutproben wurden alle 30 Minuten bis anschließend 11:15 gesammelt.

11:30-14:30 TRH-Stimulation

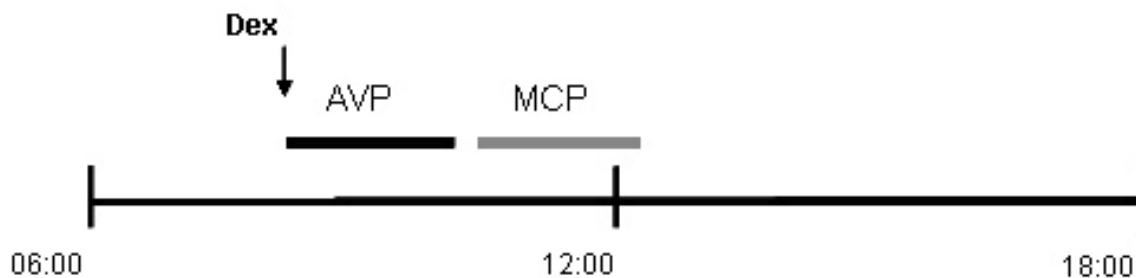
Nach einer TRH-Rezeptor-Aktivität wurde durch die Gabe von 200µg TRH (Antepan®, Henning, Berlin, Deutschland) gesucht. Das Medikament wurde um 11:30 intravenös verabreicht, anschließend wurde bis 14:30 halbstündlich Blut abgenommen.

14:45-15:45 Glukagon-Stimulation

Als letzter Test des zweiten Tages wurde die Glukagon-Stimulation durchgeführt. Um 14:45 wurde den Studienteilnehmern 1mg Glukagon (GlucaGen®, NovoNordisk, Mainz, Deutschland) intravenös injiziert. Blutproben wurden halbstündlich bis 16:45 gesammelt.

3.2.2.3. Tag 3

Die Tests am Tag 3 wurden unter Dexamethason-Suppression durchgeführt: 1mg Dexamethason wurde um 23:00 am Abend vor dem dritten Testtag per oral verabreicht und 2mg um 8:00 am dritten Testtag. Dadurch sollte gewährleistet sein, dass die Ergebnisse der an diesem Tag laufenden Tests unabhängig von einer möglichen ACTH-Ausschüttung, insbesondere nach dem ersten Test mit Vasopressin-Stimulation, sein werden. Als zweiter Test an diesem Tag wurde eine Stimulation mit Metoclopramid durchgeführt (Schema 3). Die erste Blutabnahme wurde als Basalwert für den ersten Test abgenommen.



Schema 3. Tag 3

08:15-10:15 Vasopressin-Stimulation

Zehn Einheiten L-Arginin-Vasopressin (Vasopressin Injektion USP®, American Regent, Shirley, N.Y., USA) wurden um 8:15 intramuskulär verabreicht und es wurden alle 30 Minuten bis 10:15 Blutproben abgenommen. Dadurch sollte eine Beteiligung von Vasopressinrezeptoren (V_1) an der Aldosteronproduktion untersucht werden. Alle Personen befanden sich unter ständiger Blutdruckkontrolle.

10:30-12:30 Metoclopramid-Stimulation

Um eine mögliche Expression von Serotonin-Typ-4-Rezeptoren (5 HT4-Rezeptoren) zu untersuchen, wurden um 10:30 10mg Metoclopramid (Paspertin®, Solvay, Hannover, Deutschland) intravenös injiziert. Weitere vier Blutproben wurden im Abstand von 30 Minuten abgenommen.

3.2.2.4. Tag 4

Am vierten Tag wurde bei den Kontrollpersonen ein Aldosterontagesprofil erstellt, ohne Gabe von Testsubstanzen und ohne vorgeschriebene Einschränkungen.

3.2.3. Hormon Assays

3.2.3.1. Aldosteronbestimmung

- **Medium:** kommerzielle RIAs - Coat-A-Count RIA (Coat-A-Count Aldosterone (PITKAL-4, 2005-03-18) der DPC (Diagnostic Products Corporation - Biermann, Bad Nauheim, Deutschland)
- **Messgerät:** Wallac 1470 Wizard Gammacounter (Perkin-Elmer, Wellesley, MA, USA)

3.2.3.2. Cortisolbestimmung

- **Medium:** kompetitive Festphasen-Chemiluminiszenz-Immunoassays (Cortisol-LIA, IBC-Immuno-Biological-Laboratories, Hamburg, Deutschland)
- **Messgerät:** Victor 1420 *multilable counter* (Perkin-Elmer, Wellesley, MA, USA)

3.2.3.3. Reninbestimmung

IRMA (Renin III Generation IRMA, CISbio International. Gif-sur-Yvette Cedex, France)

3.3. Klinische Labormaterialien und Aufbewahrung der Blutproben

Alle Blutproben wurden als EDTA-Blut abgenommen. Das Blut wurde gleich nach dem Testtag zentrifugiert, das Serum abpipettiert und sofort bei -20°C eingefroren. So wurden die Proben bis zu den Messungen gelagert.

3.4. Auswertung

3.4.1. Deskriptive Auswertung

Nach der Laborbestimmung von Aldosteron und Cortisol wurden für jeden Teilnehmer sowohl Aldosteron- als auch Cortisol-Tagesprofile erstellt, bei denen die Hormonanstiege gut grafisch dargestellt werden konnten. Als Beispiel sind in Abbildung 3 die Tagesprofile der drei Testtage von Patient 8 dargestellt. Alle Anstiege innerhalb der ersten Stunde nach einer Stimulation wurden als prozentualer Anstieg vom Basalwert (letzte Blutabnahme vor der entsprechenden Hormonstimulation) umgerechnet und folgendermaßen bewertet: Anstieg unter 25%: keine Antwort; Anstieg über 50%: definitive Antwort. Alle Prozente wurden nach der folgenden Formel berechnet:

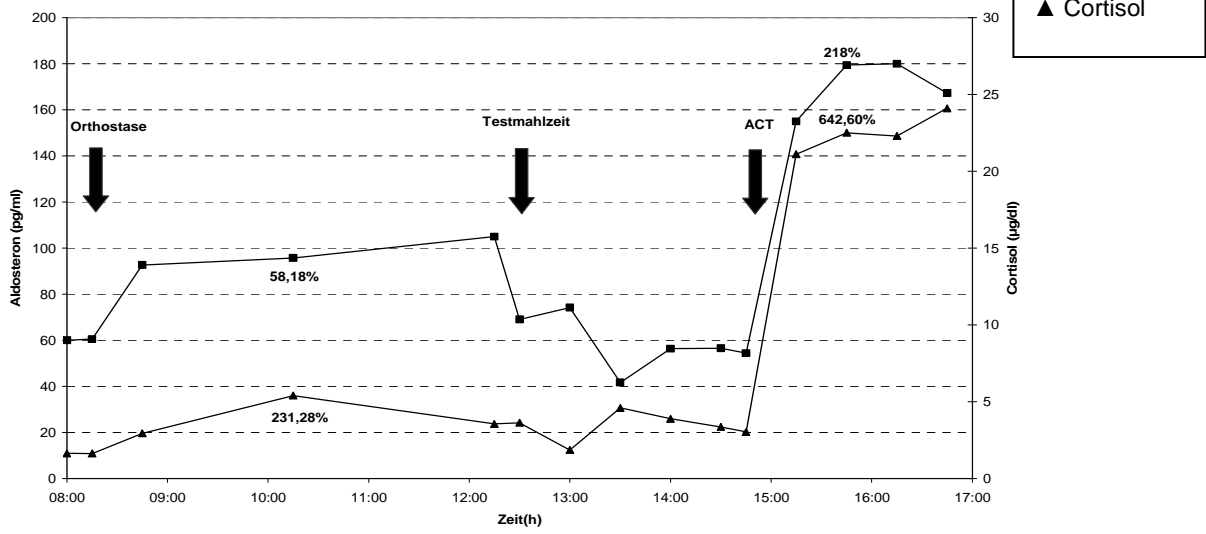
$$\frac{(\text{Höchstwert nach 30' bzw. 60'}) - (\text{Basalwert})}{\text{Basalwert}} \times 100 = \text{Anstieg in Prozent}$$

Mit wenigen Ausnahmen wurden nur Aldosteronanstiege von über 50% als positiv gewertet. Die Cortisolwerte wurden herangezogen um die echten positiven Antworten von den durch ACTH verursachten Aldosteronanstiegen abzugrenzen (siehe Diskussion).

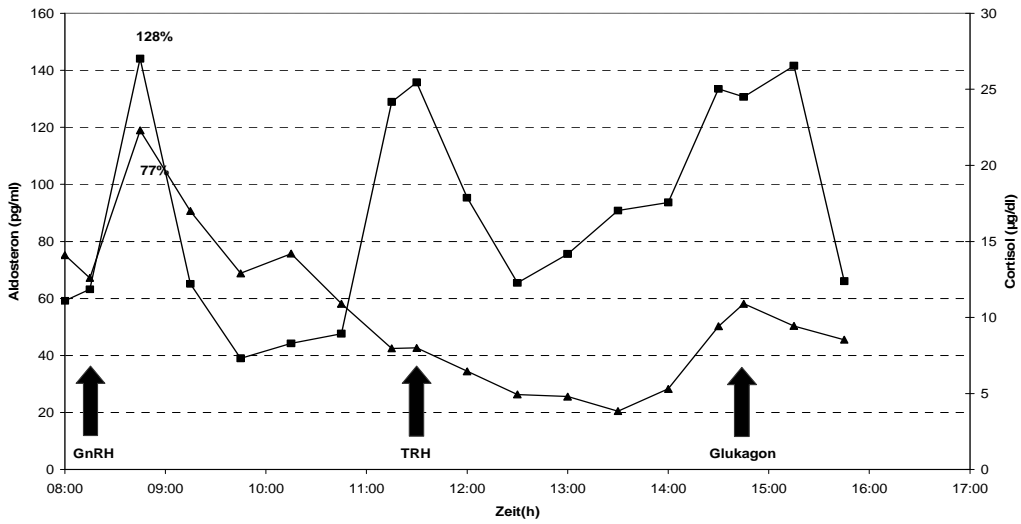
3.4.2. Statistische Auswertung

Alle Daten wurden mit Excel (Microsoft) und StatView (SAS Institute, Cary, NC, USA) analysiert. Für die statistische Analyse wurde der Mann-Whitney U Test eingesetzt, um die Ergebnisse der Conn-Patienten mit denen der Testpersonen zu vergleichen. Eine Signifikanz wurde bei $p < 0,05$ angenommen.

Patient 8/ Tag 1



Patient 8/ Tag 2



Patient 8/ Tag 3

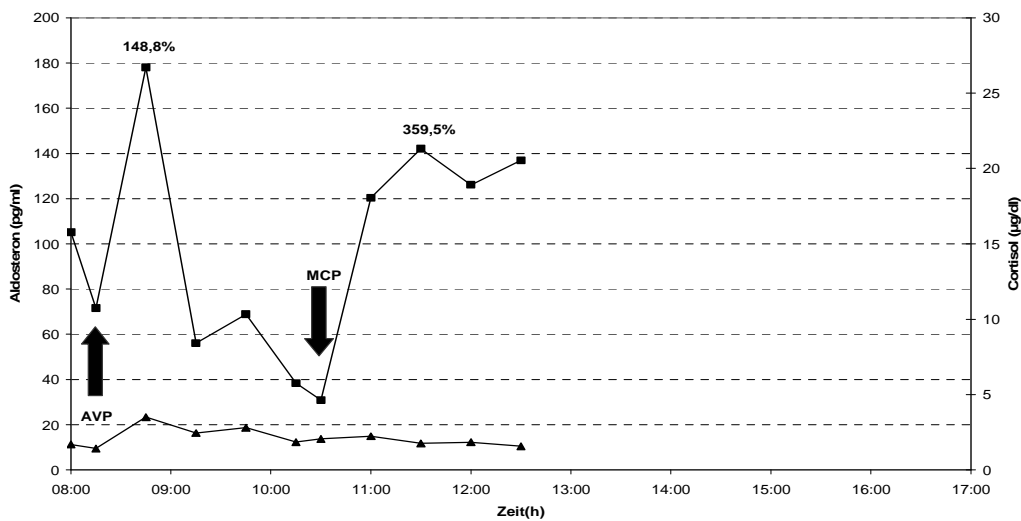


Abb.3. Testtagesprofile von Patient 8

4. Ergebnisse

Nachdem im Ergebnisteil zuerst auf die Aldosteronkonzentrationen in den drei verschiedenen Gruppen im Gesamtvergleich eingegangen wird, folgen die Zahlen der Tests im Einzelnen. Anschließend werden die Konzentrationsveränderungen von Aldosteron in den ersten 30 und 60 Minuten nach der Stimulation für die drei Personengruppen (APA, BIAH und Probanden) in separaten Abbildungen dargestellt. Es sind nur die aussagekräftigen Ergebnisse abgebildet.

Zum Schluss werden ebenso die Cortisolwerte als prozentualer Anstieg vom Basalwert präsentiert, um einen Überblick zu schaffen, welche positiven Ergebnisse möglicherweise durch eine unerwünschte ACTH-Freisetzung oder aber durch eine direkte Reaktion der Zona fasciculata verursacht wurden.

4.1. Allgemeine Beobachtungen

Der durchschnittliche Verlauf der Aldosteronkonzentrationen über die drei Testtage für die APA, BIAH und Kontrollpersonen ist in Abbildung 5 abzulesen.

An den ersten zwei Tagen wurden bei den Adenompatienten signifikant höhere Aldosteronspiegel gemessen als bei den anderen zwei Gruppen (Basalwerte um 8:00 an Tag 1 für Aldosteron +/-SEM: APA 432+/-113, BIAH 102+/-17 ($p < 0,05$), Probanden 58 +/-16 ($p < 0,006$)). Am dritten Tag, nach der Gabe von insgesamt 1,5mg Dexamethason, wurden für die APA-Patienten im Vergleich zu Tag 1 und 2 deutlich niedrigere Werte bestimmt (von 554 +/-164 um 8:00 an Tag 2 auf 236 +/-65 um 8:00 an Tag 3 ($p < 0,02$)). Im Vergleich, bei deutlich niedrigeren Absolutwerten, reagierten die BIAH-Patienten schwächer mit einem durchschnittlichen Aldosteronabfall von 139+/-43 auf 99+/-21 ($p < 0,9$). Die Aldosteronkonzentration im Blut der Probanden am dritten Tag (nach Suppression) war am höchsten im Vergleich zu den ersten 2 Tagen und zu dem Kontrolltag.

Auf der Abbildung des Kontrolltages (Abb. 4A), der nur bei den gesunden Probanden und ohne vorgegebene Einschränkungen durchgeführt wurde, erkennt man durchaus eine gewisse ACTH-abhängige Tagesrhythmik mit einem insgesamt höherem

Spiegel am Vormittag, mit einem Höchstanstieg direkt nach dem Aufstehen und einer fast genau so hohen Konzentration am Mittag. Ansonsten sind keine übermäßigen Schwankungen des Aldosteronspiegels abzulesen (durchschnittliche Konzentration \pm Standardabweichung = $125 \pm 36,85$). Zum Vergleich sind in Abb. 4 B die durchschnittlichen Konzentrationen von Cortisol am Kontrolltag abgebildet. Man sieht eine insgesamt ruhigere Kurve, mit Höchstwerten in den Morgenstunden, einen kontinuierlichen Abfall bis zum Mittag und dann einen leicht angedeuteten Anstieg in die Abendstunden.

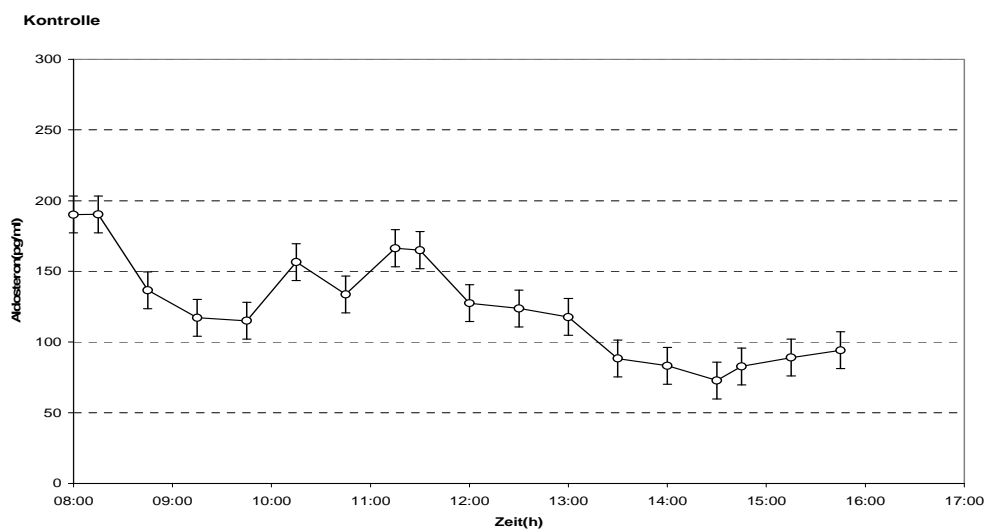


Abb.4 A. Durchschnittliche Aldosteronkonzentration in $\mu\text{g/ml}$ ($\pm\text{SEM}$) am Kontrolltag bei den gesunden Probanden.

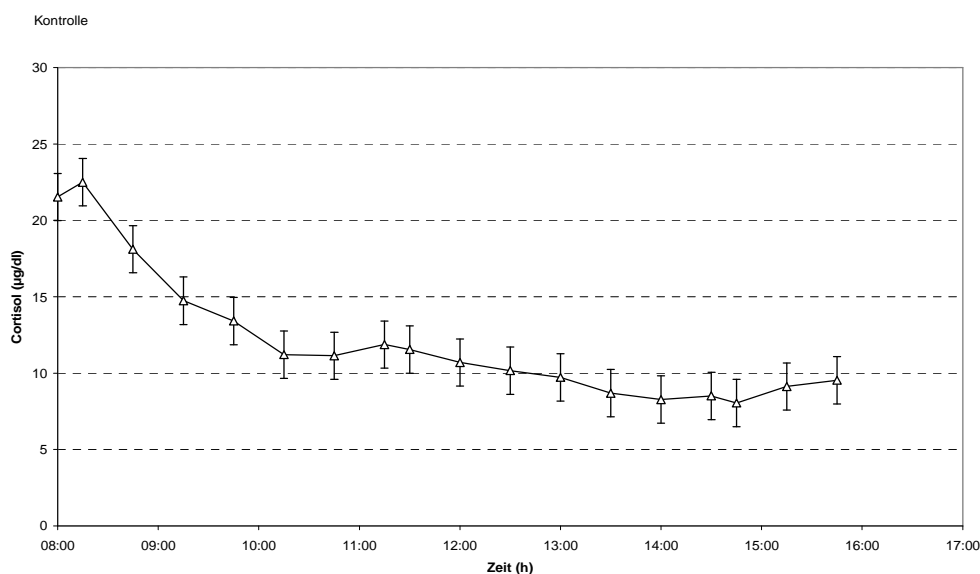
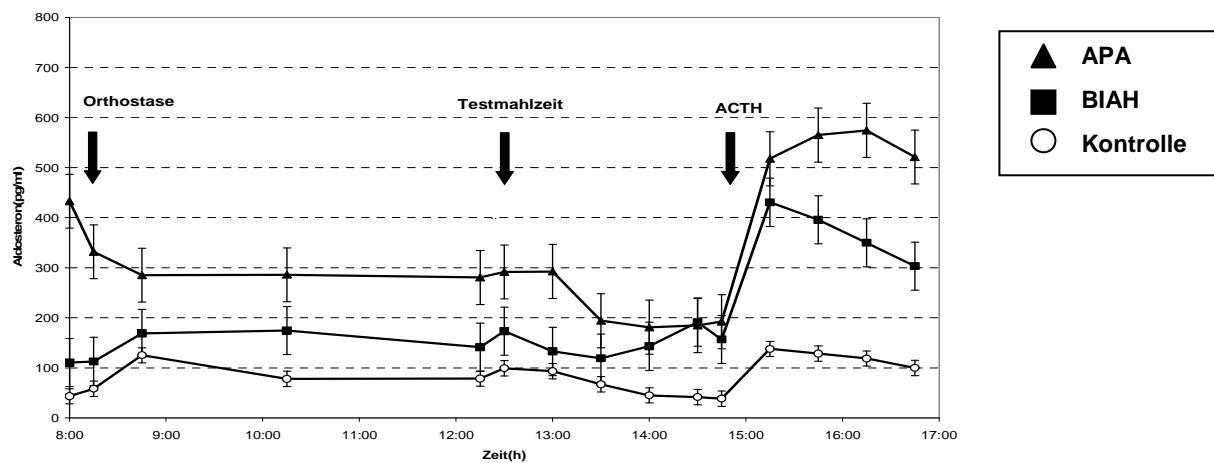
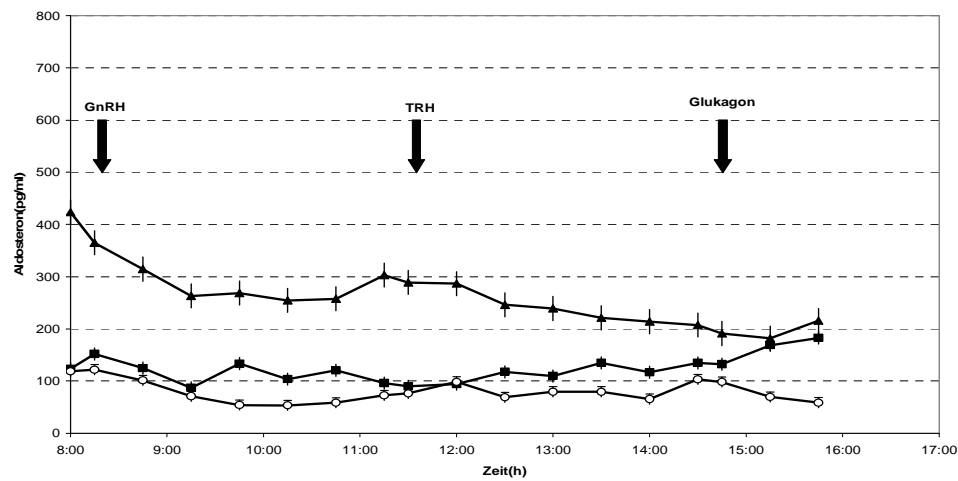


Abb.4 B. Durchschnittliche Cortisolkonzentration in $\mu\text{g/dl}$ ($\pm\text{SEM}$) am Kontrolltag bei den gesunden Probanden.

Tag 1



Tag 2



Tag 3

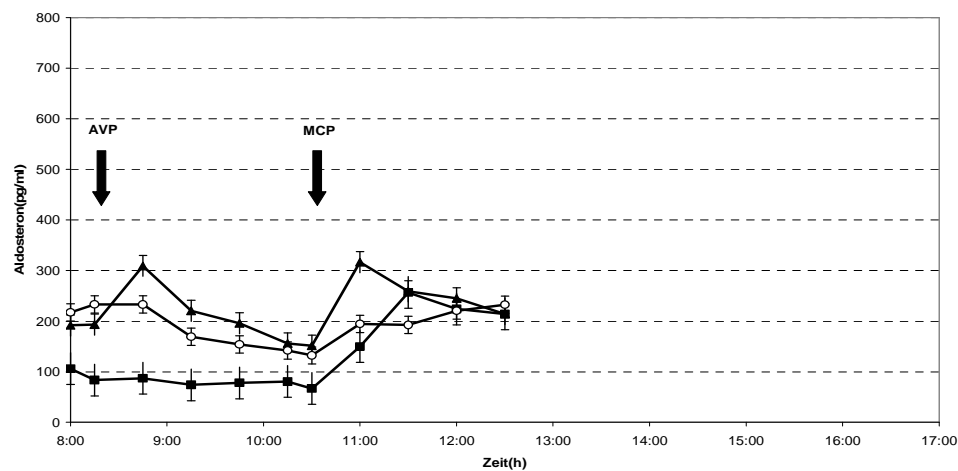


Abb. 5. Durchschnittliche Aldosteronkonzentrationen in pg/ml (\pm SEM) während der drei Testtage für die drei Gruppen (siehe Legende). Die Applikationen der Testsubstanzen sind mit Pfeilen gekennzeichnet.

4.2. Testergebnisse

Die am **ersten Tag** durchgeführten Tests ergaben folgende Ergebnisse:

Einer von fünf Patienten (20%) mit aldosteronproduzierendem Adenom, drei von sieben Patienten (43%) mit adrenaler Hyperplasie und drei von acht (37%) gesunden Probanden zeigten einen Aldosteronanstieg von über 50% im Orthostasetest. Keine der getesteten Personen reagierte auf die Testmahlzeit. Wie erwartet, reagierten fast alle Patienten (11/12) und alle Probanden eindeutig auf die Stimulation mit ACTH. Bei dem einzigen Patienten, der die 50% nicht erreichte (41%), wurden insgesamt extrem hohen Aldosteronwerte gemessen. Keine von den drei Gruppen zeichnete sich mit einem deutlich höheren Prozentanstieg im Vergleich zu den anderen (APA/BIAH $p < 0,29$; APA/Kontrolle $p < 0,3$; BIAH/Kontrolle $p < 0,06$) aus.

Dadurch, dass bei der Orthostase keine Medikamente verabreicht wurden, traten wie erwartet keine Nebenwirkungen auf, genau so wie bei dem Mahlzeiten-Test. Alle Personen vertrugen Synacthen® gut, und es traten keine allergischen Reaktionen oder andere Nebenwirkungen auf.

Am **zweiten Tag** zeigten ein Patient mit APA (20%) und zwei Patienten mit BIAH (29%) eine positive Antwort auf GnRH, im Gegensatz zu den gesunden Personen, von denen keiner davon beeinflusst wurde (Abb.6). Es wurden weiterhin keine Nebenwirkungen beobachtet.

Ein einziger Patient (14%) mit bilateraler Hyperplasie reagierte eindeutig auf TSH, aber keiner mit Adenom sowie keine gesunde Person (Abb.7). Ähnlich wie für das Medikament beschrieben und in der Studienaufklärung erwähnt, traten bei dem größten Teil der Testpersonen die folgenden leichten Nebenwirkungen auf: Tachykardie, leichte Übelkeit, verstärktes Schwitzen, innere Unruhe und Nervosität, Hitzewallungen. Alle diese Nebenerscheinungen traten in den ersten 5 bis 15 Minuten nach Verabreichung von TRH auf und alle waren innerhalb der nächsten halben Stunde verschwunden. Dabei war keine Person dadurch therapiebedürftig.

Jeweils ein Patient mit APA (20%), mit BIAH (14%) und ein Proband (12%) reagierten eindeutig auf Glukagon (Abb.8). Sowohl der Blutdruck als auch der Blutzucker wurden vor und nach der GlucaGen®-Injektion kontrolliert. Bei keiner der Personen wurde ein gefährlicher Blutdruckanstieg oder eine therapiebedürftige

Hyperglykämie festgestellt. Als Nebenwirkung trat bei manchen Personen leichte Übelkeit auf.

Am **dritten Tag** zeigten zwei der Adenom-Patienten (40%), vier der Hyperplasie-Patienten (57%) und drei der Probanden (37%) einen mindestens 50%igen Aldosteronanstieg nach der Stimulation mit Vasopressin (Abb.9). Innerhalb der ersten 30 Minuten nach der Vasopressin-Injektion wurden folgende Nebenwirkungen beobachtet:

Bei einem (P9) der zwölf Patienten trat ein starker Anstieg des Blutdruckes bis 200/110 mmHg auf, welcher von starker Übelkeit begleitet wurde. Es wurden zwei Hübe Nitroglycerin verabreicht, daraufhin fiel der Blutdruck wieder in den Normbereich ab. Gegen die Übelkeit hatte der Patient eine Ampulle Kevatril® i.v. erhalten. Nach Blutdrucknormalisierung ging es dem Patienten weiterhin gut und die Tests konnten ununterbrochen erfolgen.

Bei fünf Probanden (K1, 2, 4, 5, 8) – alle weiblich – traten mittel- bis sehr starke Unterleibschmerzen auf, teilweise beschrieben wie Uteruskontraktionen. Dabei erhielten zwei der Probandinnen (K2, 8) Buscopan®-Kurzinfusionen, was zur schnellen Linderung der Schmerzen führte. Bei einer der Betroffenen traten begleitend starke Übelkeit und Erbrechen auf.

Einer der männlichen Probanden (K6) klagte über „starkes Unwohlsein und Kreislaufprobleme“. Bei ihm wurde eine Blutdruckerhöhung bis 180/100 mmHg gemessen. Nach Hinlegen und Hochlagern der unteren Extremitäten trat eine schnelle Besserung ein, der Blutdruck fiel nach kurzer Zeit und eine medikamentöse Therapie war nicht notwendig.

Eine allergische Reaktion mit Urtikaria wurde als Spätkomplikation bei Patient 5 am folgenden Tag festgestellt. Dabei sind keine lebensgefährlichen anaphylaktischen Erscheinungen aufgetreten. Gegen die Urtikaria und den begleitenden Juckreiz wurde Fenistil® p.o. verabreicht. Die allergische Reaktion klang innerhalb der folgenden 3-4 Tage langsam ab.

Nach der Gabe von Metoclopramid wurden positive Reaktionen bei allen BIAH- und bei vier der APA-Patienten (80%) gemessen, sowie bei drei der gesunden Personen (37%). Manche der Studienteilnehmer, vor allem die Probanden, berichteten von einer allgemeinen psychischen Unruhe, die fast gleich nach der Injektion aufgetreten wäre und ca. 20 Minuten angehalten hätte. Alle Personen verspürten ein starkes Müdigkeitsgefühl ca. 30 Minuten nach der Gabe des Medikamentes.

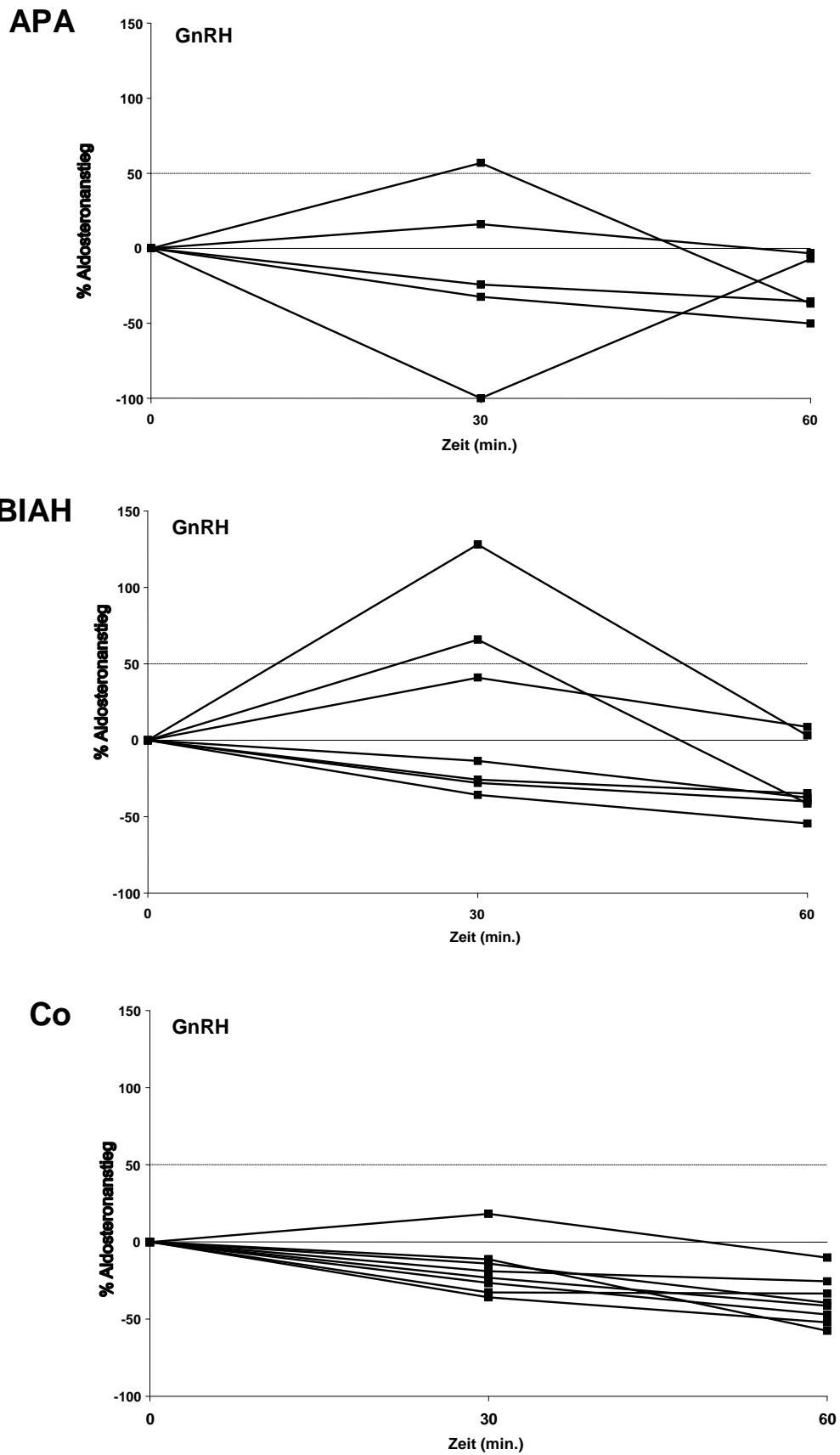


Abb.6. Ergebnisse der GnRH-Stimulation der individuellen Patienten und Kontrollen

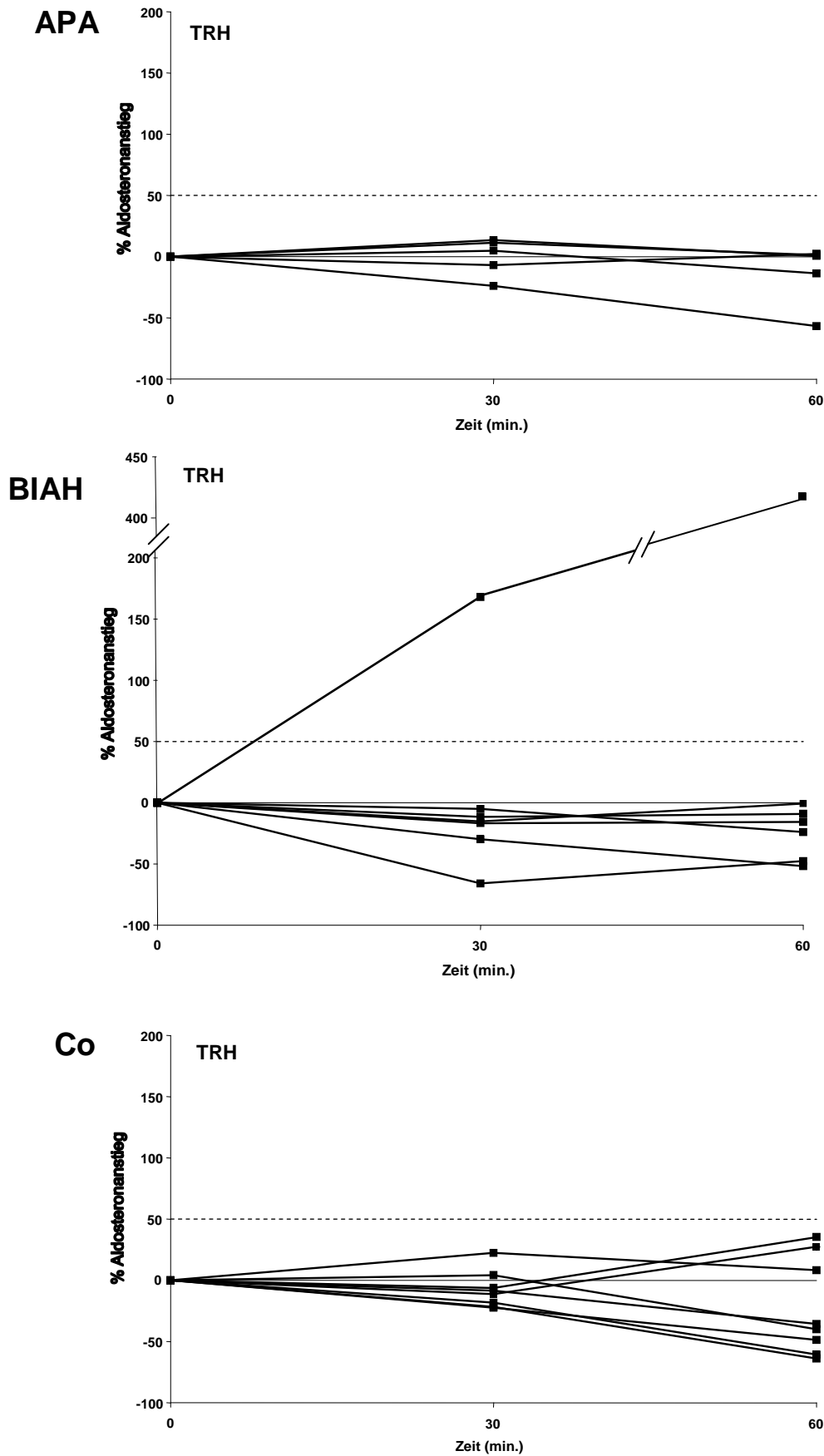


Abb. 7. Ergebnisse der TRH-Stimulation der individuellen Patienten und Kontrollen

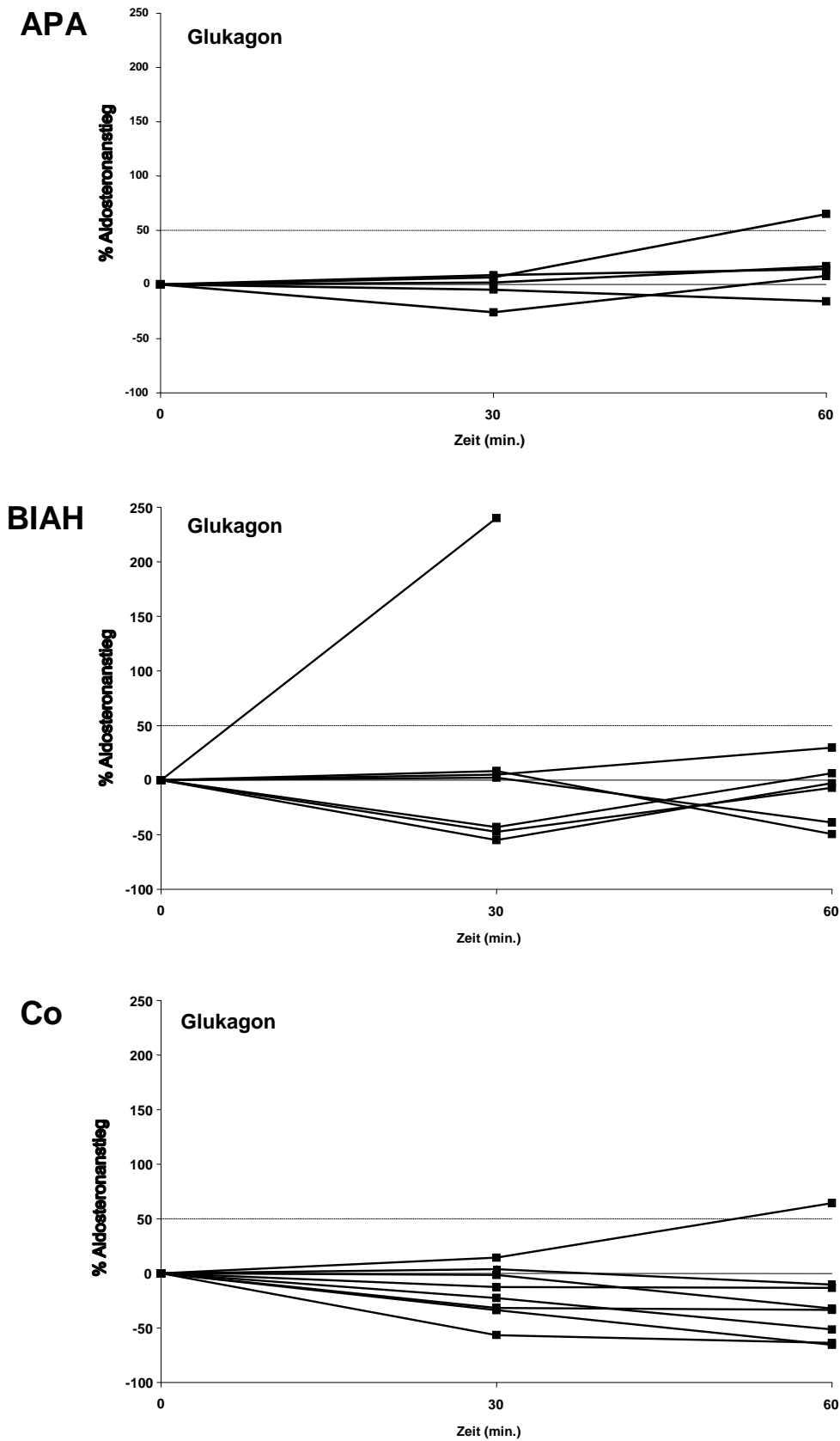


Abb. 8. Ergebnisse der Glukagon-Stimulation der individuellen Patienten und Kontrollen

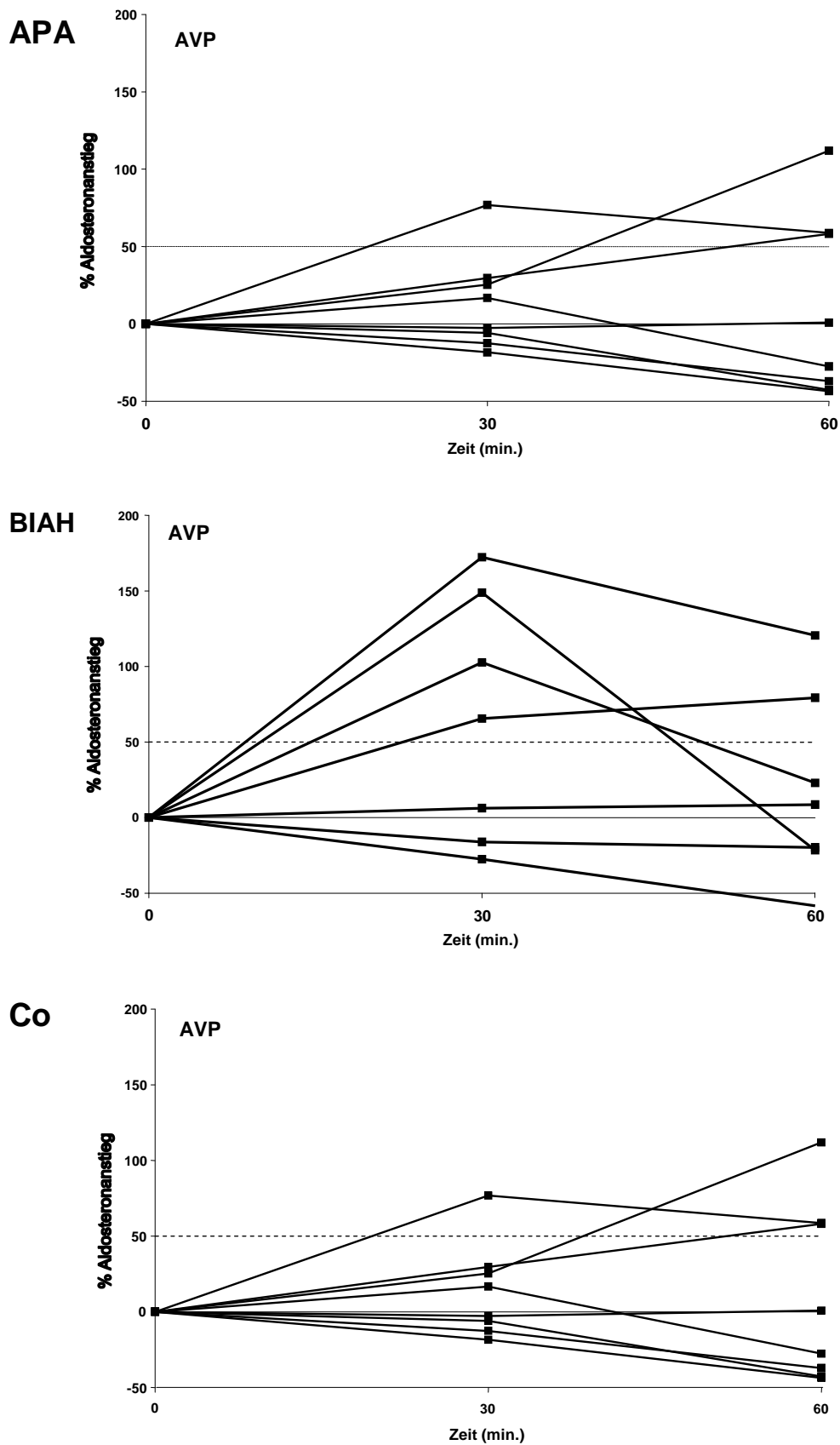


Abb. 9. Ergebnisse der Vasopressin-Stimulation der individuellen Patienten und Kontrollen

4.3. Zusammenfassung der Aldosteronergebnisse

In Tabelle 6 sind die individuellen Ergebnisse aller Teilnehmer als prozentualer Anstieg innerhalb der ersten Stunde nach Verabreichung der Testsubstanz dargestellt. Die als positiv bewerteten Ergebnisse (Anstieg größer als 50% über dem Basalwert) sind fett gedruckt. Eine Zusammenfassung dieser Ergebnisse ist in Tabelle 7 und Abbildung 10 grafisch dargestellt.

Tabelle 6: Ergebnisse der Stimulationstests für Aldosteron.

Patient #	Diagnose	Orthostase 2h	Mahlzeit	ACTH	GnRH	TRH	Glukagon	AVP	MCP
4	Bilat.APA	-21	-47	299	-35	12	65	56	95
6	APA	-16	42	408	-7	-57	17	42	48
7	APA	-27	-24	124	-50	14	-15	34	165
9	APA	146	8	142	57	2	8	96	114
12	APA	-39	12	132	16	5	14	45	174
1	BIAH	192	-20	173	-40	-24	-55	-58	189
2	BIAH	105	-70	41	66	423	6	79	410
3	BIAH	23	35	129	-38	-66	240	103	108
5	BIAH	-16	-44	279	-35	-12	2	-20	99
8	UAH	58	-40	230	128	-52	8	149	359
10	BIAH	16	-53	76	41	-17	-47	172	125
11	BIAH	-25	-14	130	-55	-15	30	9	380
1	Kontrolle	94	-42	115	-41	-36	-51	-43	23
2	Kontrolle	-69	50	357	-26	35	64	58	247
3	Kontrolle	-12	-17	788	-58	-61	-33	-37	39
4	Kontrolle	134	-42	610	-10	22,5	-32	-44	71
5	Kontrolle	180	40	520	-47	-49	-64	16	41
6	Kontrolle	7	-46	237	-39	4	-13	-2	22
7	Kontrolle	12	-46	496	-33	27	4	112	203
8	Kontrolle	25	-20	72	-52	-64	-65	77	-19

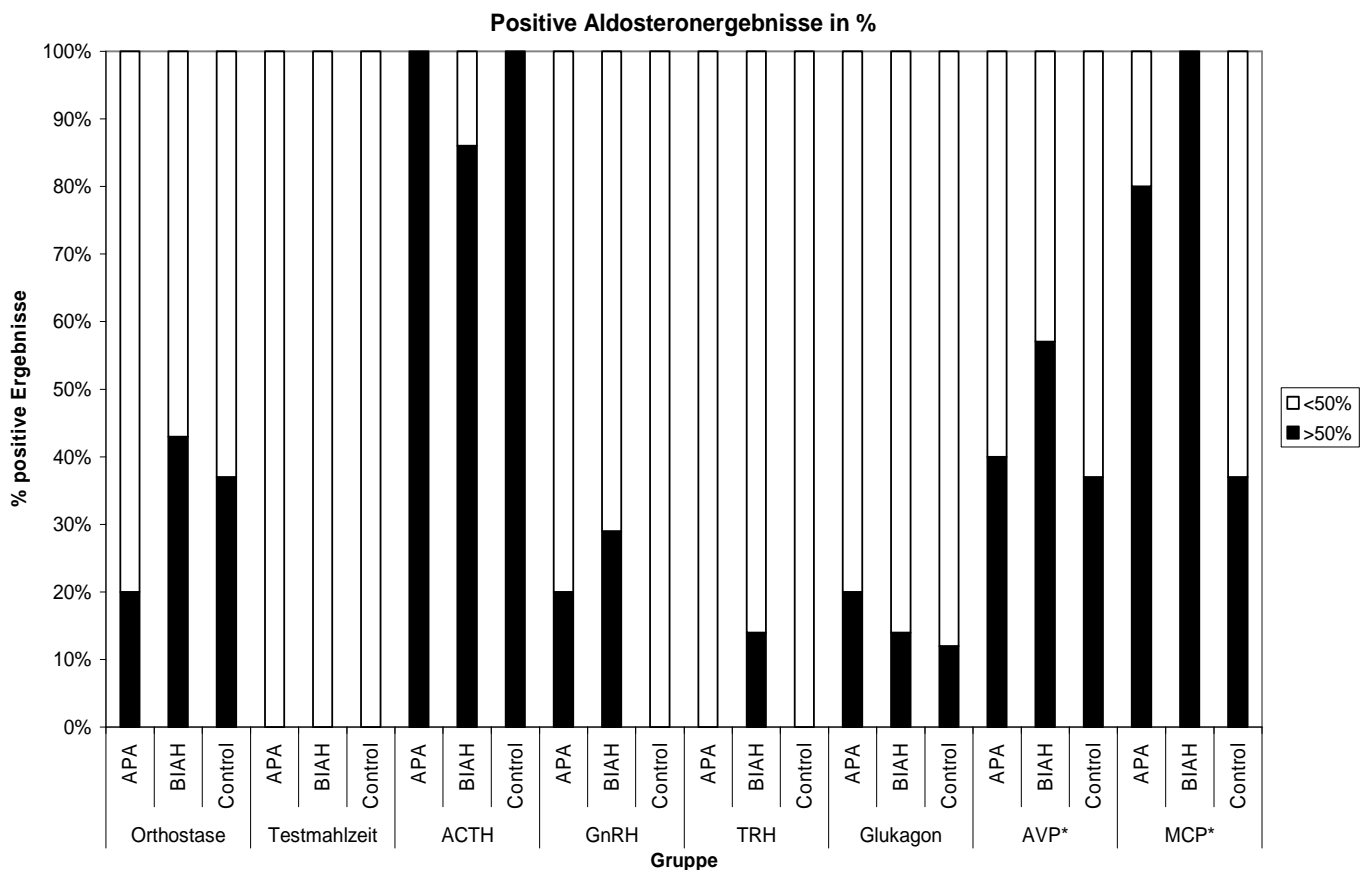
Abzulesen sind die höchsten Anstiege in Prozent über dem Basalwert (=100%) in der ersten Stunde (nach 30 oder 60 Minuten).

In fett: Anstieg über 50%

Tabelle 7: Zusammenfassung der Aldosteronergebnisse des Testprotokolls.

	APA n=5	BIAH n=7	Control n=8
ATII-/ β-adrenerge Rezeptoren	1 (20)	3 (43)	3 (37)
GIP-Rezeptoren	0 (0)	0 (0)	0 (0)
ACTH-Rezeptoren	5 (100)	6 (86)	8 (100)
LH/hCG-Rezeptoren	1 (20)	2 (29)	0 (0)
TRH/ TSH-Rezeptoren	0 (0)	1 (14)	0 (0)
Glukagon-Rezeptoren	1 (20)	1 (14)	1 (12)
Vasopressin-Rezeptoren	2 (40)	4 (57)	3 (37)
5-HT4-Rezeptoren	4 (80)	7 (100)	3 (37)

Abzulesen ist die Zahl der Patienten, die auf die Stimulationen positiv reagierten (in Klammern die Prozentzahl in der zugehörigen Gruppe). Nur Aldosteronanstiege über 50% wurden als positiv gewertet.

**Abb. 10.** Grafische Darstellung der positiven Aldosteronergebnisse in Prozent

4.4. Zusammenfassung der Cortisolergebnisse

Im Hinblick auf die Diskussion stellen wir hier die Ergebnisse der Cortisolmessungen zusammengefasst vor (Tab.8). Zur Kontrolle der Glukocorticoidachse wurden parallel zu jeder Aldosteronmessung auch die entsprechenden Cortisolwerte bestimmt. Hierdurch sollten positive Testergebnisse durch ACTH-Anstiege ausgeschlossen werden. Wie aus Tabelle 8 abzulesen ist, konnte man zu einem großen Teil der positiven Aldosteronantworten, insbesondere in der Gruppe der APA-Patienten, auch eine Cortisolerhöhung von mehr als 50% über dem Basalwert messen. Da eine Cortisolausschüttung am wahrscheinlichsten durch ACTH stimuliert wird, mussten wir in diesen Fällen eine ungewollte ACTH-Freisetzung in Betracht ziehen, die möglicherweise auch die Aldosteronwerte beeinflusst haben könnte. Zu diesen Zeitpunkten wurden daher ergänzend die ACTH-Werte nachbestimmt (Daten nicht gezeigt), welche allerdings keinen relevanten Anstieg zeigten. Die Cortisol-Anstiege sind somit in diesen Fällen durch eine teilweise physiologische Mitreaktion der Zona fasciculata und nicht durch erhöhte HPA-Aktivität zu erklären (siehe Diskussion).

Wie erwartet, zeigten 100% aller Patienten und Probanden eine starke physiologische Cortisolfreisetzung nach der Gabe von ACTH.

Der dritte Testtag (AVP- und MCP- Stimulation) wurde unter Dexamethason-Suppression durchgeführt, so dass die Cortisolwerte aller Studienteilnehmer deutlich niedriger im Vergleich zu den ersten zwei Tagen ausfielen. Interessanterweise, trotz Blockade der ACTH-Achse, sieht man einige markante Cortisolanstiege. Neun von zwölf Patienten (vier APA und 5 BIAH), sowie drei von acht Probanden zeigten Werte größer als 50% über dem Ausgangswert nach Vasopressin-Injektion. Drei Patienten reagierten positiv auf die Metoclopramid-Gabe.

Tabelle 8: Ergebnisse der Stimulationstests für Cortisol.

Patient #	Diagnose	Orthostase 2h	Mahlzeit	ACTH	GnRH	TRH	Glukagon	AVP	MCP
4	Bilat.APA	-1	-35	146	-36	38	61	266	18
6	APA	9	143	265	71	-60	22	106	10
7	APA	67	-11	223	-20	14	-23	221	61
9	APA	325	-38	390	76	3	31	959	-59
12	APA	-20	55	226	35	-35	43	-15	21
1	BIAH	-36	-53	214	7	18	-33	0	0
2	BIAH	-45	-49	130	-73	23	17	225	10
3	BIAH	61	109	82	-70	10	-33	111	-10
5	BIAH	25	16	98	-26	13	-56	-5	48
8	UAH*	231	27	643	77	-19	-22	145	9
10	BIAH	19	-51	193	-60	30	84	53	1497
11	BIAH	-9	14	77	-27	-10	46	97	73
1	Kontrolle	26	14	106	-38	-53	19	-39	-16
2	Kontrolle	-57	-54	174	-53	-18	127	35	-29
3	Kontrolle	-34	14	275	-60	19	-55	6	-32
4	Kontrolle	132	111	116	-19	-46	-25	26	2
5	Kontrolle	-19	-23	147	-34	47	-16	92	13
6	Kontrolle	3	37	475	-22	36	42	222	6
7	Kontrolle	-31	-27	250	-33	-8	84	49	15
8	Kontrolle	17	-40	870	-49	36	45	1455	-50

Abzulesen sind die höchsten Anstiege in Prozent über dem Basalwert (=100%) in der ersten Stunde (nach 30 oder 60 Minuten).

In fett: Die Werte, die mit den positiven Aldosteronantworten übereinstimmen.

5. Diskussion

Der primäre Hyperaldosteronismus (PHA), erstmalig beschrieben im Jahre 1955 von Jerome Conn, ist mit einer Prävalenz von ca. 10% die häufigste Ursache der sekundären Hypertonie. Seitdem solche Zahlen bekannt sind, wird das Conn-Syndrom immer ernster genommen und Patienten mit einem schwer kontrollierbaren Hypertonus werden explizit darauf untersucht. Die Pathophysiologie dieser Erkrankung ist seit Jahren Gegenstand vieler Untersuchungen, wobei die Diskussion über ihre Entstehung, Beeinflussungsfaktoren und Therapiemöglichkeiten noch immer anhält. Nachdem bereits in den 90er Jahren mehrere Fälle eines ektopen Hypercortisolismus beschrieben wurden, sowie die Existenz abnormer adrenaler Hormonrezeptoren bei Patienten mit Cushing Syndrom, begann man nach möglichen Alternativmechanismen der Aldosteronproduktion und ihrer Regulation zu forschen. Bald stellte man fest, dass insbesondere bei Patienten mit einem primären Hyperaldosteronismus, bei denen die Hormonregulation nicht mehr den physiologischen Mechanismen unterliegt, eine Mehrzahl von aberranten Peptidhormon-Rezeptoren in der Nebennierenrinde vorhanden sein können. Ob eine Regelmäßigkeit bei der Expression dieser Rezeptoren gegeben ist, ob sie bei den verschiedenen Typen von PHA (v.a. APA oder BIAH) unterschiedlich exprimiert werden und welche Rolle sie in der Aldosteronsynthese spielen, wurde bis dato nicht systematisch untersucht. Diese Arbeit versucht hier weitere Klarheit zu schaffen indem, auf der Grundlage eines standardisierten Testprotokolls, die Auswirkung von verschiedenen Peptidhormonen auf die Aldosteronausschüttung bei Patienten mit APA, BIAH sowie gesunden Personen untersucht wurde.

Einleitend sollen die Aldosteronwerte der drei Gruppen unabhängig von den Hormontests erläutert und miteinander verglichen werden, um dann auf die einzelnen Stimulationen näher einzugehen. Zuletzt werden dann die möglichen Störfaktoren und deren Auswirkungen auf die Ergebnisse diskutiert.

5.1. Diskussion der allgemeinen Beobachtungen

Die Personen in den drei separaten Testgruppen zeigten innerhalb ihrer Gruppe in der Größenordnung ähnlich hohe Werte, wobei sich die drei Gruppen in ihren durchschnittlichen Werten unterschieden. Die Adenompatienten fielen mit deutlich höheren Aldosteronbasalwerten auf. Ihr Durchschnittswert von $432 \pm 113 \text{ pg/ml}$ (\pm -SEM) um 8 Uhr am ersten Testtag ist mit einem $p < 0,05$ bzw. $p < 0,006$ signifikant höher verglichen mit den Patienten mit einer Nebennierenhyperplasie ($102 \pm 17 \text{ pg/ml}$) bzw. den gesunden Kontrollpersonen ($58 \pm 16 \text{ pg/ml}$). Das ist auch der Grund, warum bei manchen Stimulationen bei sehr hohen Basalwerten die 50% Marke teilweise nicht überschritten werden konnte, trotz eines eindeutigen Aldosteronanstieges. Solche Ergebnisse haben wir mit Vorbehalt in der Diskussion als „positiv“ gewertet. Obwohl die APA-Patienten mit besonders hohen Basalwerten auffielen, waren diese durch die Gabe von Dexamethason vor dem dritten Tag sehr gut supprimierbar - von 554 ± 164 um 8:00 an Tag 2 auf 236 ± 65 um 8:00 an Tag 3. Das entspricht ein $p < 0,02$. Im Vergleich dazu reagierten die BIAH-Patienten viel schwächer und heterogener auf das Dexamethason, mit einem Abfall von $139 \pm 43 \text{ pg/ml}$ auf $99 \pm 35 \text{ pg/ml}$, $p < 0,9$, und die Probanden zeigten keine erkennbaren Veränderung in den basalen Aldosteronwerten ($p < 0,3$). Trotz Suppression blieben die Aldosteronkonzentrationen der Adenompatienten höher als die der anderen zwei Gruppen. Diese Beobachtungen bestätigen die bisherige Theorie über die Regulationsmechanismen der unterschiedlichen Typen des primären Hyperaldosteronismus. Obwohl ein ACTH-Anstieg physiologischerweise eine Aldosteronausschüttung verursachen könnte, ist das im Normalfall nicht der Primärtrigger der Aldosteronproduktion, sondern das RAA-System. Deshalb führte die Dexamethason-Suppression bei den gesunden Personen zu keiner relevanten Auswirkung auf ihren Aldosteronhaushalt. Im Gegensatz dazu überwiegt bei den meisten Aldosteron-produzierenden Adenomen die ACTH-Abhängigkeit und eine Regulation durch das RAA-System findet beim größten Teil nicht mehr statt (*Mancini T et al., 2003*). Das passt exzellent zu der guten Aldosteron-supprimierbarkeit durch Dexamethason bei unseren APA-Patienten. Andererseits ist die Aldosteronsekretion bei der idiopathischen Nebennierenhyperplasie typischerweise noch Angiotensin II abhängig (*Wisgerhof M et al., 1985*). Eine ACTH-Regulation könnte trotzdem vorkommen (s.u.). In diesem Sinne wurden unsere Patienten mit BIAH durch die

Gabe von Dexamethason in ihren Aldosteronkonzentrationen beeinflusst, aber nicht in dem Ausmaß wie die APA-Patienten.

5.2. Diskussion der Ergebnisse des Orthostasetests

Der Orthostasetest gilt zurzeit in der Literatur als einer der Standardtests um zwischen einem Aldosteron-produzierenden Adenom und einer Nebennierenhyperplasie zu differenzieren. Wegen seiner schlechten Sensitivität und Spezifität wird jedoch die Nebennierenvenen-Blutentnahme empfohlen bzw. falls verfügbar vorgezogen.

Physiologischerweise wird bei einer gesunden Person nach Orthostase ein Blutdruckabfall erwartet, der vor allem durch das RAA-System kompensiert wird. Es kommt zu einer AT II- bzw. Aldosteronausschüttung. Das AT II bewirkt als erstes eine direkte Vasokonstriktion via Endothelin bzw. eine Adrenalinfreisetzung aus dem Nebennierenmark (β -adrenerge Stimulation), des Weiteren fördert es direkt die Natriumresorption im proximalen Tubulus (intravasales Volumen steigt). Das Aldosteron vermindert ebenso die Salz- und Wasserausscheidung und führt so zu einer Vergrößerung des intravasalen Volumens. Der Blutdruck steigt an. Ein scheinbar paradoxer Aldosteronabfall ist charakteristisch für die Aldosteronproduzierenden Adenome, die eine ACTH-abhängige Hormonsekretion aufweisen aber nicht mehr auf Angiotensin II ansprechen (*Mancini T et al., 2003*). Wenn man annimmt, dass diese Personen dem Blutdruckabfall durch eine RAAS-unabhängige Erhöhung des intravasalen Volumens entgegenwirken, könnte man die in unseren Fällen nur leicht abfallenden Aldosteronwerte (zwischen 16 und 39%) sogar als Verdünnungseffekt interpretieren. Allerdings sind ca. 30% aller Adenome Angiotensin II-abhängig und zeigen einen Aldosteronanstieg bei aufrechter Körperhaltung (*Reincke M et al., Deutsches Ärzteblatt, Januar 2003*). In unserer Studie zeigte einer von fünf Adenom-Patienten (P9), entsprechend 20%, einen Aldosteronanstieg. Leider konnten wir in diesem Fall keine dazu passende Renin-Erhöhung nachweisen. In dem gleichen Zeitintervall beobachtet man eine starke Cortisolerhöhung von 325% vom Ausgangswert, was auf eine ACTH-Stimulation mit anschließender Aldosteron-Ausschüttung hindeutet. Allerdings könnte auch das Maximum der Renin-Stimulation zum Zeitpunkt der Messung bereits vorbei gewesen sein, so dass die Renin-

Bestimmung hier nicht weiterhilft, zumal bei PHA üblicherweise sehr niedrige Werte gemessen werden.

Wie oben schon erwähnt, ist die Aldosteronsekretion bei der idiopathischen Nebennierenhyperplasie typischerweise Angiotensin II-abhängig, was sich mit einem Anstieg der Aldosteronkonzentration unter Orthostase äußert. Erwartungsgemäß reagierte der größte Teil der Hyperplasie-Patienten (71%) nach Orthostase mit einer Erhöhung des Aldosteronblutspiegels, ebenso 75% der Kontrollpersonen.

Zwei BIAH-Patienten (P5,11) und zwei Probanden (K2,3) zeigten allerdings einen Serum-Aldosteron-Abfall. Dies deutet auf eine mögliche unzureichende AT II-Regulation dieser vier Personen hin, oder auf Störfaktoren, die den Test negativ beeinflussten. Um diese uneindeutigen Ergebnisse zu klären, wurden die Reninkonzentrationen bei allen Testpersonen nachträglich bestimmt, um zu sehen, bei welchen Personen das RAA-System nach Orthostase tatsächlich aktiviert wurde, und bei welchen nicht. Mit Ausnahme eines Adenom-Patienten (P7), wurden bei allen anderen elf Patienten vor und nach Orthostase wie erwartet supprimierte Reninkonzentrationen gemessen (Daten nicht gezeigt). Bei einem APA-Patient (P7) wurde ein leichter Reninanstieg von 11,3 auf 28,9 mU/l gemessen, welcher allerdings nicht von einem relevanten Aldosteronanstieg gefolgt wurde. Im Gegensatz zu allen Patienten, wurde bei sechs von acht Probanden 30 Minuten nach Orthostase eine deutliche Erhöhung der Reninwerte gemessen. Bei fünf von diesen sechs führte das zu einem Aldosteronanstieg. Ein Proband (K3) zeigte trotz Reninerhöhung einen Aldosteronabfall (-12%). Eine von den zwei gesunden Personen (K2), die keinen Reninanstieg zeigten, wies ebenso einen Aldosteronabfall auf (-69%). Das heißt, dass bei diesen zwei Personen das RAA-System nicht in Gang gekommen war und dass sie höchstwahrscheinlich den Blutdruckabfall nach der Orthostase durch andere physiologische Mechanismen kompensierten, ebenso wie die zwei BIAH-Patienten, bei denen ein Aldosteronabfall gemessen wurde (s.o.).

Ein gesunder Proband (K4) reagierte auf den Orthostasetest auf eine für unsere Studie sehr interessante Weise. Er zeigte einen absoluten Aldosteronanstieg von 134% trotz eines Reninabfalls. Ähnliche Ergebnisse finden wir bei den übrigen sechs Hyperplasie-Patienten. Das heißt, dass in diesem einen gesunden Fall und in den sechs Hyperplasie-Fällen die Aldosteronausschüttung nicht über den Weg der Renin-

Angiotensin II-Regulation aktiviert wird, sondern auf eine alternative Art und Weise hervorgerufen wird, z.B. durch ACTH-Stimulation. Um diese Theorie zu bestätigen, müssen wir die Cortisol-Konzentrationen in dem gleichen Intervall nach Orthostase betrachten. Bei der gesunden Person (K4) wurde 2 Stunden nach dem Aufstehen (10.15 Uhr) eine 80% höhere Cortisol-Konzentration im Vergleich zum Ausgangswert um 8.15 Uhr gemessen. Bei vier von den fünf BIAH-Patienten stellt man auch eine von schwach bis extrem starke Cortisolerhöhung fest. Das spricht für eine ACTH-Wirkung. Ein Patient (P2) wies einen Cortisolabfall auf. In diesem Fall lässt sich eine weitere unbekannte Aldosteronstimulation vermuten. Da bei dieser Person keine Gewebprobe vorliegt, können wir keine in vitro Hinweise einbeziehen, um diese Vermutung zu unterstützen.

5.3. Diskussion der Ergebnisse des Mahlzeit-Tests

Wie bereits erwähnt, wurden schon mehrere Fälle eines „food dependent“ Cushing - Syndroms beschrieben bzw. erfolgreich durch Somatostatin-Gabe therapiert. In dieser Studie haben wir ebenso nach einer aberranten GIP-Rezeptorexpression bei PHA-Patienten gesucht, deren Existenz zu einem Aldosteronanstieg nach einer oralen Glukosezufuhr, in diesem Fall nach einer Mahlzeit, führen würde. Wir konnten bei keinem unserer zwölf Patienten und acht Probanden einen Anstieg der Aldosteronkonzentration von über 50% in der ersten Stunde nach der Testmahlzeit feststellen. Mit diesem Ergebnis kommen wir zu dem Schluss, dass aberrante GIP-Rezeptoren bevorzugt in der Zona fasciculata von cortisolproduzierenden Nebennierenhyperplasien (AIMAH) exprimiert werden und dort ihre Wirkung auf die Cortisolausschüttung entfalten. Im Aldosteronhaushalt von Conn-Patienten und Gesunden dürften diese keine relevante Rolle spielen.

5.4. Diskussion der Ergebnisse der ACTH-Stimulation

Es ist bekannt, dass unter physiologischen Bedingungen ein akuter ACTH-Stoß die adrenale Aldosteronproduktion stark erhöhen kann, sowohl in vivo als auch in isolierten Glomerulosazellen (*Oelkers et al., 1988, Cozza et al., 1989, 1990 a,b*).

Die Existenz von ACTH-Rezeptoren sowohl auf der gesunden Nebennierenrinde als auch bei APA und BIAH ist aus früheren Studien bekannt (*Reincke M et al., 1998*,

Schubert B et al., 2001). Dementsprechend zeigten alle unsere Patienten und Probanden innerhalb einer Stunde nach der i.v. Gabe von ACTH einen deutlichen Aldosteronanstieg. Keine der drei Gruppen zeichnete sich mit einem deutlich höherem Prozentanstieg im Vergleich zu den anderen aus, so dass man auch nicht behaupten könnte, eine Gruppe reagiere viel stärker auf die ACTH-Stimulation.

Für Aldosteron-produzierende Adenome ist die ACTH-Abhängigkeit der Aldosteronproduktion gut dokumentiert (*Mancini T et al., 2003*). Dies korreliert mit der starken ACTH-Rezeptor-mRNA-Expression in Aldosteronomen, die in mehreren Untersuchungen nachgewiesen werden konnte (*Reincke M et al., 1997,1998*). Es stellt sich die Frage, ob bei diesen Patienten das Renin-Angiotensin II-System als Regulator der Aldosteronproduktion komplett durch ACTH ersetzt wird oder nicht. Studien haben gezeigt, dass die Dexamethason-Gabe bei Patienten mit APA in manchen Fällen zum Abfall der Aldosteronwerte führen kann, allerdings längst nicht bei allen (*Ganguley A et al., 1977; Hoefnagels WH et al., 1980*). Dies spricht dafür, dass die Rolle der ACTH-Stimulation nicht als einziger Regulationsmechanismus der Aldosteronproduktion bei APA angenommen werden kann. Viel wahrscheinlicher ist, dass neben der Vielzahl an ACTH-Rezeptoren, deren Existenz schon bewiesen ist, auch andere hormonelle Einflüsse kooperieren, bzw. andere Hormonrezeptoren vorhanden sind.

5.5. Diskussion der Ergebnisse der GnRH-Stimulation

Bis zum heutigen Zeitpunkt konnte in einigen in vivo und in vitro Studien gezeigt werden, dass GnRH- bzw. LH-Rezeptoren in aldosteron-produzierenden Adenomen nicht selten überexprimiert werden, und dass durch ihre Stimulation die Aldosteronsynthese angeregt werden kann.

Diese Ergebnisse wollten wir mit klinischen Daten verknüpfen und haben unsere PHA-Patienten und gesunden Probanden mit GnRH stimuliert. Drei der zwölf Patienten (einer mit APA (P9) und zwei mit BIAH (P2, 8)) reagierten mit einem eindeutigem Aldosteronanstieg innerhalb einer Stunde nach der GnRH-Injektion. Eine Reaktion wurde bei keinem von den gesunden Probanden beobachtet. Betrachtet man diese in vivo Ergebnisse zusammen mit den bisher bekannten in vitro Daten von *Saner-Amigh (2006)* und *Ping Je (2007)* (siehe Einleitung), sowie denen

von *Zwermann (2009)*, kommt man zum Schluss, dass eine GnRH- und LH-Rezeptorüberexpression bei aldosteronproduzierenden Nebennierentumoren auch eine klinische Bedeutung haben könnte. Dies sind aberrante Rezeptoren in der adrenalen Zona glomerulosa, deren Stimulation zu einer klinisch relevanten Aldosteronproduktion führen könnte.

In der erweiterten Zwermann-Studie, die direkt an diese angeschlossen wurde, wurden Gewebeproben von zwei der hier erwähnten Studienteilnehmern untersucht, nämlich von einem BIAH-Patienten (P8) und von einem APA-Patienten (P9). Der BIAH-Patient reagierte mit einem starken Aldosteronanstieg von 128% über dem Ausgangswert und zeigte in der real-time-PCR sehr hohe GnRH-mRNA-Werte. Außerdem wurde bei diesem Patienten auch eine starke Cortisolerhöhung gemessen, was sowohl auf eine ACTH-Beeinflussung, als auch auf GnRH-Rezeptoren in der glukocorticoid-produzierenden Zona fasciculata hindeuten könnte. Leider konnten zu diesen Zeitpunkten keine zuverlässigen ACTH-Werte nachgeliefert werden, da die Blutproben entweder nicht ausreichend oder schon mehrmals aufgetaut worden waren.

Das Aldosteron bei dem APA-Patienten stieg eher mäßig an, mit 57% über dem Ausgangswert, bzw. zeigte eine nur mäßige LH-mRNA-Erhöhung. Eine Cortisolerhöhung wurde ebenso festgestellt. Hier könnte man spekulativ annehmen, dass entweder die klinische Ausprägung dieses alternativen Regulationsweges direkt mit der Menge an exprimierten aberranten Rezeptoren zusammenhängt, oder dass die Aktivierung der Glukocorticoidachse zu einer Verstärkung der aberranten Aldosteronstimulation geführt hatte.

Bei dem Patienten P2 wurde eine reine positive Aldosteronreaktion gemessen, begleitet von einem Cortisolabfall. Dies verstärkt noch einmal unsere These, dass die Stimulation aberranter GnRH- bzw. LH-Rezeptoren die Aldosteronsynthese anregen könnte.

5.6. Diskussion der Ergebnisse der TSH-Stimulation

In den bislang wenigen Berichten über TSH-Rezeptor-Expression handelt sich ausschließlich um in vitro Studien, bei denen TSH-Rezeptor-mRNA in humanen- und Ratten-Glomerulosazellen von primären adrenalen Tumoren nachgewiesen wurde

(Schorr I & Ney RL, 1971; Matsukura S et al, 1980). Außerdem wurden TSH-Rezeptoren auch beim gesunden Gewebe festgestellt, u.a. auch in der Nebennierenrinde (Dutton CM et al., 1997). Über eine in vivo Aldosteronstimulation durch TRH oder TSH wurde bislang nicht berichtet. In unserer Studie reagierte ein einziger Patient (P2) mit Nebennierenhyperplasie eindeutig auf die TSH-Stimulation mit einem Aldosteronanstieg von über 423% über dem Ausgangswert. Eine parallele Cortisolerhöhung wurde nicht gemessen. Interessant ist, dass der gleiche Patient auf mehrere Stimulationen (GnRH, TRH, AVP und MCP) positiv reagierte, allerdings nur schwächer auf ACTH. Dies spricht sehr dafür, dass unter bestimmten Umständen die Glomerulosazellen auf multiple Stimuli reagieren könnten. Ob es sich eher um eine Population undifferenzierter Zellen handelt, um mehrere Zellhaufen mit unterschiedlichen funktionellen Charakteristika, oder ob möglicherweise eine mangelnde ACTH-Rezeptor-Expression durch die Produktion anderer Hormonrezeptoren ersetzt wurde, bleibt in diesem Fall unklar, da wir leider von diesem Patienten keine Gewebeprobe für weitere Untersuchungen entnehmen konnten. Allerdings wurde in dem in vitro Teil unserer Studie noch ein weiteres APA-Präparat gefunden, das sich als positiv für TSH-Rezeptoren erwies (Zwermann O et al., 2009). Dies weist darauf hin, dass eine mögliche TRH/TSH-Sensibilität bei manchen, wenn auch seltenen Fällen von PHA vorhanden sein könnte.

5.7. Diskussion der Ergebnisse der Glukagon-Stimulation

Eine Auswirkung des Peptidhormons Glukagon auf die Aldosteronsynthese ist bis jetzt noch nicht beschrieben worden, jedoch zeigten in der Reznik-Studie 4 von 21 Patienten mit ACTH-unabhängigem Cushing Syndrom einen eindeutigen Cortisolanstieg nach Glukagon-Gabe. In unserer Studie war die Reaktion auf die Glukagon-Stimulation in allen drei Testgruppen gleich - ein Proband (K2), ein APA-(P4) und ein BIAH-(P3) Patient reagierten mit einem Aldosteronanstieg von über 50%. Interessanterweise sehen wir bei dem gesunden Probanden und beim APA-Patienten einen gleichzeitigen Cortisolanstieg, was entweder auf eine parallele ACTH-Stimulation hinweist, oder auf eine direkte Cortisolstimulation durch Glukagon. Wenn man die Cortisol- und Aldosteronkurven von dem Kontrolltag der gesunden Person mit den Kurven vom zweiten Testtag vergleicht, sieht man im Normalfall keinen Anstieg zum Tageszeitpunkt der Glukagonstimulation. Man kommt zum

Schluss, dass in diesem einen gesunden Fall das Peptidhormon die Zona glomerulosa und fasciculata der Nebennierenrinde zur Hormonproduktion anregt. Die gleiche Aussage trifft auch für den APA-Patienten (P4) zu. Ob dies über eine gemeinsame ACTH-Stimulation geschieht, oder durch direktes Andocken von Glukagon an aberrante Rezeptoren, konnte zumindest für den P4-Patienten in der erweiterten Zwermann-Studie festgestellt werden. Bei der Gewebeuntersuchung seines Nebennierenresektats konnten keine Glukagon-Rezeptoren nachgewiesen werden. Am wahrscheinlichsten verbleibt in diesem Fall also die ACTH-Aktivität, die möglicherweise durch Glukagon angeregt wurde.

Auf der anderen Seite reagierte ein BIAH-Patient (P3) ausschließlich mit einem Aldosteronanstieg, aber nicht mit einer Veränderung der Cortisolkonzentration. Dies schließt eine ACTH-Stimulation aus und spricht eher für eine Glukagonrezeptorexpression in der hyperplastischen Zona glomerulosa dieses Patienten. Auf Grund der klinischen Diagnose und der daraus resultierenden Therapie mit Spironolacton konnte in diesem Fall leider keine Gewebeprobe untersucht werden.

5.8. Diskussion der Ergebnisse der Vasopressin-Stimulation

Das antidiuretische Hormon nimmt durch seine vielfältigen Wirkungsweisen eine wichtige Rolle in der Regulation des Wasserhaushaltes bzw. des Blutdrucks ein. Die Präsenz von Vasopressin-Rezeptoren vom $V_{1(a)}$ -Typ sowohl in gesundem Nebennierengewebe, als auch in Nebennierenadenomen mit Cortisol- bzw. Aldosteronproduktion oder AIMAH ist schon mehrmals beschrieben worden (*Perraudin V et al., 2006; Mune T et al., 2002; Guillonet al., 1995*). Man weiß inzwischen, dass die Stimulation dieser Rezeptoren eine direkte Auswirkung auf die Cortisol- und Aldosteronsekretion hat. Zusätzlich hat das AVP eine wasserretinierende Wirkung an den V_2 -Rezeptoren der renalen Sammelrohre und wirkt zudem vasokonstriktorisch, indem es über endotheliale V_1 -Rezeptoren Endothelin freisetzt. Diese Wirkung kommt besonders bei Blutdruckabfall, Elektrolytverschiebungen oder Orthostase als Parallele zu dem RAA-System zum Vorschein. Deshalb ist ein Zusammenspiel dieser zwei Hormonsysteme gut denkbar.

Das ADH ist ein Hormon des Hypophysenhinterlappens, allerdings erreichen ADH-führende Neurone auch den Hypophysenvorderlappen und ADH reguliert dort zusammen mit CRH (Corticotropin-releasing Hormon) die ACTH-Freisetzung. Dies stimuliert wie schon erwähnt nicht nur die Cortisol-, sondern auch die Aldosteronproduktion. Um genau diese Wirkungsweise auszuschließen wurde vor der AVP-Stimulation bei allen Testpersonen eine Dexamethason-Suppression vorgenommen, und auf diese Weise die ACTH-Ausschüttung während der letzten zwei Tests gehemmt. Trotz dieser Suppression konnten wir mehrere starke Aldosteronanstiege nach der i.m. Gabe von AVP feststellen, so dass wir hier von einer rezeptorvermittelten Stimulation ausgehen. Bei zwei der APA-Patienten war der Anstieg eindeutig über 50% und bei den anderen drei lag er knapp darunter. Vier von sieben BIAH Patienten reagierten auch positiv auf AVP.

Bei neun der zwölf Patienten konnte man allerdings, trotz Dexamethason-Gabe, eine starke Cortisolreaktion von über 50% messen. Da die Dexamethason-Suppression zu einer ACTH-Blockade führt, muss diese durch Vasopressin-Rezeptoren in der Zona fasciculata verursacht sein. Wir kommen zu dem Schluss, dass das antidiuretische Hormon in der Lage ist sowohl die Mineralo - als auch die Glukocorticoidproduktion direkt an ihrer Produktionsstelle - der Nebennierenrinde - anzuregen.

Bei drei Patienten (P4 (APA), P5 (BIAH) und P10 (BIAH)) wurden später Gewebeproben aus den Nebennierenresektaten untersucht und sowohl V_1 - als auch V_2 -Rezeptoren detektiert. Interessanterweise zeigten nur zwei davon einen Aldosteronanstieg. Bei Patient P5 war das Ausmaß der Rezeptorexpression allerdings nur sehr gering, so dass man spekulieren könnte, dass diese nicht ausreichend waren, um eine positive Reaktion zu erzeugen. Es ist erwähnenswert, dass bei allen 15 untersuchten Präparaten in dem zweiten Teil der Zwermann-Studie beide Typen der AVP-Rezeptoren vorhanden waren.

Erwähnenswert ist auch die positive Reaktion von drei gesunden Probanden auf die AVP-Stimulation. Dies erhärtet die Aussage der bisherigen Studien (*Louiset E et al., 2008, Cartier D et al. 2005, Mune T et al., 2002*), die eine adrenale V_1 -Rezeptor-Präsenz auch bei gesunden Nebennierenrinden postulieren.

Zusammenfassend, spielt das antidiuretische Hormon eine wichtige Rolle für die Mineralocorticoidproduktion, sei es indirekt durch ACTH-Stimulation, oder ACTH-unabhängig durch direkte Bindung an aberrante adrenale Rezeptoren, sowohl in pathologisch veränderten, als auch in gesunden Nebennieren.

5.9. Diskussion der Ergebnisse der Metoclopramid-Stimulation

Über die Rolle des Serotonins, bzw. des Metoclopramids als Serotoninagonist, in der Steroidsynthese ist schon einiges bekannt. Bereits seit fast 30 Jahren weiß man, dass durch Gabe von Serotonin-Antagonisten (Ketanserin) der Bluthochdruck, bzw. die Aldosteron- und Cortisolkonzentrationen bei manchen Patienten mit APA, AIMAH oder Cushing Syndrom gesenkt werden können (*Mantero et al 1985*). Seit Anfang dieses Jahrtausends wurde die Präsenz von 5-HT₄-Rezeptoren sowohl in der gesunden Nebenniere, als auch bei APA, AIMAH und Cushing-Patienten mehrmals nachgewiesen. Inzwischen weiß man, dass durch deren Stimulation bzw. Suppression die adrenale Steroidsynthese gesteuert werden kann (*Lefebvre H et al., 1998, 2002; Cartier D et al., 2005*). Die Ergebnisse unserer Studie konnten diese Daten nur bestätigen. Alle unsere Patienten, mit einer Ausnahme (P6, APA-Patient), reagierten eindeutig mit einem starken Aldosteronanstieg nach der Gabe von MCP. Der Patient P6 erreichte die 50%-Marke nur knapp nicht (48%), da aber seine Aldosteronkonzentration mit sehr hohen Ausgangswerten einhergingen, werteten wir seine Reaktion auch als positiv. Zusätzlich zeigten drei von acht gesunden Probanden eine >50%-Antwort auf die Stimulation. Dieser Test wurde unter einer Dexamethason-Suppression durchgeführt, so dass eine zusätzliche ACTH-Wirkung auszuschließen ist. Wenn auch nur indirekt, so weisen diese in vivo Ergebnisse doch auf eine adrenale Serotonin-Rezeptorexpression bei eindeutigem klinischen Korrelat hin, was die Aldosteronsynthese betrifft. Dafür sprechen auch die in vitro Daten aus der Zwermann-Studie, bei der 100% der untersuchten Gewebepräparate eine sehr hohe 5-HT₄-Rezeptor-Dichte zeigten. Abschließend könnte man an dieser Stelle sagen, dass die Präsenz dieser Art Serotonin-Rezeptoren in der Nebennierenrinde fast nicht mehr als aberrant bezeichnet werden sollte. Es scheint, dass sie eine feste Rolle in der Pathophysiologie der Nebennierenrindenerkrankungen spielen, so dass es sicherlich erstrebenswert ist, an dieser Stelle einen therapeutischen Ansatz zu etablieren.

5.10. Diskussion der möglichen Störfaktoren

Noch vor Studienbeginn dachten wir über eine Reihe von Störfaktoren nach und versuchten diese vorausszusehen und zu umgehen.

An erster Stelle stand die Überlegung, dass die Aldosteronplasmakonzentrationen viel variabler und durch alle möglichen Faktoren, wie zum Beispiel Körperhaltung (Orthostase), physische Anstrengung und psychischen Stress beeinflussbarer sind als die von Cortisol. Deshalb wiesen wir unsere Testpersonen darauf hin, während der Tests möglichst wenig zu liegen, sondern eher aufrecht zu bleiben, spazieren zu gehen, sich dabei aber nicht körperlich anzustrengen. Durch diese erwünschte kontinuierliche aufrechte Körperhaltung sollte das RAA-System möglichst wenig stimuliert werden. Psychischer Stress sollte nach Möglichkeit auch vermieden werden. Dadurch, dass die Tests zum größten Teil stationär durchgeführt wurden, konnte dies durch das zuständige Klinikpersonal bzw. durch die Studienbetreuungsperson kontrolliert werden. Die Bedeutung dieser Maßnahmen zeigte sich deutlich bei einem gesunden Probanden, bei dem es an einem Testtag zu einer schweren psychischen Belastung aus privaten Gründen kam. Die Aldosteronkonzentrationen dieser Person fielen sehr hoch aus, so dass wir den ganzen Testtag nach psychischer Rekompensation wiederholen mussten. Die zweiten Ergebnisse entsprachen den Werten einer gesunden Person, so dass wir diese in unsere Auswertung einschließen konnten.

Um zufällige Schwankungen in der Aldosteronkonzentration nicht als falsch positiv zu werten, legten wir die Grenze für eine positive Antwort auf mindestens 50% über dem Ausgangswert fest, so dass nur entsprechende Anstiege als positiv gewertet wurden. An die drei Testtage wurde bei den gesunden Probanden ein vierter Tag ohne Stimulationen angeschlossen, um ein normales Aldosterontagesprofil zu erstellen. Dieses zeigte uns, dass unter den oben erwähnten „normalen“ Bedingungen die Aldosteronkonzentrationen relativ konstant bleiben. Man konnte auch bei den Normalpersonen eine ACTH-abhängige Tagesrhythmik beobachten, die allerdings nicht mit hohen Konzentrationsverschiebungen und vor allem mit keinen Peaks verbunden ist.

Da alle Patienten in dieser Studie an einer schweren Hypertonie litten, musste im Vorfeld ihre Medikation nach bestimmten Regeln umgestaltet werden. ACE-Hemmer und β -Blocker wurden mindestens eine Woche vor Studienbeginn abgesetzt, Spironolacton mindestens vier. Als Alternativpräparate wurden α -Blocker, sowie Calciumantagonisten bevorzugt, da sie am wenigsten mit dem RAA-System interagieren. Das Testprotokoll wurde in der Regel möglichst gleich nach der Diagnosestellung durchgeführt, so dass eine angemessene Therapie direkt danach angeschlossen werden konnte. Wie am Anfang schon erwähnt, handelte es sich entweder um eine Spironolactontherapie bei den Patienten mit einer Nebennierenhyperplasie, oder um eine Resektion der von dem Adenom betroffenen Nebenniere. Bei den operierten Patienten, bei denen in der Regel mit einer Heilung gerechnet wurde, konnten aus diesem Grund keine Nachuntersuchungen bzw. Bestätigungstests durchgeführt werden. Bei den medikamentös therapierten Patienten wurde aus medizinischen und ethischen Gründen darauf verzichtet. Leider konnte nur bei einem geringen Anteil der operierten Patienten eine Gewebeprobe molekular untersucht werden, um so die Korrelation zwischen klinischen- und in vitro Ergebnissen zu evaluieren.

Als bedeutendste Fehlerquelle in dieser Studie kann man die mögliche Mitwirkung der Glukocorticoidachse betrachten. Wie schon mehrfach erwähnt, kann eine Aldosteronausschüttung durchaus durch ACTH hervorgerufen werden. Aus diesem Grund kann die Unterscheidung zwischen einer Aktivierung der HPA-Achse und einer direkten Nebennierenstimulation schwierig sein. Um eine Verfälschung der Ergebnisse auszuschließen, wurde der dritte Testtag unter einer Dexmethason-Suppression durchgeführt. Trotz dieser Maßnahme wurden an diesem Tag mehrere Aldosteronanstiege gemessen, welche nicht durch die HPA-Achse vermittelt sein sollten. Um die möglichen falsch positiven ACTH-induzierten Antworten von den glaubwürdigen zu unterscheiden, wurde in der Ergebnisauswertung und Diskussion immer auf die parallel gemessenen Cortisolwerte geachtet. Zur sicheren Unterscheidung wurde ACTH nachbestimmt, welches in keinem dieser fraglichen Fälle einen Anstieg zeigte. Auch wenn die nachträgliche ACTH-Messung selbst eine mögliche Fehlerquellen darstellt (die Messungen erfolgten erst nach mehrfachem Auftauen der Blutproben), gehen wir davon aus, dass nicht eine ACTH-Stimulation

für diese Ergebnisse verantwortlich war, sondern eher eine Stimulation via Rezeptoren der Zona glomerulosa und fasciculata.

Um die HPA-Achse als Fehlerquelle auszuschließen, würde es sich für zukünftige Studien sicherlich bewähren, eine Dexamethason-Suppression für die gesamte Testprotokolldauer einzuführen. Ebenso würde eine konsequente in vitro Untersuchung von Gewebeproben der betroffenen Patienten eine wichtige Unterstützung für die klinisch gewonnenen Daten bedeuten. Um statistisch relevante Ergebnisse zu gewinnen, wäre eine deutlich größere Patientenzahl notwendig.

6. Ausblick

Sicherlich könnte man Tumorpräparate von mehreren Conn-Patienten auf aberrante Rezeptoren in vitro untersuchen lassen. Das wurde in der nahen Vergangenheit auch öfters mit positiven Ergebnissen belohnt. Eine Korrelation zwischen den in vitro gewonnenen Daten und dem klinischen Verhalten eines Patienten ist jedoch weitaus interessanter. Der Punkt ist, dass der reine molekulare Nachweis von atypischen Rezeptoren in der Nebennierenrinde, sei es bei Gesunden oder Conn-Patienten, nicht zwingend mit einer Aldosteronüberproduktion einhergeht. Genau im Gegenteil - die Tatsache, dass solche Rezeptoren auch in gesunden Nebennierenpräparaten nachgewiesen wurden (*Louiset E et al., 2008, Cartier D et al. 2005, Mune T et al., 2002; Dutton CM et al., 1997*), spricht dafür, dass diese möglicherweise eine physiologische Funktion erfüllen. In vivo zeigte ein Teil unserer Probanden auch einen Aldosteronanstieg durch atypische Stimuli. Das heißt, funktionstüchtige Rezeptoren für diese Substanzen sind auch bei Gesunden vorhanden, sie können stimuliert werden und dies führt zu einer Aldosteronproduktion, allerdings ohne Krankheitswert. Andererseits haben wir einige Beispiele geliefert, bei denen es durch eine atypische Hormonstimulation zwar zu einem Aldosteronanstieg kam, dieser wurde jedoch nicht auf die Präsenz von aberranten Rezeptoren zurückgeführt, sondern auf parallel ablaufende Regulationsmechanismen.

Bei unseren Stimulationstests wurden zwei von den untersuchten Rezeptoren, nämlich TRH-R und GnRH-R, tatsächlich nur bei PA-Patienten und nicht bei Kontrollpersonen nachgewiesen und somit als aberrante Rezeptoren identifiziert. Da unsere Patienten- und Probandenzahlen verhältnismäßig niedrig sind, fällt hier eine kraftvolle Aussage schwer. Außerdem waren unsere in vivo Versuche leider nur zu einem sehr kleinen Teil durch einen molekularen Rezeptornachweis unterstützt. Weitere Forschungsprojekte, bei denen eine größere Patientenzahl eingeschlossen und bei denen das von uns dargestellte klinische Testprotokoll von einem systematischen in vitro Studienteil begleitet wird, sind sicherlich erstrebenswert. Im Sinne der Vollständigkeit eines so ausgedehnten Projekts, könnte man eine weitere Klassifizierung der untersuchten Rezeptoren anstreben, z.B. GnRH vs. LH, TRH vs. TSH, ATII- vs. β -adrenerge-Rezeptoren.

Im weitesten Sinne hatte diese Studie auch einen therapeutischen Ansatz. Wie in der Einleitung schon erwähnt, wurden bei Patienten mit einem Cushing-Syndrom durch Blockade von aberranten Rezeptoren therapeutische Erfolge beschrieben. Ein solcher Versuch bei Conn-Patienten, bei denen im Vorfeld solche Rezeptoren nachgewiesen worden sind, könnte für das Projekt auch einen medizinisch-praktischen Erfolg bedeuten, indem es die Möglichkeit einer individuellen medikamentösen Therapie eröffnet. Bei einem TSH/TRH-abhängigem Hyperaldosteronismus z.B. könnte allein das Verhindern einer Hypothyreose mit erhöhten TSH-Werten, bzw. das Anstreben einer latenten hyperthyreoten Stoffwechsellage ohne klinische Beschwerden, zu einer gewissen Milderung der Symptome führen. Eine TRH- bzw. TSH-Rezeptor-Blockade käme sicherlich auch in Frage, es müsste allerdings für eine ausreichende Schilddrüsenhormon-Substitution gesorgt werden.

Die Anwendung von GnRH-Agonisten (Leuprorelinacetat) zur Kontrolle des LH-abhängigen Hypercortisolismus durch Suppression der LH-Synthese wurde schon erfolgreich erprobt (*Bourdeau I et al., 2001; Goodarzi MO et al., 2003*) und könnte möglicherweise einen therapeutischen Ansatz auch bei Conn-Patienten, bei denen Gonadotropin-Rezeptoren festgestellt werden, bedeuten.

Ein eindeutiger Zusammenhang zwischen den Aldosteronkonzentrationen bei Patienten mit idiopathischem Hyperaldosteronismus und der Gabe des Serotonininhibitors Cyproheptidin wurde schon Anfang der Achtziger Jahre festgestellt (*Gross MD et al., 1981*). Man weiß auch, dass die Gabe des selektiven Serotoninantagonisten Ketanserin einen transienten Abfall des Bluthochdruckes, sowie der Aldosteron- und Cortisolplasmakonzentrationen bei einigen Patienten mit APA hervorrufen kann (*Mantero F et al. 1985*). In unserer Studie haben wir gesehen, dass fast alle PHA-Patienten 5-HT₄-Rezeptoren aufweisen. Es stellt sich die Frage, ob sich die Gabe von Serotoninantagonisten nicht als therapeutischer Standardversuch bewähren würde, der eine Alternative zur Spironolacton-Therapie bzw. Adrenalektomie darstellen könnte.

All diese therapeutischen Ansätze sind allerdings sehr theoretisch, da die Aldosteron-Freisetzung bei den Conn-Patienten nicht zwingend, sogar eher unwahrscheinlich, durch die Stimulation nur bestimmter aberranter Rezeptoren hervorgerufen wird. In diesem Sinne würde ihre Blockierung eventuell zu einer Abschwächung der Krankheitssymptome (Blutdruckabfall, niedrigere

Aldosteronwerte) führen, aber weniger wahrscheinlich zur völligen Symptombefreiung. Solche Therapieansätze werden sich sehr individuell und mit unterschiedlichsten Erfolgsraten auszeichnen.

Als Nebenziel dieser Arbeit sollte die Hormonrezeptoraktivität der zwei häufigsten Subtypen des PHA - des Aldosteron-produzierenden Adenoms (APA) und der bilateralen idiopathischen Hyperplasie (BIAH) - verglichen werden, um nähere Hinweise auf die Entstehung und die Pathophysiologie der Grunderkrankung zu gewinnen. Die bisherigen Studiendaten über die ACTH- bzw. AT II-Abhängigkeit von aldosteronproduzierenden Adenomen und Hyperplasien konnten nur bestätigt werden. In den Fällen, bei denen mögliche aberrante Rezeptoren detektiert worden sind, sind keine signifikanten Unterschiede zu berichten, es fehlen leider die notwendigen Patientenzahlen, um eine statistisch relevante Aussage treffen zu können.

7. Zusammenfassung

Einer der wichtigsten Mechanismen zur Regulation des Wasser- und Elektrolythaushaltes und des Blutdrucks im menschlichen Organismus ist das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System. Beim primären Hyperaldosteronismus ist dieser Regelkreis gestört und Aldosteron wird übermäßig produziert. Dies führt bei den Betroffenen zu einem sehr schwer kontrollierbaren Hypertonus, zur Hypokaliämie und zu weiteren ernsten Gesundheitsstörungen. Obwohl das Conn-Syndrom eine der häufigsten Ursachen einer sekundären Hypertonie darstellt, ist bis dato sehr wenig über seine molekulare Pathophysiologie bekannt. In vitro Studien haben gezeigt, dass aberrante Hormonrezeptoren in der Nebennierenrinde bei Patienten mit PHA in einer höheren Zahl vorkommen als bei Gesunden und zum Teil für eine autonome Aldosteronsekretion verantwortlich sein können. In unserer in vivo Studie konnten wir die bisherigen molekularen Kenntnisse mit klinischen Fakten unterstützen. Wir haben gezeigt, dass eine Aldosteronsekretion durch unterschiedliche, für die Nebennierenrinde unspezifische Peptidhormone zu induzieren ist. Bei einigen dieser Substanzen wie Glukagon, ACTH, AVP oder MCP ist dieses Phänomen krankheitsunspezifisch - es tritt sowohl bei PHA-Patienten als auch bei Gesunden auf und ist deswegen zumeist nicht zwingend pathologisch. GIP-Rezeptoren konnten weder bei Probanden, noch bei Patienten nachgewiesen werden. Eine Reaktion auf die GnRH- und TRH-Stimulation war allerdings ausschließlich bei Erkrankten nachzuweisen. Dies könnte bedeuten, dass diese Rezeptoren in einigen Fällen krankheitsspezifisch für den primären Hyperaldosteronismus sein können.

Weitere Studien über die Existenz, Funktion und Pathophysiologie von aberranten Hormonrezeptoren bei Patienten mit einem primären Hyperaldosteronismus sind sicherlich erstrebenswert. Das hier vorgestellte in vivo Studienprotokoll, am besten direkt mit einer in vitro Untersuchung von Gewebeproben der teilnehmenden Personen kombiniert, stellt hierzu einen guten Ansatz dar. Um eine mögliche Regelmäßigkeit und Systematik in der Expression solcher Rezeptoren festzustellen, müssen allerdings an erster Stelle viel größere Patientenzahlen angestrebt werden. Eine Kombination von in vivo und in vitro Daten und der Vergleich zwischen Gesunden und PHA-Patienten würde mit größter Wahrscheinlichkeit aussagekräftigere Ergebnisse erzeugen.

Literaturverzeichnis

1. **American Heart Association Professional Education Committee.** (2007) Summary of the 2007 European Society of Hypertension (ESH) and European Society of Cardiology (ESC) guidelines for the management of arterial hypertension. *Vasc Health Risk Manag.* 2007;3(6):783-95.
2. **Arnaldi G,** Gasc JM, de Keyzer Y, Raffin-Sanson ML, Perraudin V, Kuhn JM, Raux-Demay MC, Luton JP, Clauser E, Bertagna X. Variable expression of the V1 vasopressin receptor modulates the phenotypic response of steroid-secreting adrenocortical tumors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1998 Jun;83(6):2029-35.
3. **Bertherat J,** Contesse V, Louiset E, Barrande G, Duparc C, Groussin L, Emy P, Bertagna X, Kuhn JM, Vaudry H, Lefebvre H. In vivo and in vitro screening for illegitimate receptors in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome: identification of two cases of gonadotropin/gastric inhibitory polypeptide-dependent hypercortisolism. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005 Mar;90(3):1302-10.
4. **Born-Frontsberg E,** Quinkler M. Conn's syndrome. *Internist (Berl).* 2009 Jan;50(1):17-26.
5. **Bourdeau I,** D'Amour P, Hamet P, Boutin JM, Lacroix A. Aberrant membrane hormone receptors in incidentally discovered bilateral macronodular adrenal hyperplasia with subclinical Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001 Nov;86(11):5534-40.
6. **Calhoun DA,** Jones D, Textor S, Goff DC, Murphy TP, Toto RD, White A, Cushman WC, White W, Sica D, Ferdinand K, Giles TD, Falkner B, Carey RM; Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. *Circulation.* 2008 Jun 24;117(25):e510-26.
7. **Calhoun DA.** Is there an unrecognized epidemic of primary aldosteronism? *Pro. Hypertension.* 2007 Sep;50(3):447-53.
8. **Cartier D,** Jégou S, Parmentier F, Lihrmann I, Louiset E, Kuhn JM, Bastard C, Plouin PF, Godin M, Vaudry H, Lefebvre H. Expression profile of serotonin4 (5-HT4) receptors in adrenocortical aldosterone-producing adenomas. *Eur J Endocrinol.* 2005 Dec;153(6):939-47.
9. **Cartier D,** Lihrmann I, Parmentier F, Bastard C, Bertherat J, Caron P, Kuhn JM, Lacroix A, Tabarin A, Young J, Vaudry H, Lefebvre H. Overexpression of serotonin4 receptors in cisapride-responsive adrenocorticotropin-independent bilateral macronodular adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Jan;88(1):248-54

10. **Christopoulos S**, Bourdeau I, Lacroix A. Clinical and subclinical ACTH-independent macronodular adrenal hyperplasia and aberrant hormone receptors. *Horm Res.* 2005;64(3):119-31.
11. **Conn JW**, Cohen EL, Rovner DR, Nesbit RM. Normokalemic Primary Aldosteronism, a detectable cause of curable "essential" hypertension, *JAMA.* 1965 Jul 19;193:200-6.
12. **Conn JW**. Primary aldosteronism. *J Lab Clin Med.* 1955 Apr;45(4):661-4.
13. **Cozza EN**, Ceballos NR, Lantos CP. Effects of ACTH on the last step of aldosterone biosynthesis. *J Steroid Biochem.* 1989 Dec;33(6):1253-5.
14. **Cozza EN**, Vila MC, Acevedo-Duncan M, Farese RV, Gómez-Sánchez CE. Treatment of primary cultures of calf adrenal glomerulosa cells with adrenocorticotropin (ACTH) and phorbol esters: a comparative study of the effects on aldosterone production and ACTH signaling system. *Endocrinology.* 1990 Apr;126(4):2169-76.
15. **Cozza EN**, Vila MC, Acevedo-Duncan M, Gomez-Sanchez CE, Farese RV. ACTH increases de novo synthesis of diacylglycerol and translocates protein kinase C in primary cultures of calf adrenal glomerulosa cells. *J Steroid Biochem.* 1990 Feb;35(2):343-51.
16. **Daidoh H**, Morita H, Hanafusa J, Mune T, Murase H, Sato M, Shibata T, Suwa T, Ishizuka T, Yasuda K. In vivo and in vitro effects of AVP and V1a receptor antagonist on Cushing's syndrome due to ACTH-independent bilateral macronodular adrenocortical hyperplasia. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1998 Sep;49(3):403-9.
17. **Diederich S**, Bidlingmaier M, Quinkler M, Reincke M. Diagnosis of primary hyperaldosteronism. *Med Klin (Munich).* 2007 Jan 15;102(1):16-21. German.
18. **Dutton CM**, Joba W, Spitzweg C, Heufelder AE, Bahn RS. Thyrotropin receptor expression in adrenal, kidney, and thymus. *Thyroid.* 1997 Dec;7(6):879-84
19. **Fardella CE**, Mosso L, Gómez-Sánchez C, Cortés P, Soto J, Gómez L, Pinto M, Huete A, Oestreicher E, Foradori A, Montero J. Primary hyperaldosteronism in essential hypertensives: prevalence, biochemical profile, and molecular biology. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 May;85(5):1863-7.
20. **Ferriss JB**, Beevers DG, Brown JJ, Davies DL, Fraser R, Lever AF, Mason P, Neville AM, Robertson JI. Clinical, biochemical and pathological features of low-renin ("primary") hyperaldosteronism. *Am Heart J.* 1978 Mar;95(3):375-88.

21. **Fogari R**, Preti P, Zoppi A, Rinaldi A, Fogari E, Mugellini A. Prevalence of primary aldosteronism among unselected hypertensive patients: a prospective study based on the use of an aldosterone/renin ratio above 25 as a screening test. *Hypertens Res.* 2007 Feb;30(2):111-7.
22. **Funder JW**, Carey RM, Fardella C, Gomez-Sanchez CE, Mantero F, Stowasser M, Young WF Jr, Montori VM. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline. Endocrine Society. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008 Sep;93(9):3266-81.
23. **Ganguly A**, Chavarri M, Luetscher JA, Dowdy J. Transient fall and subsequent return of high aldosterone secretion by adrenal adenoma during continued dexamethasone administration. *J Clin Endocrinol Metab.* 1977 Apr;44(4):775-9.
24. **Ganguly A**, Pratt JH, Weinberger MH, Grim CE, Fineberg NS. Differing effects of metoclopramide and adrenocorticotropin on plasma aldosterone levels in glucocorticoid-suppressible hyperaldosteronism and other forms of hyperaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1983 Aug;57(2):388-92.
25. **Gillies GE**, Linton EA, Lowry PJ. Corticotropin releasing activity of the new CRF is potentiated several times by vasopressin. *Nature.* 1982 Sep 23;299(5881):355-7.
26. **Goodarzi MO**, Dawson DW, Li X, Lei Z, Shintaku P, Rao CV, Van Herle AJ. Virilization in bilateral macronodular adrenal hyperplasia controlled by luteinizing hormone. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Jan;88(1):73-7.
27. **Gordon RD**, Stowasser M, Tunny TJ, Klemm SA, Rutherford JC. High incidence of primary aldosteronism in 199 patients referred with hypertension. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 1994 Apr;21(4):315-8.
28. **Gross MD**, Grekin RJ, Gniadek TC, Villareal JZ. Suppression of aldosterone by cyproheptadine in idiopathic aldosteronism. *N Engl J Med.* 1981 Jul 23;305(4):181-5.
29. **Guillon G**, Trueba M, Joubert D, Grazzini E, Chouinard L, Côté M, Payet MD, Manzoni O, Barberis C, Robert M, et al. Vasopressin stimulates steroid secretion in human adrenal glands: comparison with angiotensin-II effect. *Endocrinology.* 1995 Mar;136(3):1285-95.
30. **Hamet P**, Larochelle P, Franks DJ, Cartier P, Bolte E. Cushing syndrome with food-dependent periodic hormonogenesis. *Clin Invest Med.* 1987 Nov;10(6):530-3.

31. **Hoefnagels WH**, Drayer JI, Smals AG, Benraad TJ, Kloppenborg PW. Nocturnal, daytime, and postural changes of plasma aldosterone before and during dexamethasone in adenomatous and idiopathic aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1980 Dec;51(6):1330-4.
32. **Lacroix A**, Tremblay J, Rousseau G, Bouvier M, Hamet P. Propranolol therapy for ectopic beta-adrenergic receptors in adrenal Cushing's syndrome. *N Engl J Med.* 1997 Nov 13;337(20):1429-34.
33. **Lacroix A**, Bolté E, Tremblay J, Dupré J, Poitras P, Fournier H, Garon J, Garrel D, Bayard F, Taillefer R, et al. Gastric inhibitory polypeptide-dependent cortisol hypersecretion--a new cause of Cushing's syndrome. *N Engl J Med.* 1992 Oct 1;327(14):974-80.
34. **Lacroix A**, Mircescu H, Hamet P. Clinical Evaluation of the Presence of Abnormal Hormone Receptors in Adrenal Cushing's Syndrome. *The Endocrinologist.* 9(1):9-15, January/February 1999.
35. **Lacroix A**, Ndiaye N, Tremblay J, Hamet P. Ectopic and abnormal hormone receptors in adrenal Cushing's syndrome. *Endocr Rev.* 2001 Feb;22(1):75-110.
36. **Lefebvre H**, Cartier D, Duparc C, Contesse V, Lihrmann I, Delarue C, Vaudry H, Fischmeister R, Kuhn JM. Effect of serotonin₄ (5-HT₄) receptor agonists on aldosterone secretion in idiopathic hyperaldosteronism. *Endocr Res.* 2000 Nov;26(4):583-7.
37. **Lefebvre H**, Cartier D, Duparc C, Lihrmann I, Contesse V, Delarue C, Godin M, Fischmeister R, Vaudry H, Kuhn JM. Characterization of serotonin₄ receptors in adrenocortical aldosterone-producing adenomas: in vivo and in vitro studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Mar;87(3):1211-6.
38. **Lefebvre H**, Contesse V, Delarue C, Legrand A, Kuhn JM, Vaudry H, Wolf LM. The serotonin-4 receptor agonist cisapride and angiotensin-II exert additive effects on aldosterone secretion in normal man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1995 Feb;80(2):504-7.
39. **Lefebvre H**, Gonzalez KN, Contesse V, Delarue C, Vaudry H, Kuhn JM. Effect of prolonged administration of the serotonin₄ (5-HT₄) receptor agonist cisapride on aldosterone secretion in healthy volunteers. *Endocr Res.* 1998 Aug-Nov;24(3-4):749-52.
40. **Loh KC**, Koay ES, Khaw MC, Emmanuel SC, Young WF Jr. Prevalence of primary aldosteronism among Asian hypertensive patients in Singapore. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Aug;85(8):2854-9.

41. **Louiset E**, Contesse V, Groussin L, Cartier D, Duparc C, Perraudin V, Bertherat J, Lefebvre H. Expression of vasopressin receptors in ACTH-independent macronodular bilateral adrenal hyperplasia causing Cushing's syndrome: molecular, immunohistochemical and pharmacological correlates. *J Endocrinol.* 2008 Jan;196(1):1-9.
42. **Mancini T**, Kola B, Mantero F, Arnaldi G. Functional and nonfunctional adrenocortical tumors demonstrate a high responsiveness to low-dose adrenocorticotropin. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 May;88(5):1994-8.
43. **Mannelli M**, Ferruzzi P, Luciani P, Crescioli C, Buci L, Corona G, Serio M, Peri A. Cushing's syndrome in a patient with bilateral macronodular adrenal hyperplasia responding to cisapride: an in vivo and in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2003 Oct;88(10):4616-22.
44. **Mantero F**, Rocco S, Opocher G, Armanini D, Boscaro M, D'Agostino D. Effect of ketanserin in primary aldosteronism. *J Cardiovasc Pharmacol.* 1985;7 Suppl7:S172-5.
45. **Matsukura S**, Kakita T, Sueoka S, Yoshimi H, Hirata Y, Yokota M, Fujita T. Multiple hormone receptors in the adenylate cyclase of human adrenocortical tumors. *Cancer Res.* 1980 Oct;40(10):3768-71.
46. **Milliez P**, Girerd X, Plouin PF, Blacher J, Safar ME, Mourad JJ. Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism. *J Am Coll Cardiol.* 2005 Apr 19;45(8):1243-8.
47. **Mircescu H**, Jilwan J, N'Diaye N, Bourdeau I, Tremblay J, Hamet P, Lacroix A. Are ectopic or abnormal membrane hormone receptors frequently present in adrenal Cushing's syndrome? *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Oct;85(10):3531-6.
48. **Mosso L**, Carvajal C, González A, Barraza A, Avila F, Montero J, Huete A, Gederlini A, Fardella CE. Primary aldosteronism and hypertensive disease. *Hypertension.* 2003 Aug;42(2):161-5.
49. **Mulatero P**, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, Gomez-Sanchez CE, Veglio F, Young WF Jr. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004 Mar;89(3):1045-50.
50. **Mune T**, Morita H, Yasuda K, Yamakita N, Miura K. Reduced response to metoclopramide and anomalous rising response to upright posture of plasma aldosterone concentration in Japanese patients with aldosterone-producing adenoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993 Oct;77(4):1020-7.

51. **Mune T**, Murase H, Yamakita N, Fukuda T, Murayama M, Miura A, Suwa T, Hanafusa J, Daido H, Morita H, Yasuda K. Eutopic overexpression of vasopressin v1a receptor in adrenocorticotropin-independent macronodular adrenal hyperplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2002 Dec;87(12):5706-13.
52. **Nakamura Y**, Son Y, Kohno Y, Shimono D, Kuwamura N, Koshiyama H, Sasano H, Matsuda T. Case of adrenocorticotrophic hormone-independent macronodular adrenal hyperplasia with possible adrenal hypersensitivity to angiotensin II. *Endocrine.* 2001 Jun;15(1):57-61
53. **Nomura K**, Toraya S, Horiba N, Ujihara M, Aiba M, Demura H. Plasma aldosterone response to upright posture and angiotensin II infusion in aldosterone-producing adenoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 1992 Jul;75(1):323-7.
54. **Oelkers W**, Boelke T, Bähr V. Dose-response relationships between plasma adrenocorticotropin (ACTH), cortisol, aldosterone, and 18-hydroxycorticosterone after injection of ACTH-(1-39) or human corticotropin-releasing hormone in man. *J Clin Endocrinol Metab.* 1988 Jan;66(1):181-6.
55. **Perraudin V**, Delarue C, Lefebvre H, Contesse V, Kuhn JM, Vaudry H. Vasopressin stimulates cortisol secretion from human adrenocortical tissue through activation of V1 receptors. *J Clin Endocrinol Metab.* 1993 Jun;76(6):1522-8.
56. **Perraudin V**, Delarue C, Lefebvre H, Do Rego JL, Vaudry H, Kuhn JM. Evidence for a role of vasopressin in the control of aldosterone secretion in primary aldosteronism: in vitro and in vivo studies. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Apr;91(4):1566-72. Epub 2006 Jan 31.
57. **Phillips JL**, Walther MM, Pezzullo JC, Rayford W, Choyke PL, Berman AA, Linehan WM, Doppman JL, Gill Jr JR Jr. Predictive value of preoperative tests in discriminating bilateral adrenal hyperplasia from an aldosterone-producing adrenal adenoma. *J Clin Endocrinol Metab.* 2000 Dec;85(12):4526-33.
58. **Reincke M**, Beuschlein F, Latronico AC, Arlt W, Chrousos GP, Allolio B. Expression of adrenocorticotrophic hormone receptor mRNA in human adrenocortical neoplasms: correlation with P450scc expression. *Clin Endocrinol (Oxf).* 1997 May;46(5):619-26.
59. **Reincke M**, Beuschlein F, Menig G, Hofmockel G, Arlt W, Lehmann R, Karl M, Allolio B. Localization and expression of adrenocorticotrophic hormone receptor mRNA in normal and neoplastic human adrenal cortex. *J Endocrinol.* 1998 Mar;156(3):415-23.

60. **Reznik Y**, Allali-Zerah V, Chayvialle JA, Leroyer R, Leymarie P, Travert G, Lebrethon MC, Budi I, Balliere AM, Mahoudeau J. Food-dependent Cushing's syndrome mediated by aberrant adrenal sensitivity to gastric inhibitory polypeptide. *N Engl J Med*. 1992 Oct 1;327(14):981-6.
61. **Reznik Y**, Lefebvre H, Rohmer V, Charbonnel B, Tabarin A, Rodien P, Lecomte P, Bardet S, Coffin C, Mahoudeau J; REHOS study group. Aberrant adrenal sensitivity to multiple ligands in unilateral incidentaloma with subclinical autonomous cortisol hypersecretion: a prospective clinical study. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2004 Sep;61(3):311-9.
62. **Rossi GP**, Bernini G, Caliumi C, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Ganzaroli C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Mattarello MJ, Moretti A, Palumbo G, Parenti G, Porteri E, Semplicini A, Rizzoni D, Rossi E, Boscaro M, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Investigators. A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol*. 2006 Dec 5;48(11):2293-300.
63. **Rossi GP**, Bernini G, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mannelli M, Matterello MJ, Montemurro D, Palumbo G, Rizzoni D, Rossi E, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Participants. Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY Study. *Hypertension*. 2006 Aug;48(2):232-8.
64. **Rossi GP**, Sechi LA, Giacchetti G, Ronconi V, Strazzullo P, Funder JW. Primary aldosteronism: cardiovascular, renal and metabolic implications. *Trends Endocrinol Metab*. 2008 Apr;19(3):88-90.
65. **Saner-Amigh K**, Mayhew BA, Mantero F, Schiavi F, White PC, Rao CV, Rainey WE. Elevated expression of luteinizing hormone receptor in aldosterone-producing adenomas. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Mar;91(3):1136-42. Epub 2005 Dec 6.
66. **Schirpenbach C**, Segmiller F, Diederich S, Hahner S, Lorenz R, Rump LC, Seufert J, Quinkler M, Bidlingmaier M, Beuschlein F, Endres S, Reincke M. The diagnosis and treatment of primary hyperaldosteronism in Germany: results on 555 patients from the German Conn Registry. *Dtsch Arztebl Int*. 2009 May;106(18):305-11. Epub 2009 May 1.
67. **Schorr I**, Hinshaw HT, Cooper MA, Mahaffee D, Ney RL. Adenyl cyclase hormone responses of certain human endocrine tumors. *J Clin Endocrinol Metab*. 1972 Mar;34(3):447-51.
68. **Schorr I**, Ney RL. Abnormal hormone responses of an adrenocortical cancer adenyl cyclase. *J Clin Invest*. 1971 Jun;50(6):1295-300.

- 69. Schorr I**, Rathnam P, Saxena BB, Ney RL. Multiple specific hormone receptors in the adenylate cyclase of an adrenocortical carcinoma. *J Biol Chem.* 1971 Sep 25;246(18):5806-11.
- 70. Schubert B**, Fassnacht M, Beuschlein F, Zenkert S, Allolio B, Reincke M. Angiotensin II type 1 receptor and ACTH receptor expression in human adrenocortical neoplasms. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2001 May;54(5):627-32.
- 71. Streeten DH**, Tomycz N, Anderson GH. Reliability of screening methods for the diagnosis of primary aldosteronism. *Am J Med.* 1979 Sep;67(3):403-13.
- 72. Willenberg HS**, Stratakis CA, Marx C, Ehrhart-Bornstein M, Chrousos GP, Bornstein SR. Aberrant interleukin-1 receptors in a cortisol-secreting adrenal adenoma causing Cushing's syndrome. *N Engl J Med.* 1998 Jul 2;339(1):27-31.
- 73. Wisgerhof M**, Mellinger RC. Effect of bromocriptine treatment on the aldosterone response to angiotensin II and adrenocorticotropin in idiopathic hyperaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab.* 1985 Jul;61(1):192-5.
- 74. Ye P**, Mariniello B, Mantero F, Shibata H, Rainey WE. G-protein-coupled receptors in aldosterone-producing adenomas: a potential cause of hyperaldosteronism. *J Endocrinol.* 2007 Oct;195(1):39-48.
- 75. Zwermann O**, Suttman Y, Bidlingmaier M, Beuschlein F, Reincke M. Screening for membrane hormone receptor expression in primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol.* 2009 Mar;160(3):443-51. Epub 2009 Jan 8.

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. Martin Reincke, Direktor der Medizinischen Klinik Ziemssenstrasse der LMU, für die freundliche Überlassung des Themas, sowie die Möglichkeit der Durchführung dieser Doktorarbeit an seiner Klinik.

Großer Dank geht an meinen persönlichen Betreuer, Herrn Dr. Oliver Zwermann, für die fachliche Betreuung und sein Engagement bei der Durchführung und Fertigstellung der Arbeit.

Für ihre ausgezeichnete technische Assistenz möchte ich mich bei Brigitte Maueracher, Sarina Meurer, Juliane Ramisch und Rita Schwaiger herzlich bedanken.

Meiner Familie, insbesondere meinem Ehemann Dr. Ingo Suttman, danke ich für die stete Unterstützung und großartige Hilfe.

Und natürlich will ich meinen zwei wunderbaren Töchtern danken für die Zeit, die sie mir gegönnt haben, damit diese Arbeit fertig werden konnte.

Yana Suttman

Veröffentlichungen

Screening for membrane hormone receptor expression in primary aldosteronism.

Zwermann O, Suttman Y, Bidlingmaier M, Beuschlein F, Reincke M.
Eur J Endocrin März 2009,
160(3):443-51.

Saliva as a medium for aldosterone measurement in repeated sampling studies.

Manolopoulou J, Mulatero P, Maser-Gluth C, Rossignol P, Spyroglou A, Vakrilova Y,
Petersenn S, Zwermann O, Plouin PF, Reincke M, Bidlingmaier M.
Steroids. 2009 Oct;
74(10-11):853-8.

