

Aus der Klinik für Endokrinologie, Diabetes und Ernährungsmedizin
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Laborbeurteilung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems:
Evaluation im Praxisalltag und Vergleich verschiedener Methoden zur
Renin-Bestimmung**

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Claudius Broderson, geb. Jakob
aus Berlin

Datum der Promotion:04.06.2021.....

INHALT

Abkürzungsverzeichnis	I
Abbildungsverzeichnis	II
Tabellenverzeichnis.....	IV
1. Abstract	1
2. Einleitung	3
2.1 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)	3
2.2 Dysbalancen im RAAS.....	5
2.2.1 Hyperaldosteronismus	5
2.2.1.1 Primärer Hyperaldosteronismus (PHA): Definition, Epidemiologie und Klassifikation	6
2.2.1.2 Primärer Hyperaldosteronismus: Pathophysiologie, Klinisches Bild und Folgen	6
2.2.1.3 Sekundärer Hyperaldosteronismus	7
2.2.2 Hypoaldosteronismus	8
2.2.2.1 Primärer Hypoaldosteronismus.....	8
2.2.2.2 Sekundärer Hypoaldosteronismus	8
2.3 Diagnostische Methoden	9
2.3.1 Screening-Test: Aldosteron-Renin-Ratio	10
2.3.2 Bestätigungstests	10
2.3.2.1 Kochsalzbelastungstest (i. v. SLT)	10
2.3.2.2 Fludrocortisonbelastungstest (FST).....	10
2.3.2.3 24-h-Sammelurin auf Aldosteron und Aldosteronmetabolite	11
/ Oraler Kochsalzbelastungstest (p. o. SLT)	11
2.3.2.4 Captopril-Test	11
2.3.3 Klassifizierung des gesicherten PHA	11
2.3.3.1 CT/MRT-Untersuchung.....	12
2.3.3.2 Orthostasetest.....	13
2.3.3.3 Katheterisierung der Nebennierenvenen.....	13
2.4 Therapiekonzepte.....	15
2.4.1 Operative Therapie des PHA.....	15
2.4.2 Medikamentöse Therapie des PHA.....	15
3. Fragestellung.....	17
3.1 Vergleichbarkeit der Renin-Messverfahren.....	17
3.2 Überprüfen der Cut-Off-Werte der ARR zur Conn-Diagnostik.....	17

3.3	Trennung der Patientengruppen analog zum McKenna-Paradigma.....	17
3.4	Effekte antihypertensiver Medikation auf die Renin-Bestimmung.....	17
3.5	Korrelation der Aldosteron-Renin-Ratio zu anderen Vitalparametern.....	17
4.	Methoden	18
4.1	Ethikantrag.....	18
4.2	Studienkonzept	18
4.3	Studienpopulation.....	18
4.3.1	Beschreibung der Studienpopulation	18
4.3.2	Einteilung in Untergruppen	18
4.4	Erläuterungen zu erhobenen Daten.....	19
4.5	Medikamenteneinnahme vor dem Screening	19
4.6	Verwendete Labortests	20
4.6.1	Plasma-Aldosteron-Bestimmung: DPC Coat-A-Count® Aldosterone	21
4.6.2	Plasma-Renin-Konzentration: Cisbio® Renin III. Generation	22
4.6.3	Plasma-Renin-Konzentration: Diasorin® Liaison Direct Renin.....	23
4.6.4	Plasma-Renin-Aktivität: Diasorin® Angiotensin I RIA:	24
4.7	Statistische Methoden.....	25
4.8	Abschätzung der Probandenanzahl.....	27
4.9	Entstehung der Daten.....	29
5.	Ergebnisse	30
5.1	Beschreibung des Patientenkollektivs: Deskriptive Statistik	30
5.2	Vergleich der drei Renin-Assays	32
5.2.1	Direkter Vergleich der Assays der Plasma-Renin-Konzentration Cisbio® Renin III. Generation® (PRC1 Cisbio®) und Diasorin® Liaison Direct Renin® (PRC2 Diasorin®)..	32
5.2.2	Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität Diasorin® Angiotensin-I RIA (PRA) mit der Plasma-Renin-Konzentration Cisbio® Renin III. Generation RIA (PRC1 Cisbio®)	39
5.2.3	Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität Diasorin® Angiotensin-I RIA (PRA) mit Plasma-Renin-Konzentration Diasorin® Liaison Direct Renin CLIA (PRC2 Diasorin®) ...	44
5.3	Überprüfen der Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zur Conn-Diagnostik .	49
5.3.1	Diagnostik mittels PAC, PRA, PRC im Vergleich zur ARR.....	49
5.3.2	Cut-Off anhand ROC-Analyse	54
5.4	Trennung der Patientengruppen analog zum McKenna-Paradigma.....	58
5.4.1	Trennung der Untergruppen anhand ARR mittels PAC/PRA.....	61
5.4.2	Trennung der Untergruppen anhand ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®	62
5.4.3	Trennung der Untergruppen anhand ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®	64
5.5	Effekte antihypertensiver Medikation auf die Renin-Bestimmung.....	65
5.6	Korrelation von RAAS-Messwerten zu anderen Vitalparametern	68

6.	Diskussion.....	73
6.1	Klinische Relevanz	73
6.2	Vor- und Nachteile der verschiedenen Messverfahren.....	73
6.2.1	Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC	73
6.2.2	Plasma-Renin-Aktivität PRA	74
6.2.3	Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®	75
6.2.4	Plasma-Renin-Konzentration PRC2-Diasorin®.....	75
6.3	Präzision der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zur M. Conn-Diagnostik - Finden des optimalen Cut-Off.....	76
6.3.1	PRC1 Cisbio®.....	76
6.3.2	PRC2 Diasorin®.....	77
6.3.3	PRA Diasorin®	78
6.4	Bedeutung des McKenna Algorithmus in der klinischen Praxis.....	79
6.5	Medikamenteneffekte	80
6.6	Korrelation der Aldosteron-Renin-Ratio zu anderen Vitalparametern.....	81
6.7	Methodenkritik und Grenzen der vorliegenden Arbeit.....	82
6.7.1	Cut-Off-Werte für positives Screening	82
6.7.3	Kalium.....	82
6.7.4	Kontrazeption	82
6.7.5	Tageszeiten von Blutabnahmen, Unwägbarkeiten	82
7.	Zusammenfassung.....	84
7.1	Vergleichbarkeit der Renin-Messverfahren (siehe 5.2).....	84
7.2	Präzision der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zur M. Conn-Diagnostik (siehe 5.3..... und 6.3).....	84
7.3	Trennung der Patientengruppen analog zum McKenna-Paradigma (siehe 5.4).....	85
7.4	Effekte antihypertensiver Medikation auf die Renin-Bestimmung (siehe 5.5).....	85
7.5	Korrelation der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zu anderen Vitalparametern	85
	(siehe 5.6)	85
8.	Literaturverzeichnis	86
	Eidesstattliche Erklärung.....	91
	Lebenslauf	92
	Danksagung.....	93

Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-Converting-Enzyme
ACTH	Adrenocorticotropes Hormon
APA	Aldosteron produzierendes Adenom
AT-I/II	Angiotensin-I/II
AUC	Area-under-the-Curve = Fläche unter der Kurve
ARR	Aldosteron-Renin-Ratio
CLIA	Chemilumineszenzimmunoassay
EDTA	Ethylendiaminetetraessigsäure
EH	Essentielle Hypertonie
ENaC	Luminaler Natriumkanal
EHT	Essentielle Hypertoniker
FST	Fludrocortison Suppression Test (Fludrocortison-Belastungstest)
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HRE	Hormone-responsive-elements, Zellkernrezeptoren zur Transkriptionsregulation
HU	Hounsfield Units = Dichteangabe für Computertomographie
IHA	Idiopathischer Hyperaldosteronismus
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
JGA	Juxtaglomerulärer Apparat
LoA	Limits of Agreement = 95 % Übereinstimmungsintervall für Werte im Bland-Altman-Plot
MAD	Mittlerer arterieller Druck
MR(A)	Mineralokortikoid-Rezeptor (-Antagonist)
NHV	normal healthy volunteers = gesunde Probanden
NNR	Nebennierenrinde
NNV	Nebennierenvene(n)
NSAR	Nichtsteroidale Antirheumatika
PHA	Primärer Hyperaldosteronismus
PHypoA	Primärer Hypoaldosteronismus
PAC	Plasma-Aldosteron-Konzentration
PRA	Plasma-Renin-Aktivität
PRC	Plasma-Renin-Konzentration
PHA	Primärer Hyperaldosteronismus
ROC	Receiver-Operator-Characteristic
RIA	Radio-Immunoassay
SHyperA	Sekundärer Hyperaldosteronismus
SHypoA	Sekundärer Hypoaldosteronismus
SLT	Saline Load Test (Kochsalzbelastungstest)
SSRI	selektiver Serotonin Reuptake Inhibitor

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Fließschema, physiologisch,.....	4
Abbildung 2: Zielgene von Aldosteron innerhalb der Zelle.....	4
Abbildung 3: Dysregulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems bei primärem Hyperaldosteronismus.....	7
Abbildung 4: Fließschema zur Stufendiagnostik für die Klassifizierung des gesicherten primären Hyperaldosteronismus (mit freundlicher Genehmigung von Sven Diederich).....	12
Abbildung 5: schematische Darstellung der selektiven Katheterisierung der Nebennierenvenen zur Differenzierung der Unterformen idiopathischer Hyperaldosteronismus (IHA) und Aldosteron-produzierendes Adenom (APA).....	14
Abbildung 6: Gruppen von Antihypertensiva, dargestellt in rot, sind schlecht wirksame Antihypertensiva bei primärem Hyperaldosteronismus (mit freundlicher Genehmigung von Sven Diederich).....	16
Abbildung 7: Abschätzung der Probandenanzahl des primären Kollektivs für den direkten Vergleich von jeweils zwei Renin-Messverfahren.....	27
Abbildung 8: Berechnung der nötigen Stichprobenanzahl für statistische Signifikanz der ROC-Kurven im Vergleich zur Nullhypothese.....	28
Abbildung 9: Berechnung der Stichprobengröße zur Unterscheidung der Untergruppen gemäß McKenna-Paradigma.....	29
Abbildung 10: Korrelation der beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration.....	32
Abbildung 11: Quotienten der Aldosteron-Renin-Ratio ARR für die beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration im Vergleich.....	34
Abbildung 12: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin® ,.....	36
Abbildung 13: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin® bei prozentualer Darstellung der Abweichungen.....	37
Abbildung 14: Korrelation der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® zur Plasma-Renin-Aktivität PRA.....	39
Abbildung 15: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität PRA mit der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®.....	41
Abbildung 16: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und Plasma-Renin-Aktivität PRA bei prozentualer Darstellung der Abweichungen.....	43
Abbildung 17: Vergleich der Korrelation von Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® mit Renin-Aktivität PRA.....	44
Abbildung 18: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität PRA mit der Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin®.....	46
Abbildung 19: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der PRC2 Diasorin® und PRA bei prozentualer Darstellung der Abweichungen ,.....	48
Abbildung 20: Unterteilung der Untergruppen Normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC in pg/ml,.....	49
Abbildung 21: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand Plasma-Renin-Aktivität PRA in ng/ml/h,.....	50
Abbildung 22: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand der Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (PAC/PRA).....	51
Abbildung 23: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (0, NHV), essentielle Hypertoniker (1, EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (2, PHA) anhand der Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Renin-Aktivität PRC1 Cisbio® (PAC/ PRC1 Cisbio®),.....	52
Abbildung 24: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand der Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (PAC/PRC2 Diasorin®) zur Conn-Diagnostik,.....	53
Abbildung 25: ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®, einheitenlos),.....	54
Abbildung 26: ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®, einheitenlos).....	56
Abbildung 27: ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität, ARR mittels PAC/PRA, [(pg/ml)/(ng/ml/h)];.....	57
Abbildung 28: Trennung der Patienten analog zum McKenna-Paradigma mit PRA Assay.....	61
Abbildung 29: Trennung der Patienten analog zum McKenna-Paradigma mit PRC1 Cisbio®.....	63
Abbildung 30: Trennung der Patienten analog zum McKenna-Paradigma mit PRC2 Diasorin®.....	64
Abbildung 31: Einfluss antihypertensiver Medikation auf Ergebnisse der Renin-Bestimmung.....	67
Abbildung 32: Korrelation zwischen mittlerem arteriellen Druck (MAD) und Aldosteron-Renin-Ratio (ARR) ermittelt mit den Assays PAC/PRC2 Diasorin®.....	69

Abbildung 33: Kaliumspiegel bei den Untergruppen nach McKenna	71
Abbildung 34: Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio ARR für Renin-Assay PRC1 Cisbio® in verschiedenen Studien	77
Abbildung 35: Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio ARR für Renin-Assay PRC2 Diasorin® in verschiedenen Studien.....	78
Abbildung 36: Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio für Renin-Assay PRA in verschiedenen Studien.....	79

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Klassifikation der Untergruppen des primären Hyperaldosteronismus (PHA). Die angegebenen Häufigkeiten beziehen sich auf das Gesamtkollektiv des PHA (normo- und hypokaliämisch).	6
Tabelle 2: Formen der Mineralokortikoidhypertonien, links die Ursache beziehungsweise die Dysregulation mit Häufigkeit, rechts die Bezeichnung und, soweit relevant, Unterformen (angelehnt an Tab.5.1 aus endokrine Hypertonie, S. Diederich).....	9
Tabelle 3: Effekte von Antihypertensiva auf die Messwerte von Aldosteron und Renin	20
Tabelle 4: Beschreibung relevanter Parameter des primären Patientenkollektivs	30
Tabelle 5: Beschreibung relevanter Parameter des sekundären Patientenkollektivs	31
Tabelle 6: Korrelation und Regression der beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration	33
Tabelle 7: Korrelation und Regression der beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration	33
Tabelle 8: Deskriptive Statistik der Bland-Altman-Plots für den Vergleich der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin®	35
Tabelle 9: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 12	36
Tabelle 10: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 13	38
Tabelle 11: Korrelation und Regression von Plasma-Renin-Aktivität PRA zu Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®	40
Tabelle 12: Deskriptive Statistik der Bland-Altman-Plots für den Vergleich der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® mit der Plasma-Renin-Aktivität PRA	40
Tabelle 13: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 15	42
Tabelle 14: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 16	43
Tabelle 15: Korrelation und Regressionsformel von Plasma-Renin-Aktivität PRA zu Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin®	45
Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Bland-Altman-Plots für den Vergleich der Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® mit der Plasma-Renin-Aktivität PRA	45
Tabelle 17: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 18	47
Tabelle 18 Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 19	48
Tabelle 19: Einzelparameter Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC, Plasma-Renin-Aktivität PRA und Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® zur Conn-Diagnostik.....	50
Tabelle 20: Patientenzahl und Aldosteron-Renin-Ratio in den Untergruppen - erweitertes Kollektiv	51
Tabelle 21: Fläche unter der Kurve (AUC) für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®), n = 46 aus dem primären Kollektiv.....	55
Tabelle 22: Fläche unter der Kurve (AUC) für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®), n = 89 aus dem erweiterten Kollektiv.....	56
Tabelle 23: Fläche unter der Kurve (AUC) für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (ARR mittels PAC/PRA), n = 84 aus dem erweiterten Kollektiv	57
Tabelle 24: Untergruppen angelehnt an das McKenna-Paradigma	58
Tabelle 25: Klinische Charakterisierung der Untergruppe normal healthy volunteers	59
Tabelle 26: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Essentielle Hypertoniker	59
Tabelle 27: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Primärer Hyperaldosteronismus	59
Tabelle 28: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Sekundärer Hyperaldosteronismus	59
Tabelle 29: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Primärer Hypoaldosteronismus	60
Tabelle 30: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Sekundärer Hypoaldosteronismus	60
Tabelle 31: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Medikamenteneffekte	60
Tabelle 32: Klinische Charakterisierung des Gesamtkollektivs (primäres und sekundäres Kollektiv).....	60
Tabelle 33: Mittelwerte und Messwertbereiche für PRA.....	62
Tabelle 34: Mittelwerte und Messwertbereiche für PRC1 Cisbio®.....	64
Tabelle 35: Mittelwerte und Messwertbereiche für PRC2 Diasorin®	65
Tabelle 36: Einfluss Renin-stimulierender/Renin-supprimierender Medikation auf die Assays	66
Tabelle 37: Korrelation und Signifikanz von Aldosteron-Renin-Ratio mittels der drei Renin-Assays zu Blutdruckparametern.....	68
Tabelle 38: Korrelation und Signifikanz von Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC zu Blutdruckparametern	69
Tabelle 39: Korrelation und Signifikanz zwischen Renin mit 3 verschiedenen Renin-Assays und Blutdruckwerten	70
Tabelle 40: Kaliumspiegel in mmol/l für Gesunde (NHV) , essentielle Hypertoniker (EHT) und primären Hyperaldosteronismus (PHA) im erweiterten Kollektiv	72

1. Abstract

The renin-angiotensin-aldosterone-System or RAAS is one of the most important, endogenous systems for maintaining homeostasis of electrolytes, body fluid level and blood pressure. Many diseases stemming from dysregulation in the RAAS become symptomatic by derailment of electrolytes or blood pressure. The curable Primary (hyper-) aldosteronism (PHA) is one of them and the most common cause of secondary hypertension. PHA and other disorders of the RAAS can be screened for by calculating the aldosterone-renin-ratio (ARR), which is why this quotient has high significance in the differential diagnosis of the widespread disease arterial hypertension. We used the combination of ARR and aldosterone-concentration, to try and distinguish between different entities of Hypo- and Hyperaldosteronism, analogue to the McKenna-paradigm.

With our data this differentiation was possible for the subgroups of normal healthy volunteers NHV, patients with essential hypertension (EHT) and PHA, but not highly specific for the other entities of aldosterone dysregulation.

We compared three different renin-assays pairwise and found very high correlation between the two assays for measuring plasma-renin-concentration PRC. We showed high correlation when each of the PRC assays is compared to the gold standard plasma-renin-activity PRA. Bland-Altman-Plots confirmed these results by yielding very good agreement covering almost the entire measurement range.

Central results of our work are the assay-specific cut-offs for each of the renin-assays to distinguish patients with PHA from patients with essential hypertension. These are: $ARR > 19$ [no unit] for plasma-renin-concentration PRC1 Cisbio®, $ARR > 13$ [no unit] for plasma-renin-concentration PRC2 Diasorin® and $ARR > 130$ [(pg/ml)/(ng/ml/h)] for the plasma-renin-activity PRA. An ARR higher than these values separated PHA patients from the EHT patients and NHV with good sensitivity and specificity.

We showed, by trend and through indirect approximation, a slightly higher vulnerability of the renin-activity regarding interfering medication, compared to measurements of the renin-concentration.

We confirmed a strong correlation of rising ARR and rising blood pressure levels in this thesis.

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System oder RAAS ist eines der wichtigsten körpereigenen Systeme zur Aufrechterhaltung eines ausgeglichenen Volumen- und Elektrolythaushalts und damit einer stabilen Blutdruckeinstellung. Viele Erkrankungen, welche in Fehlregulationen des RAAS ihren Ursprung haben, werden durch Elektrolytentgleisungen und Blutdruckdysregulation symptomatisch. Mit den Markern Renin und Aldosteron können viele Erkrankungen aus dem RAAS Formenkreis identifiziert werden. Der potentiell heilbare primäre Hyperaldosteronismus (PHA) ist die häufigste sekundäre Hypertonieform. Der Aldosteron-Renin-Quotient (ARR) hat hierbei eine maßgebliche Rolle in der Differentialdiagnostik der Volkskrankheit arterielle Hypertonie.

Ein Schwerpunkt der Arbeit war, anhand der Kombination von ARR und Aldosteronspiegel, die Formen des Hyper- und Hypoaldosteronismus analog zum sogenannten McKenna-Paradigma zu unterscheiden. Anhand der Resultate konnte eine eindeutige Unterscheidung der PHA-Patienten von essentiellen Hypertonikern (EHT) und gesunden Probanden erreicht werden. Für die übrigen Entitäten der Aldosteron-Dysregulation war dies nicht eindeutig, sondern nur tendenziell möglich.

Wir verglichen drei verschiedene Renin-Assays jeweils paarweise und konnten zum einen eine sehr hohe Korrelation der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration untereinander und eine hohe Korrelation dieser Konzentrationen zum Goldstandard Plasma-Renin-Aktivität nachweisen. Bland-Altman-Plots zeigen zum anderen auch eine sehr hohe, paarweise Übereinstimmung über nahezu den gesamten Messbereich.

Zentrales Resultat der Arbeit sind für jeden der drei Renin-Assays spezifische Cut-Offs, um den PHA von EHT-Patienten zu unterscheiden. Wir bestimmten anhand unserer Daten Cut-Off-Werte für ein positives Screening von: $ARR > 19$ [einheitenlos] für den Assay der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®, $ARR > 13$ [einheitenlos] für den Assay der Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® und $ARR > 130$ [(pg/ml)/(ng/ml/h)] für die Plasma-Renin-Aktivität PRA.

Bezüglich der Sensitivität der Renin-Assays gegenüber Medikamenteneffekten, zeigte eine Analyse die tendenziell höhere Sensitivität der Renin-Aktivität und eine vergleichbare, aber geringere Empfindlichkeit der beiden Plasma-Renin-Konzentrationen. Erwähnenswert ist, dass diese Sensitivitätsanalyse jedoch in der klinischen Praxis durch das Fehlen einer gezielten Intervention nur indirekt erfolgen konnte.

Wir bestätigten anhand unserer Daten, dass es eine signifikante Korrelation zwischen ansteigender ARR und steigenden Blutdruckwerten gibt.

2. Einleitung

2.1 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)

Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) ist ein wichtiges Regulationssystem aus verschiedenen, voneinander abhängigen Enzymen und Hormonen, die den Flüssigkeits- und Elektrolythaushalt des Körpers innerhalb enger Grenzen im Gleichgewicht halten sollen. Des Weiteren ist es einer der wichtigsten Regelkreisläufe zur mittel- und langfristigen Blutdruckeinstellung des Körpers. Am „Anfang“ dieses Regelkreises steht der sogenannte juxtaglomeruläre Apparat (JGA) innerhalb des Nierenparenchyms. Dieser besteht im Wesentlichen aus 1) Zellen innerhalb des Nierenbindegewebes (Mesangiumzellen), 2) spezialisierten Zellen innerhalb der die Nierenkörperchen (Glomeruli) versorgenden kleinen Arterien mit Kontakt zum Harnkanälchen (Tubulus), sowie 3) der benachbarten Macula Densa (= „dichter Fleck“). Dies ist eine Gewebsstruktur an den Harnkanälen, die ihren Namen den dicht gepackten Zellkernen dort verdankt, welche das Areal mikroskopisch dunkler wirken lassen. Die Macula Densa misst fortwährend den Konzentrationsgradienten für Natrium- und Chlorid-Ionen zwischen Blut im zuführenden Nierengefäß (Vas Afferens) einerseits und Urin im Nierentubulus des Glomerulus andererseits, um eine dem aktuellen Elektrolytbedarf des Körpers angemessene Ionenausscheidung beziehungsweise Rückresorption über den Harn zu ermöglichen. Dieses Messverfahren wird als glomeruläres Feedback bezeichnet und funktioniert über einen $\text{Na}^+/\text{K}^+/\text{2 Cl}^-$ -Ionen-Transporter, der diese Ionen aus dem Tubulus in die Macula-Zelle transportiert und indirekt über die Geschwindigkeit des Transports deren Konzentration ermittelt, da diese direkt proportional sind. Enthält der Harn im Vergleich zum Blut viele Ionen (hyperosmolarer Urin), wird die Ausschüttung des Hormons Adenosin getriggert, was zur Engstellung jener das Nierenparenchym versorgenden Vas Afferens führt und damit über die Verringerung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) die Urinproduktion verringert. Umgekehrt wird bei vergleichsweise wenig Ionen im Harn (hypoosmolarer Urin) die Adenosinausschüttung gebremst, was eine Weitstellung des Vas Afferens und damit eine Zunahme der GFR mit erhöhter Harnproduktion zur Folge hat.

Beginn der eigentlichen RAAS-Kaskade ist die Ausschüttung des Enzyms Renin (eine Endopeptidase) aus den Zellen des oben beschriebenen juxtaglomerulären Apparats, die ebenfalls durch hypoosmolaren Harn oder niedrigen Blutdruck im Vas Afferens ausgelöst wird. Auch Stresshormone (Katecholamine) können über spezielle Rezeptoren (β -Adrenozeptoren) die Reninausschüttung steigern. Alle drei Schlüsselreize deuten auf einen Blutdruckabfall oder die Notwendigkeit eines höheren Blutdrucks hin und leiten durch die Aktivierung des RAAS-Systems eine Gegenregulation ein (siehe Abb.1).

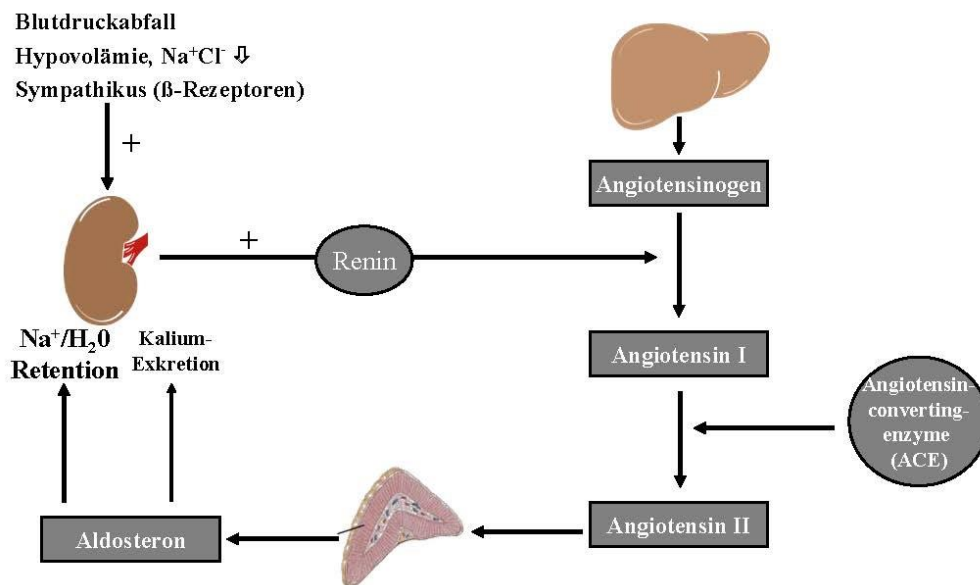


Abbildung 1: Renin-Angiotensin-Aldosteron-System-Fließschema, physiologisch, zeigt die Aktivierung und Steuerung des RAAS aufgrund hämodynamischer und biochemischer Parameter, links oben die Niere, rechts oben die Leber, unten mittig die Nebennierenrinde schematisch (mit freundlicher Genehmigung von S. Diederich)

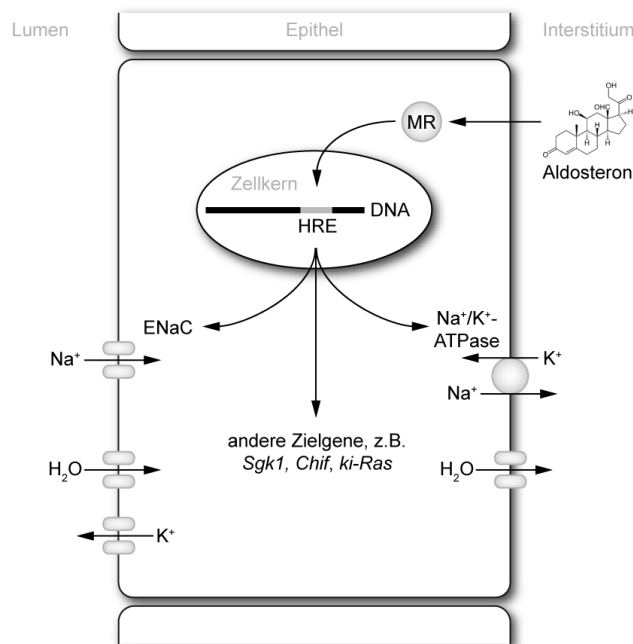


Abbildung 2: Zielgene von Aldosteron innerhalb der Zelle

ENaC = luminaler Natriumkanal, MR = Mineralokortikoidrezeptor, HRE Hormone-responsive-elements, Quelle: Achim Lothar, Freiburg, (<https://commons.wikimedia.org/wiki/file:mr-mechanismus-epithel.png> vom 28.1.2019), „mr-mechanismus-epithel“, <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/legalcode>

Das ins Blut abgegebene Renin spaltet das aus der Leber stammende Prohormon Angiotensinogen, wodurch es zum aktiven Hormon Angiotensin I (AT-I) wird. Dieses wird in der Lunge durch das Angiotensin-Converting-Enzyme (ACE) in Angiotensin II (AT-II) überführt und bewirkt jetzt eine starke Gefäßverengung (Vasokonstriktion) der kleinen Arteriolen und der vom Glomerulus wegführenden Gefäße (Vasa Efferentia). Dies führt über einen verringerten Abfluss im Verhältnis zum gleichbleibenden Zufluss zur Drucksteigerung, was eine ausreichende Filtration in den Glomeruli trotz weniger Blutvolumen und niedrigerem Systemblutdruck aufrechterhält. Vor allem aber bewirkt Angiotensin II die Freisetzung von Aldosteron, dem letzten Schritt der RAAS-Kaskade. Aldosteron wird über mehrere Zwischenstufen in der äußersten Schicht der Nebennierenrinde (Zona Glomerulosa) aus Cholesterin gebildet und ist somit ein natürliches Steroidhormon. Außerdem wird durch Angiotensin II auch vermehrt Antidiuretisches Hormon (ADH) freigesetzt. Seine Hauptfunktion entfaltet das Aldosteron durch Bindung an die sogenannten Mineralokortikoidrezeptoren (MR) an den Wänden der distalen Nierentubuli und der Sammelrohre, dem letzten Teil des Nierentubulussystems. Folge ist, über eine Aktivierung von Second-Messenger-Systemen im Zellinneren, der vermehrte Einbau von spannungsgesteuerten Natriumkanälen (ENaC) und Natriumtransportern (Na⁺/K⁺-ATPase) in die Plasmamembranen der Tubulus- und Sammelrohrwände (siehe Abb. 2).

Auch an den Schweißdrüsen entfaltet Aldosteron - zu einem geringeren Grad - eine vergleichbare Wirkung. Es werden nun mehr Natrium-Ionen zurückgewonnen und Wasser strömt durch den entstehenden Gradienten passiv hinterher (= Solvent Drag), während Kalium, durch die erhöhte lumen-negative Spannung, vermehrt in den Harn abgegeben wird. Auch die H⁺-Sekretion wird durch Aldosteron gesteigert. Dadurch stehen dem Körper im Endeffekt mehr Flüssigkeit und Elektrolyte zur Steigerung des Flüssigkeitsvolumens innerhalb der Blutgefäße (intravasales Volumen) zur Verfügung. Dies führt zur Blutdrucksteigerung, womit der Endpunkt des RAAS-Regelkreises erreicht ist. Gleichzeitig kommt es zur Hemmung der weiteren Renin-Ausschüttung über einen Negative-Feedback-Mechanismus, wodurch Blutdruck und Flüssigkeits-/Elektrolythaushalt jetzt auf dem erreichten Zielniveau stabil gehalten werden können.

2.2 Dysbalancen im RAAS

Da in der Klinik Fehlregulationen im RAAS nach klinischer Manifestation durch gezielte Suche, beziehungsweise als Zufallsbefund durch eine pathologisch veränderte Aldosteron-Konzentration auffällig werden, unterscheidet man die häufigsten Dysbalancen anhand des am Ende vorliegenden Aldosteronspiegels im Vergleich zur Norm (Hypo- beziehungsweise Hyperaldosteronismus), sowie anhand des Entstehungsortes (primär im Endorgan, oder sekundär in anderen, die Nebennieren beeinflussenden, Organsystemen) dieser Entgleisung.

2.2.1 Hyperaldosteronismus

Eine zu hohe Konzentration an Aldosteron im Blut zeigt laborchemisch einen Hyperaldosteronismus an, der seine Ursache entweder im Nebennierengewebe selbst (Primärer Hyperaldosteronismus = PHA) oder aber in anderen, die Produktion beziehungsweise den Abbau beeinflussenden, Organen hat (sekundärer Hyperaldosteronismus). Definitionsgemäß gehören die Formen des Hyperaldosteronismus, die zu einem Hypertonus führen, zur Gruppe der Mineralokortikoidhypertonien mit dem Hauptmerkmal der Natrium- und Wasserretention sowie verstärkter Kaliumausscheidung im Körper. Der Fokus dieser Arbeit liegt jedoch auf dem PHA, weshalb die anderen Entitäten nur kurz erläutert werden.

2.2.1.1 Primärer Hyperaldosteronismus (PHA): Definition, Epidemiologie und Klassifikation

Als einzige Entität der Mineralokortikoidhypertonien mit gesteigertem Aldosteronspiegel und supprimiertem Renin handelt es sich beim PHA laut Definition um eine ganz oder teilweise von den normalen Regulationsmechanismen des RAAS entkoppelte Ausschüttung dieses Steroidhormons. Mit einer Prävalenz von 5-13 % in der Gruppe der Hypertoniker westlicher Länder [1-3] ist der PHA die häufigste sekundäre Hypertonieform. Dies entspricht bei einer Hypertonie-Prävalenz von 25 % in der Gesamtbevölkerung und einer Prävalenz von bis zu 7 % in aktuelleren deutschen Studien [4] einer Anzahl von potentiell bis zu 1 Million Menschen in Deutschland, mit entsprechender Bedeutung für Medizin und Volkswirtschaft. Dies liegt weit über der lange Jahre angenommenen Prävalenz von circa 1 % unter Hypertonikern. Es deckt sich jedoch eher mit den bereits in den 60er Jahren vom Entdecker des PHA geschätzten, knapp zweistelligen Prävalenzzahlen für die nach ihm benannte Krankheit, dem Conn-Syndrom. Da jedoch eine heutzutage als wesentlich seltener erkannte Hypokaliämie [3, 5] damals als wegweisend für die Diagnose galt, wurden wahrscheinlich über Jahrzehnte viele Betroffene nicht erkannt und dementsprechend unzureichend oder falsch therapiert.

Ursachen des PHA sind in aufsteigender Reihenfolge ihrer Häufigkeit: ein Aldosteronproduzierendes Karzinom (ca. 1 % der PHA-Fälle), der familiäre Hyperaldosteronismus Typ I-III (1-5 %), die Makronoduläre Nebennierenrinden-Hyperplasie (MNH, 1-5 %), das Aldosteronproduzierende Adenom (APA, entspricht dem M. Conn 30 %) und schließlich in ca. 60 % der Fälle der idiopathische Hyperaldosteronismus (IHA) [6].

Tabelle 1: Klassifikation der Untergruppen des primären Hyperaldosteronismus (PHA). Die angegebenen Häufigkeiten beziehen sich auf das Gesamtkollektiv des PHA (normo- und hypokaliämisch).

• Aldosteron-produzierendes Adenom (APA = M. Conn) (ca. 30 %), unilateral
• Idiopathischer Hyperaldosteronismus (IHA) (ca. 60 %), bilateral
• Makronoduläre Nebennierenrinden-Hyperplasie (MNH) , (1-5 %), uni- oder bilateral
• Aldosteron-produzierendes Karzinom (adrenal oder ektop, zum Beispiel ovarial) (1 %)
• Familiärer Hyperaldosteronismus (FH) (1-5 %), Typ I (= GSH), II und III (3) GSH = Glukokortikoid-supprimierbarer Hyperaldosteronismus

2.2.1.2 Primärer Hyperaldosteronismus: Pathophysiologie, Klinisches Bild und Folgen

Die häufigsten klinischen Symptome sind Folge der Elektrolytverschiebungen. Die vermehrte Natriumretention führt zu schwer einstellbarem Hypertonus, Kopfschmerzen und Wasserretention sowie gelegentlich zu Ödemen. Der häufig erniedrigte Kaliumspiegel kann zu Parästhesien, Muskelschwäche, Verstopfung, Sehstörungen und Herzrhythmusstörungen führen. Auch Polyurie/Polydipsie, Tetanie und Müdigkeit können auftreten sowie eine metabolische Alkalose (durch die H⁺-Ausscheidung) [7].

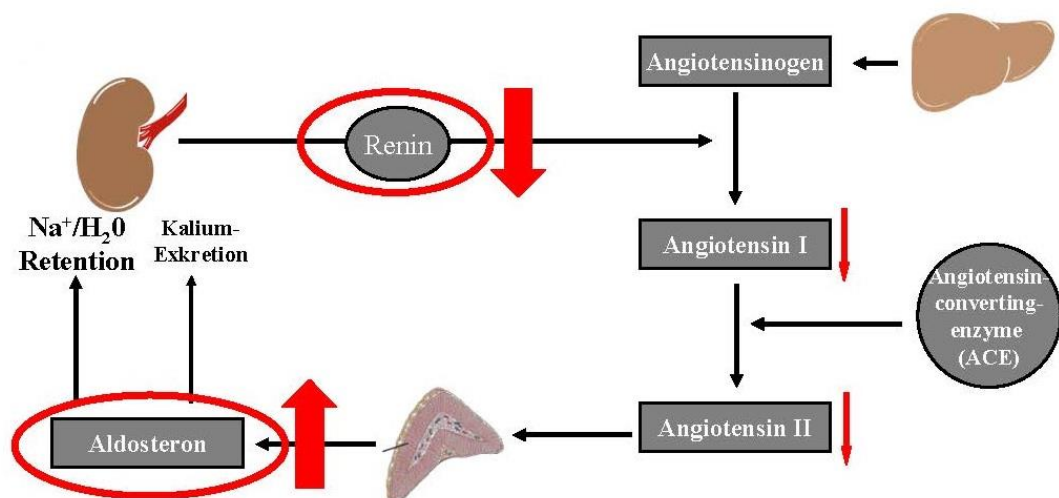


Abbildung 3: Dysregulation des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems bei primärem Hyperaldosteronismus

Fließschema ausgehend von Aldosteron, links oben die Niere, rechts oben die Leber, unten mittig die Nebennierenrinde schematisch (mit freundlicher Genehmigung von Sven Diederich)

Die mit einem pathologisch erhöhten Aldosteronspiegel einhergehende Hypertonie beim PHA ist der bedeutendste Risikofaktor für die Entwicklung einer zerebralen Ischämie und damit letztlich des Schlaganfalls, einer der häufigsten Todesursachen in den westlichen Industrienationen [8] und zunehmend auch in aufstrebenden Schwellenländern [9]. Aber auch andere bedeutende und lebensbedrohliche Erkrankungen [10] wie die Hypertensive Nephropathie (mit ihrer Endform der dialysepflichtigen Niereninsuffizienz [11]), sowie die Koronargefäßsklerosierung und deren Endstadium, dem Myokardinfarkt durch Gefäßverschluss, sind signifikant mit stark erhöhten Aldosteronspiegeln assoziiert [12]. Tritt ein Kaliummangel auf, können dadurch zusätzlich Muskelzellen zugrunde gehen, Nierenschäden forciert werden und das Risiko für Herzrhythmusstörungen erhöht werden [10]. Grundsätzlich haben Patienten mit einem PHA damit ein deutlich höheres kardiovaskuläres Risiko als andere hypertensive Patienten.

2.2.1.3 Sekundärer Hyperaldosteronismus

Der sekundäre Hyperaldosteronismus (SHyperA) ist eine Sammelbezeichnung für alle Zustände mit erhöhtem Aldosteronspiegel, deren Ursache jedoch außerhalb des Erfolgsorgans Nebennieren liegt. Beispiele für eine solche chronische Aktivierung des RAAS sind die Nierenarterienstenose und andere chronische Nierenerkrankungen, insbesondere die diabetische Nephropathie [13, 14] sowie die maligne Hypertonie und das seltenere Phäochromozytom. Herzinsuffizienz und Leberzirrhose [15] können über eine Hypovolämie [16] ebenfalls zur übermäßigen Aktivierung des RAAS führen. Reninproduzierende Tumoren sind beschrieben, aber Raritäten. Auch vorübergehende Zustände wie starker Durchfall oder übermäßiges Schwitzen können durch den Natriumverlust zu einem reaktiven, sekundären Hyperaldosteronismus führen. Klinische Symptome und langfristige Folgen entsprechen bei den hypertensiven Formen des SHyperA aufgrund des ebenfalls erhöhten Aldosteronsspiegels im Wesentlichen dem PHA (s. o.). Bei den hypo- oder normotensiven Formen des SHyperA (zum Beispiel bei Herzinsuffizienz, Leberzirrhose) sind erhöhte Aldosteron- und Angiotensin II-Spiegel aus den oben genannten Ursachen auch als prognostisch negative Faktoren gut definiert,

so dass hier entsprechend symptomatisch mit Mineralokortikoidrezeptor-Antagonisten therapiert wird.

2.2.2 Hypoaldosteronismus

Auf der anderen Seite des Messspektrums stehen Erkrankungen, die zu einem pathologisch niedrigen Aldosteronspiegel führen, wobei auch hier die Ursachen im Endorgan Nebenniere (Primärer Hypoaldosteronismus = PHypoA) oder in anderen, nebennierenfernen, Organsystemen (Sekundärer Hypoaldosteronismus = SHypoA) liegen können. Die klinischen Symptome sind Folge des verminderten Aldosteronspiegels, zum Beispiel die Hyponatriämie mit Übelkeit, Krampfanfällen und Wesensveränderungen wie Lethargie oder Desorientierung, zum anderen die Folgen der Hyperkaliämie mit Muskelschwäche, Lähmungserscheinungen, Krämpfen und kardialen Symptomen wie Herzrhythmusstörungen, während die begleitende metabolische Azidose unter Umständen zu Hyperventilation (als respiratorische Kompensation) führen kann.

2.2.2.1 Primärer Hypoaldosteronismus

Der primäre oder hyperreninämische Hypoaldosteronismus (charakterisiert durch Aldosteronmangel bei erhöhtem Renin-Spiegel) ist selten beim Erwachsenen [17]. Ursachen der gestörten Aldosteronsynthese in der Nebenniere können zum einen die primäre Nebenniereninsuffizienz sein, die auch andere, aldosteronunabhängige Folgen hat. Diese entsteht in ca. 80 % der Fälle durch Autoimmunprozesse (= Morbus Addison), seltener idiopathisch oder bei Tuberkulose. Aber auch seltene, angeborene Stoffwechselerkrankungen wie der 21-Hydroxylasemangel, der 11-beta-Hydroxylasemangel und der noch seltenere 18-Hydroxylasemangel gehören in diese Kategorie [18]. Sie führen zu einer Unterbrechung des physiologischen Synthesewegs und damit zu einer Anhäufung von Stoffwechselzwischenprodukten bei gleichzeitigem Mangel an Aldosteron.

2.2.2.2 Sekundärer Hypoaldosteronismus

Wesentlich häufiger sind die sekundären Formen (mit niedrigen Spiegeln von Renin und Aldosteron), die oft durch Diabetes Mellitus Typ 2 und seinen Folgen, zum Beispiel der diabetischen Nephropathie, verursacht werden [17]. Beta-Blocker und Clonidin können zu einem reversiblen „iatrogenen“ sekundären Hypoaldosteronismus führen. Ein übermäßiger Lakritzverzehr führt durch Hemmung der 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase zu einem mineralocorticoiden Effekt (Pseudohyperaldosteronismus) [19] und damit zu einem hyporeninämischen Hypoaldosteronismus. Aber auch Medikamente wie NSAR, manche Antibiotika und Zytostatika wie Cyclosporin, können durch ihre nephrotoxischen Nebenwirkungen mittel- bis langfristig zu einer gestörten Reninsynthese und damit in der Folge zum klinischen Bild des sekundären Hypoaldosteronismus führen [20].

Wie bereits eingangs erwähnt, findet sich nur beim PHA als einziger Mineralokortikoidhypertonie die Kombination aus supprimiertem Renin bei erhöhtem Aldosteron, während alle anderen Formen sich durch ein supprimiertes Renin bei erniedrigtem Aldosteron darstellen (kurze Auflistung siehe Tab. 2).

Tabelle 2: Formen der Mineralokortikoidhypertonien, links die Ursache beziehungsweise die Dysregulation mit Häufigkeit, rechts die Bezeichnung und, soweit relevant, Unterformen (angelehnt an Tab. 5.1 aus endokrine Hypertonie, S. Diederich)

<i>Mechanismus / Ursache</i>	<i>Form der Mineralokortikoidhypertonie</i>
Aldosteron als Mineralokortikoid (häufig)	Primärer Hyperaldosteronismus (PHA)
Cortisol als Mineralokortikoid (relativ häufig) Verminderte Aktivität der 11 β -Hydroxysteroid-Dehydrogenase	-Syndrom des apparenten Mineralokortikoid-Exzesses (SAME) -übermäßiger Lakritzverzehr, Carbenoxolon-Therapie -Cushing Syndrom
11-Desoxycortikosteron als Mineralokortikoid (selten)	-angeborene Enzymdefekte (17 α -Hydroxylase- oder 11 β -Hydroxylase-Mangel) -Glukokortikoid-Rezeptor-Resistenz (angeboren, erworben: Mifepriston) -DOC-produzierender Tumor
Konstitutive Aktivierung des Mineralokortikoid-Rezeptors (sehr selten)	-Geller-Syndrom (Aktivierung durch Progesteron in der Schwangerschaft)
Konstitutive Aktivierung des ENaC (selten)	-Liddle Syndrom

2.3 Diagnostische Methoden

Zum Erstscreening bei Verdacht auf Nebennierenerkrankungen beziehungsweise zur genaueren Differenzierung stehen verschiedene Laborparameter, klinische Tests und bildgebende Diagnostik zur Verfügung. Einige für diese Arbeit relevante, werden kurz erläutert, sowie eventuelle Vor- und Nachteile herausgestellt. Entscheidend ist hier die Beachtung einer angemessenen Stufendiagnostik unter Berücksichtigung des Kosten-Nutzen-Verhältnisses [21] und der Invasivität/Strahlenbelastung für den Patienten. Es empfiehlt sich eine dreistufige Vorgehensweise [6, 22].

- 1) Man beginnt mit hochsensitiven Screening-Tests,
- 2) bestätigt oder widerlegt durch hochspezifische Folgeuntersuchungen die Verdachtsdiagnose,
- 3) um schließlich mit trennscharfen, differenzialdiagnostischen Verfahren zwischen Unterformen unterscheiden zu können und eine angemessene Therapie einzuleiten [3, 7, 23].

Entscheidend ist, sich die Bedeutung dieses Stufendiagnostik-Konzepts vor Augen zu führen, denn jeder der beschriebenen Tests würde sich dramatisch in seiner Sensitivität und Spezifität verschlechtern, wenn man ihn an anderer Stelle des Algorithmus einsetzen würde [7]. Der Kochsalzbelastungstest gewinnt beispielsweise an diagnostischer Aussagekraft, wenn man ihn nur bei positivem Screening-Test durchführt. Im Screening hingegen ist eine pragmatische Vorauswahl notwendig, um einerseits wirtschaftlich zu arbeiten, andererseits jedoch keine Patienten zu übersehen

2.3.1 Screening-Test: Aldosteron-Renin-Ratio

Aufgrund der oben genannten Prävalenzzahlen und des in dieser Patientengruppe höheren Morbiditäts- und Mortalitätsrisikos [2, 10] ergibt sich - insbesondere aufgrund der beim APA theoretisch reversiblen Ursache - eine großzügige Indikation zum Erstscreening. Es sollten alle Hypertoniker unter 30 Jahren, Patienten mit schwerer Hypertonie (RR>150/100 mm Hg in mehreren Messungen) und solche mit schwer einstellbarem Hochdruck (RR>140/90 mm Hg unter Therapie mit > 3 Antihypertensiva beziehungsweise eingestellten Blutdruck unter 4 oder mehr Antihypertensiva einem Screening zugeführt werden. Natürlich gelten auch eine Hypokaliämie bei Hypertonie sowie ein Inzidentalom der Nebennieren in der Bildgebung als Screening-Indikation [24]. Ein Screening wird auch empfohlen bei Schlafapnoe und Hypertonus, einer Familienanamnese mit frühem kardiovaskulären/cerebrovaskulärer Komplikation (<40 Jahre) sowie bei allen erstgradigen Verwandten eines bekannten PHA-Patienten [6]. Als sensitives und vergleichsweise einfaches Verfahren, hat sich hier der Quotient aus Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC) geteilt durch die Plasma-Renin-Aktivität (PRA) oder zunehmend die Plasma-Renin-Konzentration (PRC) an ihrer Stelle bewährt [6]. Auch die Gaschromatographie zur Bestimmung von Aldosteron und Renin wird in Zukunft noch an Bedeutung gewinnen, ist aktuell jedoch klinisch noch weniger relevant [25, 26].

2.3.2 Bestätigungstests

2.3.2.1 Kochsalzbelastungstest (i. v. SLT)

Zeigt sich im Erstscreening ein erhöhter ARR, gilt es den PHA zu bestätigen. Ein kostengünstiges und ambulant durchführbares Verfahren zur Bestätigung des PHA ist der Kochsalzbelastungstest oder Volumenbelastungstest (i. v. SLT = intravenous saline loading test). Es werden hierbei unter Blutdruckkontrolle 2 Liter einer 0,9 %igen NaCl-Lösung über einen Zeitraum von 4 h infundiert. Idealerweise sollte dieser Test morgens durchgeführt werden [27]. Es werden direkt vor Beginn und sofort nach Ende der Infusion Blutentnahmen durchgeführt, bei denen PAC, PRC und Serum-Kortisol bestimmt werden. Innerhalb der letzten Stunde vor Blutabnahme sollte der Patient auch nicht mehr aufstehen. Gesunde zeigen nach Testende eine Suppression des PAC auf unter 50 pg/ml (bei Verwendung des gleichen PAC-Assays wie in dieser Arbeit), während diese Suppression bei Patienten mit PHA ausbleibt. Steigt das Serum-Cortisol im Abnahmezeitraum signifikant an, weist dies auf Stress während des Infusionszeitraumes hin und sollte berücksichtigt werden, da es zu fälschlich erhöhten Aldosteronwerten in der zweiten Blutprobe führen kann [6]. Während die Gefahr einer Hypokaliämie geringer ist als beim FST, kann bei Risikogruppen (Herzinsuffizienz, Z.n. Myokardinfarkt, schwere Niereninsuffizienz, nicht eingestellter, schwerer Hypertonus) eine akute Hypervolämie mit gravierenden Folgen auftreten, so dass hier der 24-h-Sammelurin (siehe 2.3.2.3) bevorzugt wird [28].

2.3.2.2 Fludrocortisonbelastungstest (FST)

Beim aufwendigeren Fludrocortisonetest erfolgt über 4 Tage hinweg die Gabe von NaCl, dem Mineralokortikoid Fludrocortison (4 x 0,1 mg pro Tag per os, Kontrolle von Natrium, Kalium und gegebenenfalls Ausgleich der Natriumausscheidung und des Serumkaliumwertes bis zu 4-mal täglich) und Kalium nach Bedarf, zur Prophylaxe einer Hypokaliämie. Nach Ende dieser Supplementierung erfolgt die Messung der Aldosteron-Konzentration, wobei diese, analog zum Kochsalzbelastungstest, anhand der Supprimierung ausgewertet wird [22, 23]. Der FST wird von manchen Autoren als zuverlässigster Bestätigungstest angesehen [29, 30], jedoch wird aufgrund der geringeren Kosten und ambulanten Durchführbarkeit der i. v. SLT häufiger durchgeführt.

2.3.2.3 24-h-Sammelurin auf Aldosteron und Aldosteronmetabolite

/ Oraler Kochsalzbelastungstest (p. o. SLT)

Bei Kontraindikationen für den intravenösen Kochsalzbelastungstest (Herzinsuffizienz, Z.n. Myokardinfarkt, schwere Niereninsuffizienz, nicht eingestellter, schwerer Hypertonus) kann alternativ an 3 Tagen 2 g NaCl zusätzlich zur normalen Diät verabreicht werden, mit dem Ziel eine tägliche Natriumzufuhr von ca. 260 mmol/d sicherzustellen. Es erfolgt anschließend die Sammlung von Aldosteron-Metaboliten (Aldosteron-18-Glucuronid) über 24 h im Sammelurinbehälter und die Auswertung vergleichbar zum oben genannten intravenösen Kochsalzbelastungstest. [31]. Grenzwerte im Urin sind eine Konzentration von mehr als >12 µg/24 h (>33,3 mmol/d) Aldosteron-18-Glucuronid [31]. Gleichzeitig sollte am Ende des Testzeitraums die Natrium-Konzentration im Urin >200 mmol/24 h sein, um eine ausreichende Kochsalzzufuhr während des Diagnosezeitraums zu bestätigen. Jedoch besteht bei diesem Test eine höhere Gefahr, auch Patienten mit PHA zu übersehen [32]. Insgesamt muss erwähnt werden, dass die genannten Cut-Off-Werte nur unzureichend validiert sind.

2.3.2.4 Captopril-Test

Eine weitere, jedoch weniger weit verbreitete Möglichkeit zur Bestätigung eines positiven PHA-Screenings, stellt der Post-Captopril ARR dar. Er soll eine einfache Methode sein, mittels oraler Applikation von Captopril die Aussagekraft der ARR stark zu erhöhen und gegebenenfalls einen Kochsalzbelastungstest überflüssig zu machen [33, 34]. Vorteile sind dabei das geringere Risiko bei Patienten mit Herzinsuffizienz und hypertensiven Entgleisungen im Vergleich zum SLT. Auch dieser Test ist jedoch weniger gut validiert als der i. v. SLT und FST und wird aktuell weniger empfohlen.

2.3.3 Klassifizierung des gesicherten PHA

Nach Durchlaufen der oben genannten Stufendiagnostik gilt es nun, den gesicherten PHA durch weiterführende Verfahren zu klassifizieren, um eine adäquate Therapie zu ermöglichen.

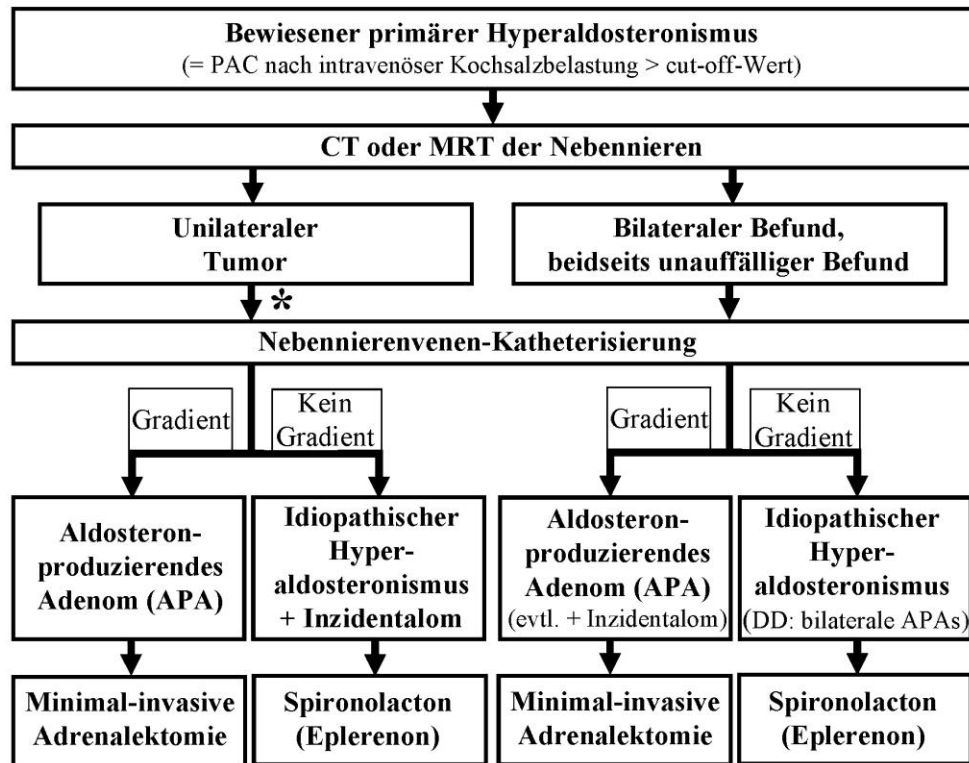


Abbildung 4: Fließschema zur Stufendiagnostik für die Klassifizierung des gesicherten primären Hyperaldosteronismus (mit freundlicher Genehmigung von Sven Diederich)

* = bei Patienten <40 a kann ggf. auf den Nebennierenkatheter verzichtet und direkt operiert werden, da die Wahrscheinlichkeit für ein simultanes Auftreten von Inzidentalom und PHA sehr unwahrscheinlich ist.

2.3.3.1 CT/MRT-Untersuchung

Hat sich im Screening und einem der Bestätigungstests ein positives Ergebnis ergeben, ist eine Bildgebung zur Unterscheidung der verschiedenen Hyperaldosteronismusformen sinnvoll, da sich auch die resultierende Therapie unterscheidet. An erster Stelle steht hier aufgrund geringerer Invasivität und breiter Verfügbarkeit die CT oder MRT Untersuchung [35, 36]. Hinweisend für ein APA kann sich dabei ein unilaterales Adenom bei normal erscheinender Nebenniere kontralateral zeigen. Diese sind im Vergleich zu malignen Raumforderungen meist weniger dicht (<10 HU), jedoch dichter als zum Beispiel Lipome (< -30 HU), haben im Durchschnitt eine geringere Größe (<4 cm) und zeigen ein stärkeres Auswaschen des Kontrastmittels (>40 %), sowie eine relativ homogene Struktur, selten mit Einblutungen oder Kalzifizierungen [24]. Jedoch wird in der Literatur von einer Sensitivität von nur 50-80 % für eine Entdeckung des APA ausgegangen, da die meisten von ihnen mit 0,5-2 cm Durchmesser relativ klein sind und leicht übersehen werden können. Daraus ergibt sich auch die Empfehlung zur Bildgebung in Dünnschichttechnik mit maximal 3 mm dicken Schnitten [6]. Da es mit steigendem Alter zunehmend auch hormoninaktive Adenome der Nebennieren gibt, sollte man die Operationsentscheidung nur auf der Grundlage der Bildgebung nur für Patienten < 40 Jahre treffen, da hier die Wahrscheinlichkeit für das simultane Auftreten von Inzidentalom und PHA extrem niedrig ist (siehe Abb. 4).

Aufgrund der allein unbefriedigenden Sensitivität und häufig Unmöglichkeit, zwischen uni- oder bilateralem PHA zu unterscheiden, ist die CT/MRT Untersuchung allein meist nicht ausreichend, um ein endgültiges Urteil zu fällen. So zeigte sich in einer vergleichenden Arbeit [37], dass bei

„Adenom-Entfernungen“ allein aufgrund der oben genannten Bildgebung in knapp 15 % hormoninaktive Inzidentalome entfernt, in 3,9 % der Fälle sogar auf der falschen Seite adrenaletomiert wurde, während in 19 % der Fälle ein hormonaktives (Mikro-)Adenom übersehen wurde [35]. Dies unterstreicht die derzeitige Bedeutung der Nebennierenvenen-Katheterisierung als Goldstandard. Wenngleich auch die Sensitivität der Bildgebung mit fortschreitender Weiterentwicklung der Geräte zunimmt, deutlich wird dies unter anderem an der zunehmenden Zahl, der bei CT/MRT Untersuchungen entdeckten Inzidentalome [24], wird diese nie eine vergleichbare Aussagekraft über die Funktionalität und damit 100 %ige Klassifizierungssicherheit bieten.

2.3.3.2 Orthostasetest

Auch durch den Aldosteron-Renin-Orthostasetest, oder kurz Orthostasetest, kann man gewisse Informationen zur Differentialdiagnose zwischen APA und IHA erhalten. Beim reninunabhängigen APA erwartet man nach mehrstündigem Verweilen in aufrechter Position eine gleichbleibende oder entsprechend der Tagesrhythmik abfallende Aldosteronproduktion. Der IHA ist meist reninabhängig, weshalb hier mit einem Anstieg der PAC zu rechnen ist [23]. Der Orthostaseversuch wird zunehmend seltener durchgeführt, da er nur bei Abfall des PAC und einseitiger Raumforderung eine einigermaßen relevante Aussagekraft hat. Zudem ist in den meisten Fällen eine stationäre Aufnahme der Patienten nötig, was Zeit- und Kostenaufwand erhöht.

2.3.3.3 Katheterisierung der Nebennierenvenen

Den Goldstandard mit den besten und eindeutigsten Ergebnissen, bei gleichzeitig hohem Untersuchungsaufwand und schwieriger Durchführbarkeit, stellt die bilaterale Katheterisierung der Nebennierenvenen dar (siehe Abb. 5).

Bevor man eine Nebennierenvenen-Katheterisierung in Betracht zieht, sollte man vom Patienten erfragen, ob er im Falle der Entdeckung eines APA einer Operation zustimmen würde. Ist dies nicht der Fall, ist das eine klare Kontraindikation für diesen relativ aufwendigen und nicht gänzlich risikofreien Eingriff, da das Ergebnis des Tests (APA oder IHA) dann keinen Einfluss auf die Therapie hat. In solchen Fällen ist direkt mit der Gabe eines Aldosteronrezeptorblockers zu beginnen. Hat man obiges geklärt, kann die Untersuchung in einem Zentrum mit hinreichender Expertise auf diesem Gebiet angemeldet werden, da die Rate an erfolgreichen Katheterisierungen, je nach Anzahl der pro Jahr durchgeführten Eingriffe bei 42-98 % liegt [38]. Es erfolgt nun unter Durchleuchtungskontrolle die Entnahme von 5-10 ml Blut aus beiden Nebennierenvenen (Venae Suprarenalis) und der Vena Cava Inferior (VCI). Insgesamt wird 4-mal Blut abgenommen, zu Beginn und am Ende in der VCI (um einen stressbedingten Cortisolanstieg erkennen zu können). Dazwischen wird versucht, Blut aus den Venae Suprarenalis zu gewinnen. Aus dem entnommenen Blut wird PAC und Kortisol bestimmt, letzteres um eine Lage des Katheters in der NNV sicherzustellen (Selektivitätsindex). Diese korrekte Lage des Katheters wird durch einen positiven Selektivitätsindex bewiesen (die Kortisolkonzentration an der Abnahmestelle muss doppelt so hoch sein wie in der VCI) [39]. In einigen Zentren steht zur schnellen Kortisolbestimmung ein sogenannter ROCA (Rapid Online Cortisol Assay) zur Verfügung, der bei Fehllage einen erneuten Katheterisierungsversuch ermöglicht und nachweislich die Lernkurve der örtlichen Radiologen verbessert [40]. Bei gesicherter Lage durch positiven Selektivitätsindex erfolgen nun die beidseitige Messung von PAC/Cortisol und der Vergleich derselben. Hat der Patient ein APA liegt der Quotient aus PAC/Cortisol typischerweise >4-mal höher als auf der nichtbetroffenen Seite (positiver Lateralisierungsindex). Findet sich keine deutliche Lateralisierung der NNV im Vergleich untereinander und peripher, geht man von einem IHA aus. International wird oft ein ACTH-Analogon vor der Untersuchung verabreicht, um die PAC-Produktion eines eventuell

vorhandenen APA zu stimulieren und die Cortisolausschüttung in der Zona fasciculata der NN zu stimulieren. Dies verbessert die Selektivität, erschwert aber die Auswertung des Lateralisierungsindex, weshalb in deutschen Zentren meist kein ACTH-Analogon verabreicht wird.

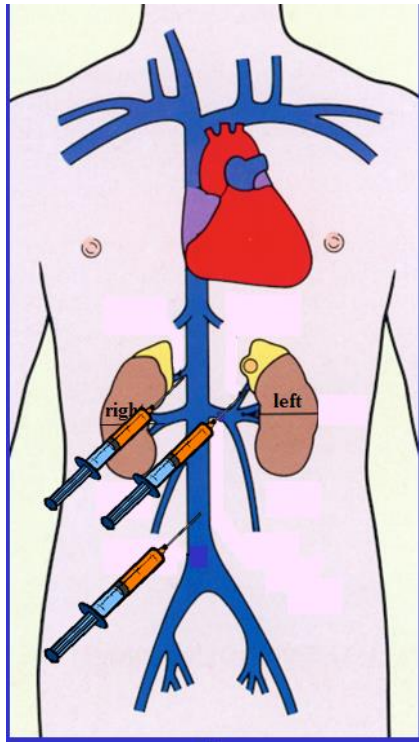


Abbildung 5: schematische Darstellung der selektiven Katheterisierung der Nebennierenvenen zur Differenzierung der Unterformen idiopathischer Hyperaldosteronismus (IHA) und Aldosteronproduzierendes Adenom (APA)

Spritzen verdeutlichen die Orte der Messungen mittels Katheter, dargestellt als oranger Punkt ein Adenom der linken Nebenniere

2.4 Therapiekonzepte

Abhängig von der jeweils vorliegenden Ursache der Stoffwechselstörung sind je nach Risikoprofil, zu erwartendem Ergebnis und Wunsch des Patienten unterschiedliche Therapieoptionen verfügbar und sinnvoll. In dieser Arbeit wollen wir schwerpunktmäßig auf den PHA eingehen, da er die verhältnismäßig größte Bedeutung hat und trotz seiner hohen Komorbidität und erhöhten Mortalität eine therapeutisch positiv beeinflussbare Erkrankung ist.

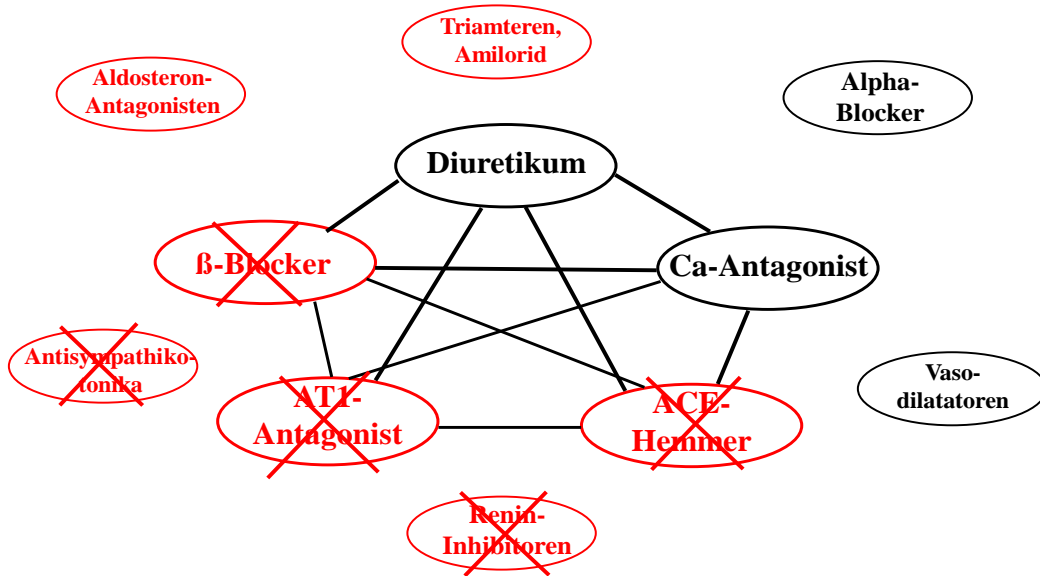
2.4.1 Operative Therapie des PHA

Beim Aldosteron-produzierenden-Adenom (APA) als gesicherter Ursache des primären Hyperaldosteronismus gilt nach wie vor die operative Entfernung des meist einseitigen Adenoms als Therapie der Wahl [37, 41-43]. Für die operative Entfernung dieser hormonproduzierenden Adenome liegt die Rate der hinterher normotensiven Patienten, je nach Studie, bei 35 % -72,4 % [27, 42, 44]. Diese Werte waren stark abhängig von der präoperativen Dauer der Hypertonie, Geschlecht, Alter und Kaliumspiegel im Blutplasma. So lag die Rate an geheilten Patienten bei jüngeren Frauen mit Hypokaliämie bei bis zu 94 % [45]. Allerdings konnte bei einem Großteil der Patienten die antihypertensive Therapie stark deeskaliert werden und bei fast allen zeigte sich eine Verbesserung der Blutdruckwerte [42, 43]. Außerdem kann in nahezu allen Fällen die oft bis dahin nötige Kaliumsubstitution eingestellt werden [42, 44, 46]. Zudem zeigte sich durch die OP eine Senkung des kardiovaskulären Risikos [22]. Einige Autoren zeigten jedoch auch einen leichten Abfall der GFR nach erfolgter Adrenalectomie, was gleichzeitig zu einem leichten Kreatinin-Anstieg führt [47], was jedoch als funktionelles Artefakt (bei bis dahin positiver Verfälschung der Nierenwerte durch Hypervolämie) zu werten ist.

2.4.2 Medikamentöse Therapie des PHA

Ist ein APA durch die unter 2.3 genannte Stufendiagnostik ausgeschlossen worden oder liegt eine definitive Ablehnung der operativen Therapie durch den bestätigten PHA-Patienten vor, ist das Mittel der Wahl die medikamentöse Therapie [6]. Aufgrund der pathophysiologisch verminderten Renin- und AT-II-Produktion, sind eine Reihe von Antihypertensiva, welche jene Prozesse blockieren sollen, beim PHA schlecht wirksam (siehe Abb. 6).

Primärer Hyperaldosteronismus: **Schwer einstellbare Hypertonie**



→ **Schlecht wirkende Antihypertensiva**

Abbildung 6: Gruppen von Antihypertensiva, dargestellt in rot, sind schlecht wirksame Antihypertensiva bei primärem Hyperaldosteronismus (mit freundlicher Genehmigung von Sven Diederich)

Vorzuziehen ist deshalb die Therapie mit Mineralokortikoidantagonisten (MRA) wie Spironolacton oder Eplerenon [6, 27, 41]. Beide verbessern die kardiovaskuläre Prognose der vorher überdurchschnittlich stark gefährdeten Patienten [44], wobei es kleinere Unterschiede im Wirkungs- und Nebenwirkungsprofil gibt. So hat Spironolacton bei einer Dosis von 12,5-400 mg/d mehr gastrointestinale Nebenwirkungen und es treten bei Männern häufiger antiandrogene (Gynäkomastie, Mastodynie) und progestagene Nebenwirkungen auf [48]. Im Vergleich dazu ist Eplerenon bei einer Tagesdosis von 50-200 mg zwar nebenwirkungsärmer, zeigt aber auch eine etwas geringere antihypertone Wirkung als Spironolacton [48]. Eplerenon sollte deshalb vorrangig bei Unverträglichkeiten oder Kontraindikationen gegenüber Spironolacton angewendet werden. In beiden Fällen kann es jedoch durch die Reduktion der glomerulären (Hyper-)Filtration zu einem leichten Kreatinin-Anstieg und einem geringen Abfall der GFR kommen [47]. Diese ist aber als Normalisierung nach Hyperfiltration zu werten. Generell verbessert die medikamentöse Therapie nach 6 Monaten die Lebensqualität und das kardiovaskuläre Outcome der Patienten signifikant [27, 44].

3. Fragestellung

3.1 Vergleichbarkeit der Renin-Messverfahren

Ein Ziel dieser Arbeit war es, drei verbreitete Renin-Messverfahren zur Nebennierendiagnostik, die bisher nicht in dieser Form verglichen wurden, gegenüberzustellen und ihre Korrelation beziehungsweise Zusammenhang und Vergleichbarkeit untereinander zu untersuchen. Dieses interessierte insbesondere in Bezug auf ihre Aussagekraft bei der Bildung der Aldosteron-Renin-Ratio (ARR), dem derzeit meistgenutzten Labortest-Quotienten zum Screening auf den primären Hyperaldosteronismus (PHA). Hierfür untersuchten wir die Korrelationen sowie Varianzaufklärungen und ermittelten Regressionsgleichungen. Da eine hohe Korrelation anhand der zuvor genannten Parameter nicht zwangsläufig eine gute Übereinstimmung garantiert, stellten wir die drei Assays mittels Bland-Altman-Plots gegenüber, um die Vergleichbarkeit über den Messbereich weitergehend zu überprüfen.

3.2 Überprüfen der Cut-Off-Werte der ARR zur Conn-Diagnostik

Die Aldosteron-Renin-Ratio ist der Goldstandard-Screeningtest für den PHA. In dieser Arbeit wollten wir die Validität der von uns untersuchten Assays und deren Cut-Off-Werte im klinischen Alltag überprüfen und mit den Ergebnissen anderer Arbeiten vergleichen.

3.3 Trennung der Patientengruppen analog zum McKenna-Paradigma

Weiterhin wollten wir untersuchen, ob eine befriedigende Trennung der fünf Patientengruppen, analog zum McKenna-Paradigma [3, 49], möglich und praktikabel ist. Diese Untergruppen sind gesunde Probanden (normal healthy volunteers = NHV), essentielle Hypertoniker (= EHT), Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus (primary hyperaldosteronism = PHA), sekundärem Hyperaldosteronismus (secondary hyperaldosteronism = SHyperA) und die Gruppen primärer Hypoaldosteronismus (= PHypoA) sowie sekundärer Hypoaldosteronismus (SHypoA).

3.4 Effekte antihypertensiver Medikation auf die Renin-Bestimmung

Es ist bekannt, dass Antihypertensiva und andere in diesem Kollektiv häufiger eingesetzte Medikamente, die Messergebnisse beeinflussen und möglicherweise verfälschen. Wir trennten die Medikamente anhand ihres Einflusses auf die Renin-Werte in 2 Gruppen (Renin-stimulierend und Renin-supprimierend) und verglichen dadurch indirekt die tendenzielle Empfindlichkeit der 3 Labortests gegenüber dem Einfluss dieser Medikamentengruppen und untereinander.

3.5 Korrelation der Aldosteron-Renin-Ratio zu anderen Vitalparametern

Derzeit werden Korrelationen zwischen Laborparametern des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und klinischen Werten wie dem Blutdruckverhalten untersucht. Wir wollten die Übertragbarkeit dieser Ergebnisse auf unsere Population testen und prüften die Korrelation verschiedener Parameter zur ARR.

4. Methoden

4.1 Ethikantrag

Für die hier erhobenen Daten wurde ein Antrag zur endokrinologischen Versorgungsforschung gestellt, der die retrospektive Auswertung von Patientendaten und epidemiologische Forschung mit personenbezogenen Daten einschließt. Dieser wurde vom Arbeitsausschuss Forschung II der Ethikkommission der Ärztekammer Berlin begutachtet und unter Auflage der Beachtung allgemein gültiger Standards (Deklaration von Helsinki, ICH-Guideline for Good Clinical Practice, berufsrechtliche Regelungen) ohne weitere Einschränkungen gewährt. Jeder der teilnehmenden Patienten hatte die Einverständniserklärung unterschrieben.

4.2 Studienkonzept

Bei unserer Studie handelt es sich um eine retrospektive Auswertung eines gemischten Patientenkollektivs, das im Zeitraum 2007-2008 die Sprechstunde des Endokrinologikum Berlin, einem MVZ mit Schwerpunkt Endokrinologie, besuchte. Für die Untergruppe NHV wurden zusätzlich Blutproben von Ärzten, medizinischen Fachangestellten und anderen Mitarbeitern des MVZ, welche in eine Teilnahme einwilligten gewonnen. Es wurden allen Probanden routinemäßig Blutproben abgenommen, um anschließend für den Hauptvergleichsparameter, das Hormon Renin, mit verschiedenen Messverfahren unterschiedlicher Hersteller eine vergleichende Analyse der Leistungsfähigkeit dieser Assays unter diversen Gesichtspunkten vornehmen zu können. Eine Reihe anderer klinischer und Laborparameter wurden ebenfalls erhoben, um weitere Aussagen zu Interaktionen, Studienpopulation und Einflussfaktoren auf unsere Messungen zu ermöglichen. Durch dieses Studienprotokoll hatten die Patienten keinerlei Mehrbelastung. War bei der routinemäßig erfolgten Blutabnahme nicht genug Rest-Blut für die Bestimmung der Renin-Werte mit den anderen Verfahren übrig, konnte der Patient für den direkten Vergleich nicht eingeschlossen werden.

4.3 Studienpopulation

4.3.1 Beschreibung der Studienpopulation

Zur vergleichenden Untersuchung der verschiedenen Screeningtests wurden im Zeitraum von 2007 bis 2008 174 Blutproben von Patienten, die die Sprechstunde des MVZ Endokrinologikum Berlin besuchten, abgenommen. Nach Ausschluss von Proben mit fehlenden Werten oder unvollständigen beziehungsweise uneindeutigen Daten, wurden aus diesem Pool 157 Proben (= primäres Patientenkollektiv) in die Datenauswertung einbezogen. Nikotinabusus und orale Kontrazeption stellten im Rahmen einer möglichst repräsentativen Secondary care center Studie kein Ausschlusskriterium dar.

Um die Aussagekraft dieser Arbeit zur Fragestellung 3.2 (Überprüfung der Cut-Off-Werte der ARR zur Conn-Diagnostik) zu erhöhen, nahmen wir retrospektiv die Datensätze weiterer 83 Patienten und Probanden (= sekundäres Patientenkollektiv) mit essentiellen Hypertonus oder klinisch gesichertem Hyperaldosteronismus in die statistische Auswertung auf. Für diese Patienten lagen Renin-Messwerte entweder mittels der (international weiterhin verbreiteten) PRA oder der (in Deutschland gebräuchlicheren) PRC2 Diasorin® vor.

4.3.2 Einteilung in Untergruppen

Wir teilten die Patienten anhand ihrer Laborparameter und klinischen Diagnose in 6 Gruppen ein, wobei das McKenna-Paradigma als Vorlage diente [49]. Namentlich waren dies normotensive Patienten und Probanden zum Beispiel Ärzte, MFA's und andere Mitarbeiter des MVZ (normal healthy volunteers = NHV), essentielle Hypertoniker (= EHT), Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus (Primary hyperaldosteronism = PHA), sekundärem

Hyperaldosteronismus (Secondary hyperaldosteronism = SHyperA) und die Gruppen primärer Hypoaldosteronismus (= PHypoA) sowie sekundärer Hypoaldosteronismus (= SHypoA). Die PHA-Patienten waren durch die in 2.3 aufgeführte Stufendiagnostik durch Kochsalzbelastungstest, Differentialdiagnostik sowie spezifische Therapie eindeutig klassifiziert. Eine weitere Gruppe von Patienten erklärten wir in Zusammenschau der Befunde (unter anderem Anzahl, Art und Dosis der eingenommenen Medikamente) als zu stark medikamentös überlagert (Medikam.) und ordneten sie deshalb keiner der zuvor genannten Gruppen zu. Die klinische Zuteilung in die Gruppen erfolgte unabhängig von zwei erfahrenen Endokrinologen (Prof. Dr. med. Sven Diederich und Prof. Dr. med. Henrik Biering)

4.4 Erläuterungen zu erhobenen Daten

Kaliumspiegel im Plasma

Kalium fördert die Aldosteron-Sekretion und Hypokaliämie ist mit falsch-negativen ARR assoziiert [3, 6]. Aus diesem Grunde wurden niedrige Kalium-Spiegel (sofern mittelfristig möglich) durch orale Substitution, in Form von langwirksamen Kalium-Chlorid-Tabletten, ausgeglichen.

Tageszeit

Die Blutentnahmen erfolgten überwiegend am frühen Vormittag, in sitzender Position (nach 5-15 min), da die Renin-Spiegel auch von der ACTH-Ausschüttung beeinflusst werden können [50]. Diese wiederum ist morgens am höchsten und kann durch einen Abfall am Nachmittag, über den niedrigeren Renin-Spiegel, zu fälschlich erhöhten ARR führen. Es wurde daher versucht eine vergleichbare Aktivierung des RAAS-Systems zur Abnahmezeit zu erreichen, die ca. 2 h nach dem Aufstehen, jedoch andererseits nach etwa 10-minütiger Sitzphase am ehesten gewährleistet ist. Die gewonnenen Blutproben wurden nach sachgemäßer Abnahme (Begrenzung der Stauungszeit, atraumatisches Abnahmebesteck und Desinfektion der Einstichstelle etc.) nach weniger als 30 min zentrifugiert. Die zentrifugierten Proben wurden am selben Tag, in gekühltem (PRC) beziehungsweise tiefgefrorenen (PRA) Zustand, durch einen Kurier dem Zentrallabor der Endokrinologikum-Gruppe in Hamburg zur Analyse zugeführt.

Salzaufnahme

Da die Restriktion der Kochsalzaufnahme zu einer Stimulation der Renin-Aktivität und damit zu einer Senkung der Aldosteron-Renin-Ratio führen kann [2, 51], wurde die Salzaufnahme diätetisch nicht beschränkt (die Patienten sollten sich ihrem normalen Essmuster gemäß ernähren), um eine möglichst hohe Sensitivität und Reproduzierbarkeit des Quotienten beim Screening zu gewährleisten [52].

4.5 Medikamenteneinnahme vor dem Screening

Soweit möglich, wurde die Blutdruckmedikation der Probanden gemäß aktueller Empfehlungen angepasst und potentiell messwertverfälschende Substanzen (siehe Tab. 3) pausiert oder umgestellt [6]. Die Guidelines empfehlen derzeit eine Pause von 4 Wochen für Spironolacton und Eplerenon, da diese zu erniedrigten ARR führen. Diuretika, ACE-Hemmer, Sartane und Renin-Inhibitoren sollen eine Woche vor Messung abgesetzt werden. Beta-Blocker und Clonidin sollten, soweit möglich, 1 Woche vor Bestimmung des ARR pausiert werden, da sie zu fälschlich erhöhten ARR führen können [6]. Als unbedenkliche Medikamente im Diagnostikzeitraum bieten sich Ca-Antagonisten vom Verapamil-Typ und Alphablocker wie Doxazosin an [53].

Tabelle 3: Effekte von Antihypertensiva auf die Messwerte von Aldosteron und Renin

Anzahl der Pfeile zeigt semiquantitativ die Stärke des Effektes, Pfeilrichtung zeigt den qualitativen Effekt (↑ steigend, ↓ senkend, ↔ kein relevanter Effekt)

Erhöhung des Aldosteron/Renin-Quotienten : falsch positive Ergebnisse			
Medikamentengruppe	Effekt auf Aldosteron	Effekt auf Renin	Empfohlene Pause
β-Blocker (zum Beispiel Metoprolol)	↓	↓↓	1 Woche
Imidazolinrezeptor-Agonisten (zum Beispiel Clonidin)	↓	↓↓	1 Woche
Erniedrigung des Aldosteron/Renin-Quotienten (falsch negative Ergebnisse)			
Medikamentengruppe	Effekt auf Aldosteron	Effekt auf Renin	Empfohlene Pause
Thiazid-Diuretika (zum Beispiel HCT)	↑	↑↑	1 Woche
Schleifendiuretika (zum Beispiel Furosemid)	↔↑	↑↑	1 Woche
ACE-Hemmer (zum Beispiel Ramipril)	↓	↑↑	1 Woche
Angiotensin-Antagonisten (Sartane)	↓	↑↑	1 Woche
Renin-Inhibitor (Aliskiren)	↓	↑↑*	1 Woche
Mineralocorticoid-Antagonisten (Spironolacton, Eplerenon, Amilorid etc.)	↑	↑↑	4 Wochen
Calcium-Antagonisten (Dihydropiridine)	↔	↑	1 Woche
Verapamil	↔	↔	-----
α-Antagonisten (zum Beispiel Doxazosin)	↔	↔	-----
Dihydralazin	↔	↔	-----

Mit freundlicher Genehmigung von S. Diederich; *Gilt für PRC. Da der Renin-Inhibitor aufgrund des Wirkmechanismus die PRA vermindert, ist bei Messung der PRA ein falsch hoher Aldosteron-Renin-Ratio zu erwarten.

In der letzten Spalte ist aufgeführt, wie lange die entsprechenden Medikamente vor Durchführung des Screening-Tests pausiert werden sollten. Falls Umsetzen/Pausieren nicht möglich ist, sind Dihydropiridine (zum Beispiel Amlodipin) relativ günstige Medikamente zum Fortführen, da hier der Effekt auf die ermittelten Parameter geringer ist.

Kommentar zur Umsetzbarkeit:

Im ambulanten Secondary-care Setting unserer Untersuchungen stellte es sich praktisch als schwierig dar, die Medikation mancher Patienten vollständig leitliniengerecht umzustellen. Gründe dafür sind zum einen, dass Patienten häufig nur quartalsmäßig (oder seltener) ins MVZ kommen und für eine sichere Umstellung dieser, häufig schwer einstellbaren Hypertoniker, mehrere Arztbesuche vor der eigentlichen Messung nötig wären. Dies ist organisatorisch sowie Budget-technisch schwierig und wird durch den hohen Zeitaufwand von vielen Patienten nicht toleriert. Auch die in der Literatur beschriebenen Risiken einer solchen, teils radikalen Umstellung, spielten bei Risikopatienten eine Rolle [28]. Soweit praktikabel und vertretbar, wurden die Antihypertensiva gemäß den oben genannten Empfehlungen pausiert oder umgestellt.

4.6 Verwendete Labortests

Im Folgenden werden verschiedene Messverfahren (= Assays) vorgestellt, mit denen die Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC, die Plasma-Renin-Aktivität PRA und die Plasma-Renin-Konzentrationen PRC im Vergleich gemessen wurden. Es wurden für alle Assays jeweils dieselben Blutproben eines Probanden verwendet, die am gleichen Tag und unter weitgehend

identischen Bedingungen gewonnen wurden. Genauere Angaben zu den Messvoraussetzungen sind im Methodenteil unter 4.4 beschrieben.

4.6.1 Plasma-Aldosteron-Bestimmung: DPC Coat-A-Count® Aldosterone

Beim Coat-A-Count® Aldosteron (Diagnostic Products Corporation, Los Angeles, Kalifornien, USA) handelt es sich um einen einseitigen Radioimmunoassay. Prinzipiell werden bei diesem Verfahren durch Immunisierung von Tieren Antikörper gegen die nachzuweisende Substanz, das Antigen (in unserem Fall Aldosteron), gewonnen. Die Plasmaprobe wird gemeinsam mit einer definierten Menge radioaktiv markierten ¹²⁵I-Aldosterons in ein Röhrchen pipettiert. Dieses Polypropylen-Röhrchen ist mit o. g. Aldosteron-Antikörpern beschichtet und die beiden Aldosteron-Proben (Plasmaprobe und radioaktiv markierte Kontrolle) kompetieren um Bindungsplätze der wandständigen Antikörper, da dieser im Unterschuss vorliegt. Nach 18-stündiger Inkubation bei 15-28° C (Zimmertemperatur) werden die pipettierten Substanzen abgegossen und im Gamma-Zähler wird anhand der radioaktiven Zerfälle in einer Minute das Verhältnis von Plasma-Probe zu markierter Kontrollsubstanz ermittelt. Je mehr Radioaktivität gemessen wird, umso höher ist der Anteil an ¹²⁵I-markiertem Aldosteron und umso niedriger die Aldosteron-Konzentration der Plasmaprobe und vice versa. Für jeden Lauf muss anhand der Messung eine Eichkurve erstellt werden mithilfe von:

- Eichsubstanz in 6 verschiedenen Konzentrationen
- Nullstandards
- Gesamtradioaktivität des markierten Aldosterons
- unspezifischer Bindung des markierten Aldosterons an unbeschichteten Röhrchen.

Die nachfolgenden Angaben sind Leistungsdaten laut Herstellerangabe in pg/ml:

Normwerte und Umrechnungsfaktoren:

pg/ml x 2,775 → pmol/l

pg/ml ÷ 10 → ng/dl

Bei gesunden Probanden mit normaler Natriumaufnahme geht man von Aldosteronwerten von 40-310 pg/ml, entsprechend 111 bis 861 pmol/ml im Stehen und 10-160 pg/ml, entsprechend 28 bis 444 pmol/l im Liegen aus.

Präzision: Für sechs verschiedene Konzentrationen wurde die Intraassay-Varianz jeweils mittels Messung von zwanzig Proben in einem Lauf bestimmt. Für 65, 174, 243, 448, 575 und 813 pg/ml werden Variationskoeffizienten von 5,4 %, 3,2 %, 3,4 %, 2,6 %, 2,9 % und 2,3 % angegeben

Die Interassay-Variationskoeffizienten (entspricht der Reproduzierbarkeit) betragen für 58, 59, 162, 226, 447 und 548 pg/ml jeweils 15,7 %, 13,1 %, 6,5 %, 6,8 %, 4,3 %, 3,8 % respektive.

Linearität: Bei vier verschiedenen Verdünnungsreihen mit je vier Verdünnungen fanden sich die gemessenen Werte zwischen 100 % und 116 % des Erwartungswertes.

Wiederauffindung: Zur Ermittlung der Wiederauffindungswerte vermischter Proben wurden 5 Plasmaproben jeweils mit Aldosteronlösungen drei verschiedener Konzentrationen versetzt. Hier fanden sich die gemessenen Werte im Bereich von 86 % bis 111 % der Erwartungswerte.

Spezifität: Die Kreuzreaktivitäten des Antiserums in % wurden auf Basis der Konzentrationen bei ca. 50 % Bindung ermittelt und waren für Spironolacton mit 0,06 % am höchsten.

Analytische Sensitivität: Die Nachweisgrenze definiert sich als derjenige Wert, der zwei Standardabweichungen unterhalb des Messwertes bei Maximalbindung des Markers liegt und wird mit 11 pg/ml beziehungsweise 30,5 pmol/l angegeben.

Der DPC Coat-A-Count® Aldosterone Assay wird im Folgenden als „PAC“ bezeichnet.

4.6.2 Plasma-Renin-Konzentration: Cisbio® Renin III. Generation

Der Cisbio® Renin III. Generation ist ein zweiseitiger radioimmunometrischer Assay (Sandwich RIA) zur Bestimmung des aktiven Renin in EDTA-Plasma. Er enthält zwei monoklonale Antikörper, wobei der erste sowohl die aktive als auch die inaktive (Prorenin) Form von Renin erkennt und bereits am Boden der Röhrchen des Test-Kits fixiert ist, in den die Proben pipettiert werden. Der anschließend zugegebene zweite Antikörper bindet selektiv nur aktives Renin und ist mit radioaktivem Jod-125 markiert. Nach dreistündiger Inkubation bei Raumtemperatur (18-25° C) werden die ungebundenen Antikörper ausgewaschen. Anschließend wird in einem Gamma-Counter 2 Minuten lang die Anzahl radioaktiver Zerfälle erfasst, die einen Rückschluss auf die Menge an Jod-125 im Teströhrchen und damit auf die Konzentration des über Antikörper daran gekoppelten, aktiven Renins ermöglichen.

Normwertbereich: Der Assay wurde gegenüber dem WHO Referenzpräparat 68/356 kalibriert und bei gesunden Personen erwartet man folgende Normbereiche laut Herstellerangaben (5.-95. Perzentil)

Stehende oder sitzende Position:

Alter 20-40 Jahre = 5,1 - 38,7 pg/ml

Alter 40-60 Jahre = 1,8 - 59,4 pg/ml

Liegende Position:

Alter 20-40 Jahre = 3,6 - 20,1 pg/ml

Alter 40-60 Jahre = 1,1 - 20,2 pg/ml

Präzision: Die Wiederholungs-Präzision (Intra-Assay-Präzision) wurde in Messreihen von sieben Plasmaproben, die jeweils zwanzig Mal im gleichen Assay gemessen wurden, bestimmt. Für Konzentrationen von im Mittel 3,85; 13,8; 31,1; 65,4; 145; 224 und 262 pg/ml lag der Variationskoeffizient bei jeweils 3,6; 2,5; 1,4; 1,5; 1,8; 1,0 und 0,9 %

Die Vergleichspräzision (Inter-Assay-Präzision) wurde durch sechs Proben die in verschiedenen Laboratorien und verschiedenen Reagenzien-Kits jeweils mindestens 137 mal gemessen wurden bestimmt. Für mittlere Konzentrationen von 4; 14; 32; 72; 146 und 263 pg/ml ergaben sich dabei Variationskoeffizienten von 5,0; 4,3; 3,7; 3,6; 3,7 und 4,0 % respektive.

Richtigkeit: Die Wiederfindungswerte wurden durch Serumproben dreier unterschiedlicher Renin-Konzentrationen, denen steigende Reninmengen zugegeben wurden ermittelt und lagen bei 99-102 % der erwarteten Konzentrationen.

Analytische und funktionale Sensitivität: Als Detektionsgrenze (= analytische Sensitivität) bezeichnet man die niedrigstmögliche Konzentration, bei der eine sichere Unterscheidung vom Nullsignal noch möglich ist (gemessener Mittelwert des Nullstandards plus 2-fache Standardabweichung). Sie wird mit 1 pg/ml angegeben.

Die funktionale Sensitivität des Assays, die als niedrigstmögliche Konzentration definiert ist, bei der der Variationskoeffizient kleiner 20 % ist, wird mit 5 pg/ml angegeben.

Analytische Spezifität: Die Analytische Spezifität eines Messverfahrens gibt die Sicherheit an, mit der dieser zwischen dem gewünschten Analyten und strukturell oder funktionell ähnlichen Stoffen unterscheiden kann, also durch diese nicht in seiner Messgenauigkeit beeinträchtigt wird. In Testreihen zeigte sich, dass bei künstlicher Verunreinigung mit Lasilix 50 µg/ml, Kathepsin D

0,5 U/ml, Kaptopril 50 µg/ml, Renitec 50 µg/ml und Loxen 50 µg/ml keine Interferenzen auftreten. Mit Hämoglobin 3 µg/ml zeigte sich eine Veränderung von 16 % gegenüber dem Messwert der reinen Probe und für Kathepsin B 0,1 U/ml sogar Messwertveränderungen von bis zu 84 %, deshalb sollte dieser Assay bei Hämolyse oder Therapie mit Kathepsin B nicht verwendet werden.

Die Kreuzreaktivität mit Pro-Renin wurde in einer gesonderten Studie ermittelt und wird mit unter 0,4 % beziffert.

Linearität: Bei drei Messreihen, in denen Lösungen mit verschiedenen Renin-Konzentrationen nativ und in seriellen Verdünnungsreihen von 1:2 bis 1:32 gemessen wurden, lagen die Messwerte bei 91-106 % der erwarteten Konzentrationen.

Der Cisbio® Renin III. Generation wird im Folgenden als „PRC1 Cisbio®“ bezeichnet.

4.6.3 Plasma-Renin-Konzentration: Diasorin® Liaison Direct Renin

Liaison Direct Renin ist ein zweiseitiger Chemilumineszenzimmunoassay (Sandwich-CLIA) zum Nachweis von aktivem Renin in EDTA-Plasma, bei dem zwei verschiedene monoklonale Antikörper zum Einsatz kommen. Der erste reagiert nach unselektiver Bindung an Renin und Prorenin mit der Festphase des Assays (Küvettenwand) über Bindung zwischen Magnetpartikeln der Antikörper und der Küvettenwand. Der zweite Antikörper bindet spezifisch nur an Renin und ist seinerseits an ein Isoluminolderivat gekoppelt. Nach halbstündiger Inkubation werden die ungebundenen Antikörper ausgewaschen. Das Isoluminolderivat wird anschließend durch Wasserstoffperoxid oxidiert. Dabei entsteht neben Stickstoff ein Phthalat, welches als instabiles Intermediat im angeregten Triplett-Zustand vorliegt. Durch den spontanen Übergang aus dem instabilen Triplett-Zustand in den Singulett-Grundzustand wird ein Photon im blauen Bereich des Lichtspektrums emittiert, was mit einem Luminometer quantifiziert und in relativen Lichteinheiten ausgegeben werden kann. Diese Lumineszenz ermöglicht den Rückschluss auf die Luminolkonzentration und durch die oben beschriebene Bindung an die Antigen-Antikörper-Komplexe die Berechnung der aktiven Renin-Konzentration.

Normwertbereich, Umrechnungsfaktoren nach Herstellerangaben:

Der Assay wurde gegenüber dem WHO-Referenzpräparat 68/356 kalibriert und bei gesunden Personen erwartet man folgende Normbereiche (5.-95. Perzentil).

Stehende oder sitzende Position: 4,4-46,1 µIU/ml entsprechend 2,75-28,8 pg/ml

Liegende Position: 2,9-39,9 µIU/ml entsprechend 1,7-24 pg/ml

Präzision: Die Wiederholungs-Präzision (Intra-Assay-Präzision) wurde durch Untersuchung von zwanzig Replikaten in demselben Analysezyklus in Konzentrationen von 15,1; 33,8; 82,2 und 258,0 µIU/ml (9,06; 20,28; 49,32; 154,8 pg/ml) gemessen. Die Variationskoeffizienten betragen jeweils 3,7; 2,8; 2,0 und 1,2 %. Mit steigender Konzentration sinkt also der Variationskoeffizient.

Die Vergleichspräzision (Inter-Assay-Präzision) wurde durch Auswertung von zwanzig Replikaten in verschiedenen Tagen und Anwendung zweier Chargen je Labor bestimmt. Dabei ergaben sich für mittlere Konzentrationen von 5,1; 13,2; 34,1; 82,4 und 260,3 µIU/ml (3,08; 7,92; 20,48; 49,44; 156,18 pg/ml) in der ersten Charge Variationskoeffizienten von 2,7; 0,6; 1,2; 0,9 und 1,7 % im Vergleich zur zweiten Charge (Inter-Chargen Variationskoeffizient). Hier zeigt sich kein Muster zwischen Konzentration und Variationskoeffizient. Anschließend wurden die gleichen Messreihen mit denselben Geräten noch einmal in unabhängigen Labors durchgeführt, wobei sich für mittlere Konzentrationen von 18,8; 38,4; 79,1 und 228,6 µIU/ml (11,28; 23,04; 47,46; 137,16 pg/ml) jeweils Inter-Chargen-Variationskoeffizienten von 12,2; 7,0; 5,4 und 9,3 % im Vergleich zur zweiten Charge ergaben.

Richtigkeit: Die Wiederfindungswerte für verdünnte Proben rangierten bei Verdünnungen im Verhältnis von 1:5; 1:2; 1:1; 2:1 und 5:1 in jeweils zwei Gruppen bei 95-110,1 % der erwarteten Konzentrationen.

Analytische und funktionale Sensitivität: Als Detektionsgrenze (= analytische Sensitivität) bezeichnet man die niedrigstmögliche Konzentration, bei der eine sichere Unterscheidung vom Nullsignal noch möglich ist (gemessener Mittelwert des Nullstandards plus 2-fache Standardabweichung). Sie wird mit 0,13-0,53 $\mu\text{IU/ml}$ (0,078-0,318 pg/ml) angegeben. Die funktionale Sensitivität des Assays, die als niedrigstmögliche Konzentration definiert ist, bei der der Variationskoeffizient kleiner 20 % ist, wird mit 1,60-1,96 $\mu\text{IU/ml}$ (0,96-1,176 pg/ml) angegeben.

Analytische Spezifität: Die Analytische Spezifität eines Messverfahrens gibt die Sicherheit an, mit der dieser zwischen dem gewünschten Analyten und strukturell oder funktionell ähnlichen Stoffen unterscheiden kann, also durch diese nicht in seiner Messgenauigkeit beeinträchtigt wird. In Testreihen zeigte sich, dass bei Bilirubin-Konzentrationen bis 20 mg/dl , Triglyceriden bis 3000 mg/dl und Hämoglobin bis 500 mg/dl (als Marker für Bilirubinämie, Lipämie und Hämolyse) keine Interferenzen mit dem Testergebnis auftraten.

Die Kreuzreaktivität bei Zugabe von Beta2-Mikroglobulin 50 $\mu\text{g/ml}$, Cathepsin D 1,5 $\mu\text{g/ml}$, Trypsin 1,6 $\mu\text{g/ml}$ und Plasmin 100 $\mu\text{g/ml}$ betrug jeweils -7; -6,9; 4,2 und 0,8 % und liegen somit unter der kritischen Grenze von 10 % Kreuzreaktivität. Bei Messung gleich konzentrierter Lösungen von Prorenin und Renin betrug das Mittelverhältnis zwischen den emittierten Signalen von Prorenin/Renin 0,26.

Linearität: Bei zwei Messreihen, in denen Lösungen mit sehr hoher Renin-Konzentration nativ und in seriellen Verdünnungsreihen von 1:2 bis 1:32 gemessen wurden, lagen die Messwerte bei 100,9-118,6 % der erwarteten Konzentrationen.

Der Liaison Direct Renin Screeningtest wird im Folgenden als „PRC2 Diasorin®“ bezeichnet.

4.6.4 Plasma-Renin-Aktivität: Diasorin® Angiotensin I RIA:

Der Diasorin® Angiotensin I RIA ist ein kompetitiver, radioimmunometrischer Assay zur Berechnung der Renin-Aktivität einer Probe, die über die Bestimmung der in einer bestimmten Zeit, durch das Renin gebildeten Menge an Angiotensin I definiert ist. Zuerst wird unter optimalen Bedingungen (37°C, PH 6, Reaktionspuffer, Vorhandensein von Phenyl-Methyl-Sulfonyl-Flourid-Enzymhemmer für die Angiotensin-I-Erzeugung aus Angiotensinogen) die EDTA-Plasmaprobe im Wasserbad inkubiert, wobei die Inkubationszeit im Regelfall 1,5 h beträgt. Als Probenleerwert wird eine zweite, identisch verdünnte und mit den oben genannten Puffern und PMSF-Enzymhemmer versetzte Probe sofort in ein Eisbad gestellt, um die Angiotensin I-Erzeugung zu verhindern. Dann werden die Proben und Leerwerte sowie sechs im Test-Kit enthaltene Kalibratoren mit bekannter Angiotensin I Konzentration unter o. g. Bedingungen ca. 1,5 h inkubiert. Der anschließend durchgeführte Radioimmunoassay der inkubierten und nicht-inkubierten Probe basiert auf der Konkurrenz zwischen mit Jod-125 radioaktiv markierten Angiotensin I und dem unmarkierten, in der Probe erzeugten Angiotensin I, um die im Überschuss vorliegenden Bindungsplätze an der mit biotinyliertem IgG (Kaninchen) gegen Angiotensin I beschichteten Röhrchenwand (Coated Tubes). Die mit dem Gamma-Counter gemessenen radioaktiven Zerfälle des Jod-125 in den Proben, werden mit denen in den Kalibratoren und dem Leerwert ins Verhältnis gesetzt, um die Konzentration an

markiertem Angiotensin I zu berechnen. Diese ist durch die Kompetition umgekehrt proportional zur Menge des unmarkierten, in der Probe erzeugten Angiotensin I und ermöglicht die Ermittlung der Plasma-Renin-Aktivität als ng freigesetztes Angiotensin I pro ml pro h.

Normwertbereich laut Herstellerangaben:

Stehende oder sitzende Position: 1,5-5,7 ng/ml/h

Liegende Position: 0,2-2,8 ng/ml/h

Präzision: Die Wiederholungs-Präzision (Intra-Assay-Präzision) wurde in Messreihen von drei Probenpools, in denen je 10 PRA-Bestimmungen durchgeführt wurden, errechnet. Für Mittelwerte von 2,3; 8,8 und 13,5 ng/ml/h wurden Variationskoeffizienten von 7,5; 5,4 und 9,9 % angegeben.

Die Vergleichspräzision (Inter-Assay-Präzision) wurde wiederum durch zehnmahlige PRA-Messung in Probenpools dreier unterschiedlicher PRA-Werte bestimmt und ergab für Mittelwerte von 2,6; 8,6 und 13,0 ng/ml/h jeweils Variationskoeffizienten von 7,7; 8,1 und 11,5 %

Richtigkeit: Die Wiederfindungswerte wurden durch zwei Plasmaproben niedriger Angiotensin I-Konzentration, die erst nativ und dann nach Zugabe bekannter Mengen Angiotensin I gemessen wurden, bestimmt. Für 11,2 und 15,6 ng/ml AT-I wurden nach Zugabe von je 1,5; 5,0 und 25,0 ng/ml konzentrierter AT-I-Lösungen Werte zwischen 93,6 und 100,9 % der erwarteten Konzentrationen angegeben.

Analytische und funktionale Sensitivität: Als Detektionsgrenze (= analytische Sensitivität) bezeichnet man die niedrigstmögliche Konzentration, bei der eine sichere Unterscheidung vom Nullsignal noch möglich ist (gemessener Mittelwert des Nullstandards + 2-fache Standardabweichung). Sie wird mit 0,20 ng/ml angegeben.

Die funktionale Sensitivität des Assays wird in der Beschreibung des Herstellers nicht angegeben.

Analytische Spezifität: Die Analytische Spezifität eines Messverfahrens gibt die Sicherheit an, mit der dieser zwischen dem gewünschten Analyten und strukturell oder funktionell ähnlichen Stoffen unterscheiden kann, also durch diese nicht in seiner Messgenauigkeit beeinträchtigt wird. Da im Angiotensin I RIA die zu untersuchende Substanz in-vitro freigesetzt wird und davon der Leerwert subtrahiert wird, sind die Spezifitäten des Antikörpers weniger wichtig. Stärker störend auf das Ergebnis als Kreuzreaktivitäten kann der Probenleerwert einwirken, er ist nämlich die Summe der Teilwerte angiotensinähnlicher Proteine, sowie in der Zeit von Gewinnung bis zum Test bereits erzeugten Angiotensin I.

Bei Konzentrationen von Triglyceriden bis 500 mg/dl, Bilirubin bis 20 mg/dl und Hämoglobin unter 1000 mg/dl (bei Hämolyse nur Messwert um 10 % hochrechnen) treten keine testleistungsmindernden Interferenzen auf. Kreuzreaktivitäten der Antikörper mit Angiotensin II und Hepta/Hexapeptiden sind mit unter 0,1 % vernachlässigbar.

Linearität: Bei zwei Messreihen, in denen Lösungen mit hohen Angiotensin-I-Konzentrationen nativ und in seriellen Verdünnungsreihen von 1:2 bis 1:16 gemessen wurden, lagen die erhaltenen Werte bei 94,1-105,1 % der erwarteten Konzentrationen.

Der Diasorin® Angiotensin I RIA wird im Folgenden als „PRA“ bezeichnet.

4.7 Statistische Methoden

Bei der Erstellung dieser Dissertation wurden Microsoft Office Word 2010 und Microsoft Excel 2010 zur Datensammlung verwendet. Die Auswertung der Daten erfolgte größtenteils mit dem Statistikprogramm SPSS 17 sowie PASW. Die Literaturangaben und Quellenangaben wurden nach Lektüre der genannten Bücher beziehungsweise Online-Recherche mit Reference Manager

12 und EndNote X7 unter anderem aus PubMed importiert und verwaltet. Das Literaturverzeichnis ist anhand des Vancouver-Systems (mit Auflistung aller Autoren) gegliedert. Zur Validierung der Stichprobengröße verwendeten wir G-Power beziehungsweise MedCalc. Bei einer Gruppengröße deutlich über 30 Probanden können gemäß des zentralen Grenzwertsatzes parametrische Tests durchgeführt werden, so dass wir auf eine Analyse der Daten auf Normalverteilung verzichteten.

Für die Bestimmung des Zusammenhangs und der Übereinstimmung der Renin-Assays verwendeten wir die folgenden Methoden :

1. Für die Bestimmung des Zusammenhangs wurde eine lineare Korrelationsanalyse (mit Korrelationskoeffizient nach Pearson) sowie eine einfache, lineare Regression (bestimmt nach Passing-Bablok) , deren Qualität anhand des Bestimmtheitsmaßes R^2 beurteilt wurde, verwendet. Alle Werte wurden bei einem p-Wert $<0,05$ als signifikant und bei einem p-Wert $< 0,01$ als hoch signifikant eingestuft.

2. Um die Übereinstimmung der Assays zu beurteilen, verglichen wir diese paarweise mittels Bland-Altman-Plots welche es erlauben einen eventuell vorhandenen Bias zu erkennen. Bei guter Übereinstimmung sollten sich die Differenzen der Werte um den Mittelwert konzentrieren und innerhalb von $\pm 1,96 \cdot$ Standardabweichung, genannt Limits of Agreement (LoA), befinden [54, 55]. Weil die Berechnung der Differenzen gleiche Einheiten voraussetzt, wurde die Plasma-Renin-Aktivität PRA, wie im jeweiligen Ergebnisteil beschrieben, von ng/ml/h in pg/ml umgerechnet.

Da bei einem Messwertbereich der Renin-Assays von (beispielhaft für PRC2 Diasorin®) 0,84-320 pg/ml ein Unterschied von 10 Einheiten, zum Beispiel 5 zu 15 pg/ml, eine klinisch andere Aussage hat als beispielsweise eine Differenz von 300 zu 310 pg/ml, erstellten wir zudem Bland-Altman-Plots mit prozentualen statt einfachen Abweichungen vom Mittelwert [55].

Für die Beurteilung der Aldosteron-Renin-Ratio als Screening-Test und Validierung der von uns ermittelten Cut-Offs verwendeten wir die Receiver Operating Characteristic (ROC) Kurven. Diese stellen eine Möglichkeit dar, unter anderem die Leistungsfähigkeit einer Messmethode zur Unterscheidung zweier Entitäten (in unserem Fall: erkrankt an PHA oder nicht erkrankt) zu bewerten. Die entstehende Kurve ist ein visueller Marker für die Genauigkeit des Assays und stellt die für einen Screening-Test entscheidenden Marker Sensitivität und Spezifität grafisch dar.

4.8 Abschätzung der Probandenanzahl

Wir nutzten G-Power® um die Probandenzahl für den Vergleich der Renin-Assays mittels Korrelations- und Regressionsanalyse abzuschätzen (siehe Abb. 7), wobei wir eine Trennschärfe von 95 % und eine Signifikanz von $p < 0,05$ für die Unterscheidung eines mittleren Effekts als Zielparameter definierten. Mit diesen Eigenschaften wäre eine Stichprobengröße von insgesamt $n = 138$ Probanden ausreichend, um aussagekräftige Ergebnisse zu messen. Das primäre Kollektiv für den Assay Vergleich hatte nach Ausschluss unvollständiger oder möglicherweise fehlerhafter Datensätze 157 Probanden.

- Testfamilie = exakt
- Statistischer Test = Korrelation: Bivariate Normalverteilung
- Type of power Analyse = A priori
- Seiten: zweiseitiger Test
- Effekt Stärke: 0,3 (mittlerer Effekt)
- Fehlerwahrscheinlichkeit /Signifikanz α : 0,05
- Trennschärfe / Power: 0,95

G-Power® Parameter

Input Parameters		Output Parameters	
Determine =>	Tail(s)	Lower critical r	-0.1671877
Correlation ρ H1	Two	Upper critical r	0.1671877
α err prob	0.3	Total sample size	138
Power (1- β err prob)	0.05	Actual power	0.9504014
Correlation ρ H0	0.95		
	0		

Abbildung 7: Abschätzung der Probandenanzahl des primären Kollektivs für den direkten Vergleich von jeweils zwei Renin-Messverfahren

Wir berechneten mittels der Software Medcalc® den nötigen Stichprobenumfang, der für die ROC-Analyse eine statistisch, signifikante Unterscheidung unseres Testergebnisses durch die Area-under-the-Curve AUC (ARR erkennt PHA-Patienten) von der Nullhypothese (ARR hat keine Aussagekraft zur Diagnostik) ermöglicht (siehe Abb. 8).

Als Zielgrößen wurden eine Signifikanz von $p < 0,05$, eine Trennschärfe von 95 % sowie eine Area-under-the-Curve von 0,9 oder größer (definiert als exzellente Genauigkeit eines diagnostischen Tests) im Vergleich zur Nullhypothese von 0,5 (wertlose Klassifikation beziehungsweise Ergebnis zufällig) [56] definiert. Wir gingen anhand der bekannten Prävalenzen des Primären Hyperaldosteronismus von mehr negativen als positiven Testergebnissen aus. Es wurden hier mindestens 40 Testergebnisse mit 10 gesicherten PHA-Patienten gefordert, um eine statistisch signifikante Unterscheidung der AUC von der Nullhypothese zu gewährleisten.

Type I error (Alpha, Significance): die Nullhypothese (keine Aussagekraft des Testverfahrens) wird verworfen, obwohl sie zutrifft

Type II error (Beta, 1-Power): die Nullhypothese wird fälschlicherweise als richtig angenommen

Sample size: area under ROC curve ? X

Type I and II error

Type I error (Alpha, Significance): 0,01

Type II error (Beta, 1-Power): 0,05

Input

Area under ROC curve: 0,9

Null Hypothesis value: 0,5

Ratio of sample sizes in negative / positive groups: 3

Results

Number of positive cases required: 10

Number of negative cases required: 30

Total sample size (both groups together): 40

		Type I Error - Alpha			
		0.20	0.10	0.05	0.01
Type II Error - Beta	0.20	3 + 9	4 + 12	5 + 15	7 + 21
	0.10	4 + 12	5 + 15	6 + 18	9 + 27
	0.05	4 + 12	6 + 18	7 + 21	10 + 30
	0.01	6 + 18	7 + 21	9 + 27	12 + 36

Calculate Exit

Abbildung 8: Berechnung der nötigen Stichprobenanzahl für statistische Signifikanz der ROC-Kurven im Vergleich zur Nullhypothese

Im Weiteren prüfen wir unser, für die Unterscheidung nach McKenna genutztes, primäres Kollektiv (n= 157) um festzustellen, ob dieses für den Vergleich der 5 verschiedenen Gruppen (nach Ausschluss der als medikamentös überlagert eingestuften Gruppe) gemäß McKenna-Paradigma groß genug ist.

- Testfamilie = F Test
- Statistischer Test = Mittelwerte: Differenzen zwischen mehreren, unabhängigen Gruppen (fünf Gruppen)
- Type of power Analyse = A priori
- Seiten: zweiseitiger Test
- Effektstärke: 0,4
- Fehlerwahrscheinlichkeit α : 0,05
- Trennschärfe / Power: 0,8

Mit diesen Eigenschaften wäre die Stichprobengröße von insgesamt n = 80 Probanden ausreichend um statistisch aussagekräftige Ergebnisse anhand der gegebenen Zielparameter zu messen.

G-Power® Parameter

Input Parameters		Output Parameters	
Determine =>	Effect size f	Noncentrality parameter λ	12.8000000
	α err prob	Critical F	2.4936960
	Power (1- β err prob)	Numerator df	4
	Number of groups	Denominator df	75
		Total sample size	80
		Actual power	0.8030845

Abbildung 9: Berechnung der Stichprobengröße zur Unterscheidung der Untergruppen gemäß McKenna-Paradigma

4.9 Entstehung der Daten

Von den 174 Patienten des primären Kollektivs wurden aus der Patientenakte und den Rechnern des Endokrinologikums sowie des Zentrallabors in Hamburg eine Reihe von Daten erhoben beziehungsweise nachträglich erfragt.

Erfasst wurden sofern verfügbar:

Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht, Vorerkrankungen, eingenommene Medikamente und Dosis. Gemessen wurden der Blutdruck sowie aus den Blutproben: Natrium, Kalium, Creatinin, ACTH-, Cortisol-, Aldosteron- (PAC) und Renin-Konzentrationen (PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin®) und die Renin-Aktivität (PRA) mittels der unter 4.6 ausführlich beschriebenen Assays. Anschließend wurden der arterielle Mitteldruck (MAD) und die Aldosteron-Renin-Ratio (ARR) für jeden der drei verglichenen Renin-Assays berechnet. Aus dem Urin wurden für einige Patienten noch die Metabolite Aldosteron-18-Glucuronid und Tetrahydroaldosteron bestimmt, jedoch aufgrund geringer sample size nicht ausgewertet.

Alle genannten Daten wurden in Microsoft Excel-Tabellen eingepflegt. Nach Ausschluss von Patienten mit unvollständigen und möglicherweise fehlerhaften/artefaktbehafteten Messwerten blieben 157 Patienten, welche das primäre Kollektiv darstellen. Die Patienten wurden anhand der vorliegenden Daten beziehungsweise bereits gesicherter Diagnose oder Meinung zweier Experten (Prof. S. Diederich, Dr. med. H. Biering) in die unter 4.3.2 beschriebenen McKenna Untergruppen eingeteilt. Für die Berechnung des Einflusses von Medikamenten auf die Renin-Bestimmung und resultierende ARR wurden diese anhand der Dosis und bekannter Interferenzen (siehe Tab. 3) gewichtet und zusammengefasst, so dass die zwei in 3.4 aufgeführten Untergruppen Renin-supprimierende und Renin-stimulierende Medikation resultierten. Alle erhobenen und errechneten Werte wurden nun in die Statistikprogramme übernommen und die im Ergebnisteil sichtbaren Korrelationen, Regressionsgeraden und zugrundeliegende Gleichungen errechnet und veranschaulichende Grafiken erstellt, um die unter 3. Fragestellung postulierten Thesen zu überprüfen beziehungsweise Fragestellungen zu klären. Um den Punkt 3.2 der Fragestellung (Überprüfen der Cut-Off-Werte der ARR zur M. Conn-Diagnostik) zu beantworten, wurde ein zweites oder sekundäres (unter 4.3 beschriebenes) Kollektiv von 83 Patienten ergänzt. Dieses wurde wie das primäre Kollektiv eingepflegt und dann gemeinsam analysiert.

5. Ergebnisse

5.1 Beschreibung des Patientenkollektivs: Deskriptive Statistik

Zur Auswahl der Patienten beziehungsweise Entstehung der Patientenkollektive, siehe 4.3.

Primäres Kollektiv

Von den 157 Proben der Probanden beziehungsweise Patienten im Alter von 19 bis 90 Jahren (im Mittel 57,4 Jahre) waren 48 Blutproben (30,6 %) männlichen Patienten abgenommen worden, 109 (69,4 %) stammten von weiblichen Patienten. Die Patienten waren 1,48 m bis 1,94 m groß (im Mittel 1,68 m) und wogen 43 kg bis 165 kg (durchschnittlich 81,5 kg). Das ergibt einen BMI von 28,5 für unser somit im Schnitt übergewichtiges Kollektiv. Die Patienten waren gemittelt normokaliämisch mit 4,33 mmol/l (3,0-6,2 mmol/l). Die ermittelten Blutdruckwerte streuten von 91-200 mm Hg systolisch und 52-120 mm Hg diastolisch. Es ergibt sich somit ein mittlerer Blutdruck von 139/84 mm Hg bei einem mittleren arteriellen Druck MAD von 102 mm Hg. Beide Werte liegen im hochnormalen beziehungsweise bereits hypertensiven Bereich.

Tabelle 4: Beschreibung relevanter Parameter des primären Patientenkollektivs

Deskriptive Statistik, primäres Kollektiv					
	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Alter	157	19	90	57,41	16,85
Größe in cm	157	148,00	194,00	168,91	8,25
Gewicht in kg	157	43,0	165,0	81,53	22,39
BMI	157	16,10	58,46	28,44	6,86
Systole in mm Hg	157	91	200	138,80	19,99
Diastole in mm Hg	157	52	120	84,12	12,76
MAD in mm Hg	157	67	147	102,35	13,78
Kalium in mmol/l	157	3,0	6,2	4,331	0,44

Sekundäres Kollektiv (Näheres siehe Fragestellung 3.5 und Methoden 4.3):

Grundsätzlich besteht dieses Kollektiv nur aus Hypertonikern (EHT n = 3, PHA n = 23, SHyperA n = 55), welche retrospektiv eingepflegt wurden. Die Blutdruckwerte wurden (wie in anderen Studien) zum überwiegenden Teil unter bestehender Medikation gemessen. Dieses Patientenkollektiv aus 46 männlichen und 35 weiblichen Probanden, war im Schnitt 59 Jahre alt (22 bis 84 Jahre) und wog bei einer mittleren Größe von 171 cm (153-200 cm) 82,4 kg (45-153 kg). Es resultierte ein mittlerer BMI von 27,7 (18,73-42,83) und das Kollektiv war im Schnitt hyperten, mit mittleren systolischen Werten von 151 mm Hg (116-200), diastolischen Drücken von 89 mm Hg (60-120) und einem resultierenden Mitteldruck von 110 mm Hg (87-147). Die Patienten waren im Schnitt (teils unter Kalium-Substitution) normokaliämisch mit 3,99 mmol/l (2,70-5,20 mmol/l). Weitere Ergebnisse siehe Tab. 5.

Tabelle 5: Beschreibung relevanter Parameter des sekundären Patientenkollektivs

Deskriptive Statistik, sekundäres Kollektiv					
	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Alter	81	22	84	58,98	13,53
Größe in cm	81	153,00	200,00	171,43	10,94
Gewicht in kg	83	45,00	153,00	82,37	20,77
Kalium in mmol/l	76	2,70	5,20	3,99	0,56
Systole in mm Hg	81	116	200	150,71	20,25
Diastole in mm Hg	81	60	120	89,54	10,42
MAD in mm Hg	81	86,67	146,67	109,93	12,40
BMI	63	18,73	42,83	27,70	5,53

5.2 Vergleich der drei Renin-Assays

Im Folgenden untersuchten wir paarweise den Zusammenhang und die Übereinstimmung dreier Renin-Assays. Für den Zusammenhang wurden lineare Regressionsanalysen (Korrelation, Varianzaufklärung, Regressionsgleichungen) und für die Übereinstimmung Bland-Altman-Plots verwendet. Für letztere wurden alle Messwerte in pg/ml umgerechnet und 95 % Limits of Agreement (LoA, basierend auf Mittelwert und Standardabweichung) zur Beurteilung der Übereinstimmung verwendet. Zudem wurden neben den einfachen Differenzen auch prozentuale Abweichungen vom Mittelwert (wie in 4.7 motiviert) berechnet.

5.2.1 Direkter Vergleich der Assays der Plasma-Renin-Konzentration Cisbio® Renin III. Generation® (PRC1 Cisbio®) und Diasorin® Liaison Direct Renin® (PRC2 Diasorin®)

Lineare Regression

Es zeigte sich, dass die zwei Assays zur Bestimmung der Plasma-Renin-Konzentration über den Messbereich statistisch sehr gut vergleichbar sind.

Ersichtlich wird dies unter anderem an einer Korrelation (nach Pearson) von $r = 0,948$ beziehungsweise Varianzaufklärung von 91,7 % ($R^2 = 0,917$) der Messwerte (siehe Abb. 10, Tab. 6).

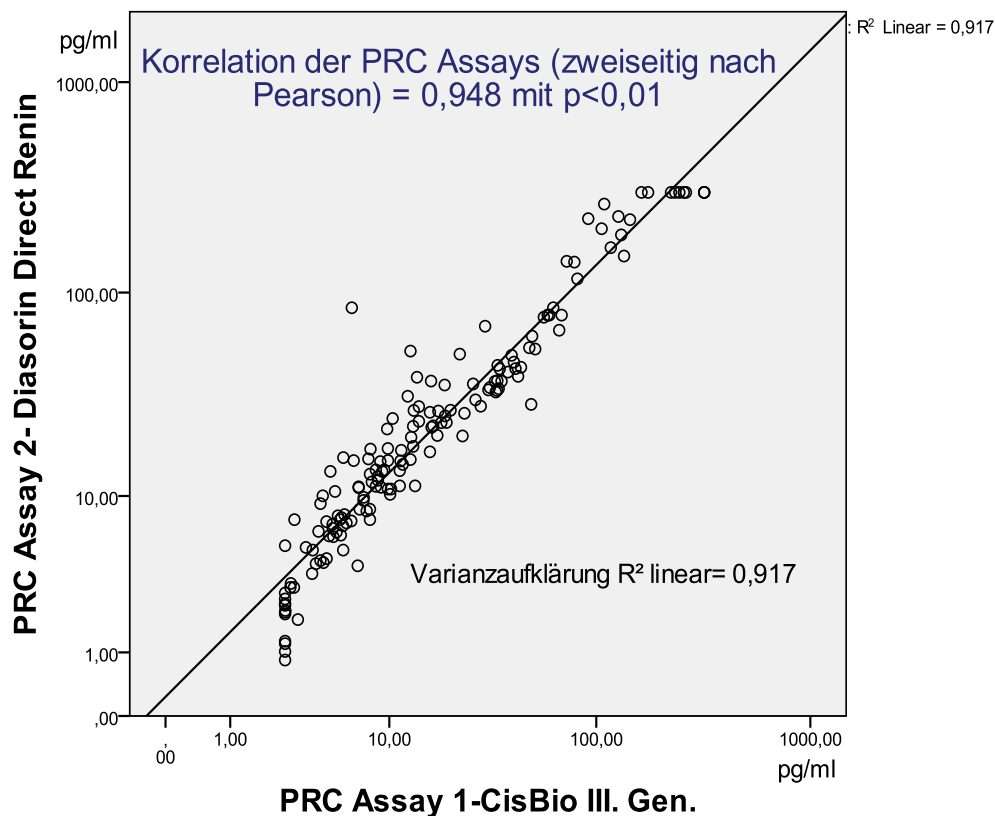


Abbildung 10: Korrelation der beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration

X-Achse: Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® [pg/ml, logarithmische Skalierung]; Y-Achse: Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® [pg/ml, logarithmische Skalierung]; Regressionsgerade mit linearer Näherung $n = 157$; p-Wert für Regressionskoeffizient $< 0,01$

Tabelle 6: Korrelation und Regression der beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration

Koeffizienten ^a						
Modell		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	-0,836	1,94		-0,431	0,667
	PRC2 Diasorin® Direct Renin	0,758	0,02	0,948	37,097	0,000

a. Abhängige Variable: PRC1 Cisbio® III.Gen; Unabhängige Variable: PRC2 Diasorin®

„Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant p<0,01)

Die zugehörige Regressionsgleichung zu Tab. 6 lautet:

$$\text{PRC1 Cisbio®} = 0,758 \times \text{PRC2 Diasorin®} - 0,836$$

Tabelle 7: Korrelation und Regression der beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration

Koeffizienten ^a						
Modell		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	6,124	2,379		2,575	0,011
	PRC1 Cisbio® III. Gen.	1,186	,032	,948	37,097	0,000

a. Abhängige Variable: PRC2 Diasorin®; Unabhängige Variable: PRC1 Cisbio® III.Gen.; „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant p<0,01)

Die zugehörige Regressionsgleichung zu Tab. 7 lautet:

$$\text{PRC2 Diasorin®} = 1,186 \times \text{PRC1 Cisbio®} + 6,124$$

Einfluss auf die Bestimmung der Aldosteron-Renin-Ratio (ARR)

Entsprechend der für den PRC2 Diasorin® höheren Messwerte bei gleicher PAC, sind die Quotienten für den ARR aus der PAC/PRC2 Diasorin® niedriger als die aus der mittels PAC/PRC1 Cisbio® bestimmten ARR, wie in Abb. 11 und den Regressionsgleichungen in Tab. 6 und 7 ersichtlich. Diese Differenz ist mit steigender Renin-Konzentration zunehmend.

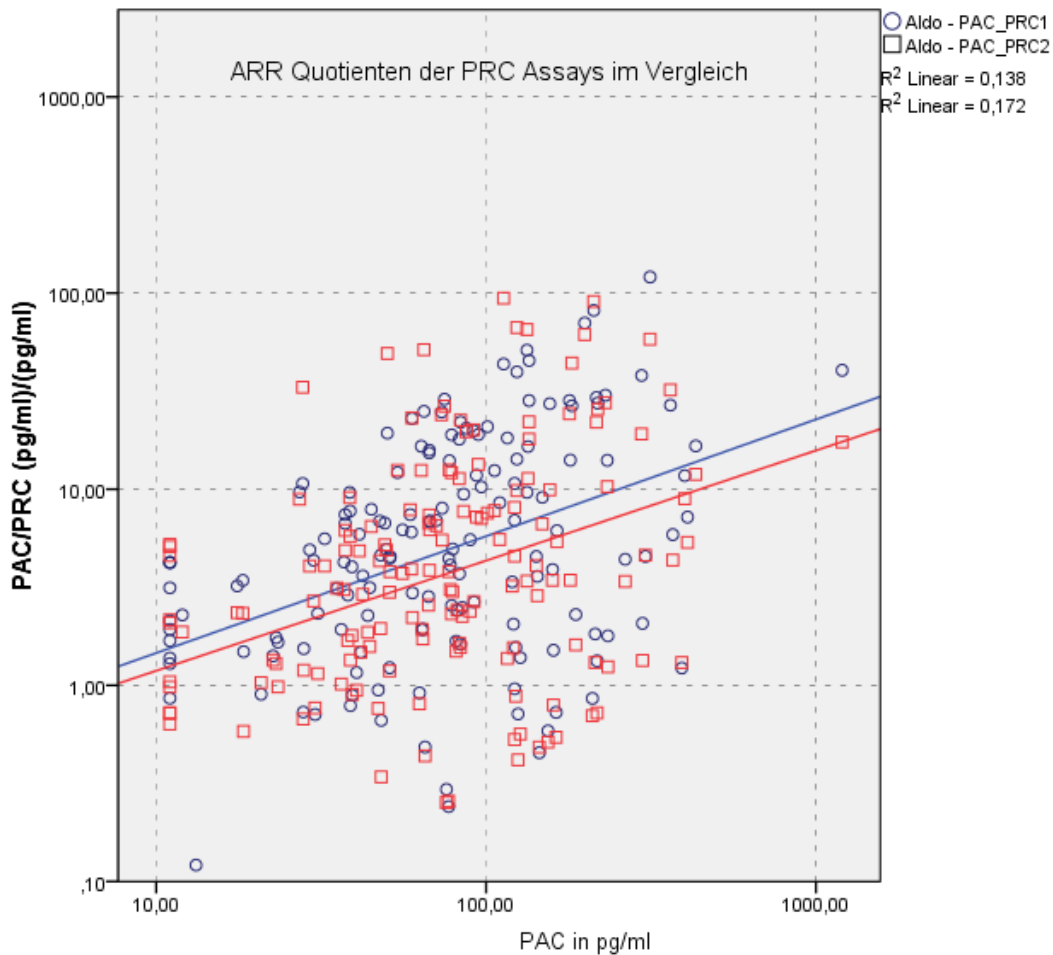


Abbildung 11: Quotienten der Aldosteron-Renin-Ratio ARR für die beiden Assays der Plasma-Renin-Konzentration im Vergleich

X-Achse: Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC [pg/ml, logarithmische Skalierung]; Y-Achse: Aldosteron-Renin-Ratio ARR (nach kürzen einheitenlos) für:

Blau= PRC1 Cisbio®, Rot = PRC2 Diasorin® [logarithmische Skalierung]; jeweils gleichfarbige, lineare Regressionsgerade; n = 157

Übereinstimmung anhand Bland-Altman-Plots

Es folgt die Analyse der Übereinstimmung der zwei PRC Assays mittels Bland-Altman-Plots. Dargestellt wird in Tab. 8 ein Mittelwert der Differenzen von PRC1 Cisbio® - PRC2 Diasorin® von -13,12 pg/ml mit einer Standardabweichung von 55,47 pg/ml und eine prozentuale Abweichung vom Mittelwert von -26,16 % mit einer Standardabweichung von 36,75 %. Aus diesen Standardabweichungen berechneten wir, wie in 4.7 motiviert [54, 55], die 95 % Limits of Agreement (LoA) und trugen diese in die folgenden Plots (Abb. 12, 13) ein.

Tabelle 8: Deskriptive Statistik der Bland-Altman-Plots für den Vergleich der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin®

		Differenz der Messwerte in pg/ml	Differenz der Messwerte in % des Mittelwertes
n	Gültig	157	157
	Fehlend	0	0
Mittelwert		-13,12	-26,16
Median		-3,66	-25,25
Standardabweichung		28,30	36,75
Minimum		-155,00	-172,03
Maximum		20,44	102,33

1. Spalte = Differenz der Messwerte der 2 Assays [pg/ml] (Y-Achse in Abb. 12); 2. Spalte = Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des jeweiligen Mittelwertes (Y-Achse in Abb. 13)

In der Darstellung mittels Bland-Altman-Plot (siehe Abb. 12) zeigte sich bei Vergleich der Differenzen der Messwerte der beiden Assays, dass 148/157 Messwertpaare (94,2 %) innerhalb der 95 % Limits of Agreement (LoA) im Bereich von -68,58 pg/ml und 42,35 pg/ml liegen und 9 außerhalb. Während im niedrigeren Konzentrationsbereich nahezu alle Werte innerhalb der LoA liegen, nimmt die Zahl der außerhalb liegenden Messwertpaare mit steigender Renin-Konzentration zu. Eine Regressionsanalyse der Differenzen der PRC-Assays auf den Mittelwert der Assays liefert eine negative Steigung beziehungsweise negativen Regressionskoeffizienten von -0,229 (dies entspricht einem proportional negativen Bias), der mit einem p-Wert von <0,01 als hochsignifikant einzustufen ist. Das heißt, mit zunehmender Renin-Konzentration misst die PRC2 Diasorin® höher als die PRC1 Cisbio®.

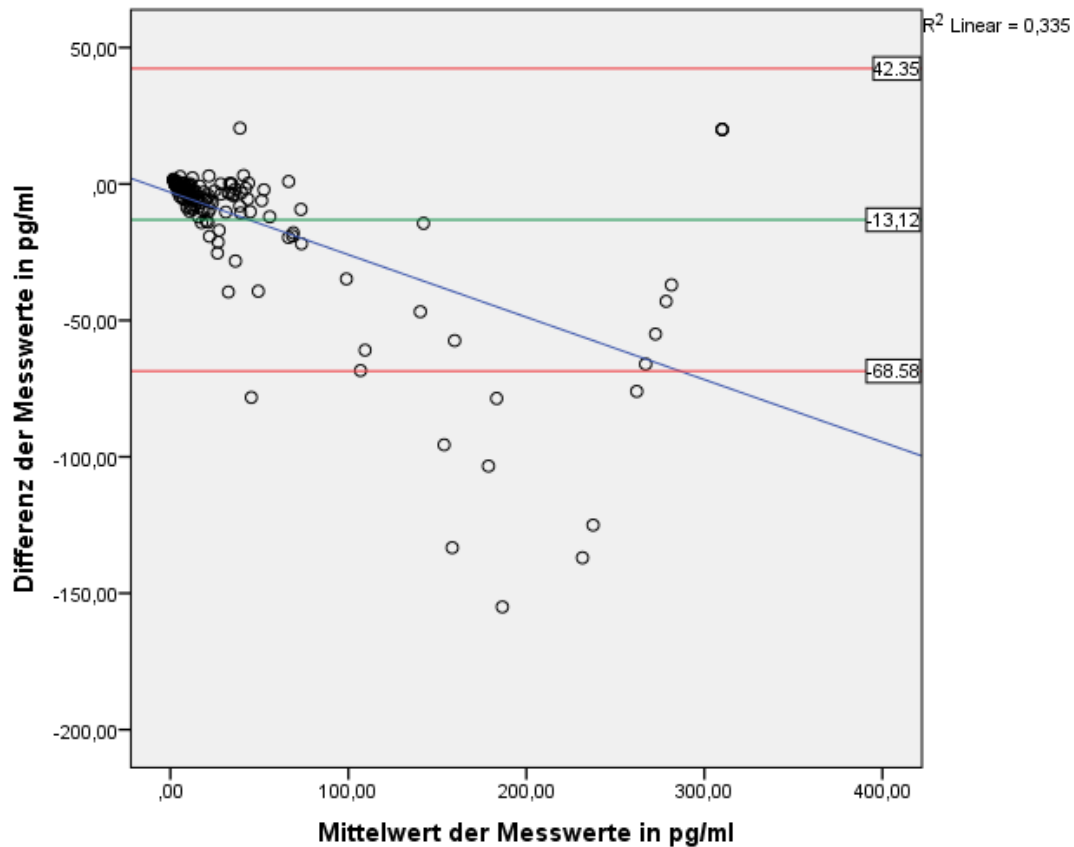


Abbildung 12: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin® ,
 X-Achse: Mittelwert der Messwerte der 2 Assays [pg/ml]; Y-Achse: Differenz der Messwerte der 2 Assays [pg/ml] (PRC1-PRC2); grüne Linie: Mittelwert der Differenz der zwei Assays; rote Linien: 95 % Limits of Agreement; blaue Linie: Regressionsgerade mit linearer Näherung; n = 157

Tabelle 9: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 12

		Koeffizienten ^a				
		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	t	Sig.
Modell		B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	-3,010	2,173		-1,386	,168
	Mittelwert	-,229	,026	-,579	-8,839	,000

a. Abhängige Variable: Differenz der Messwerte; Unabhängige Variable: Mittelwert. „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (nicht signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant p<0,01)

Dargestellt wird in Tab. 8 eine prozentuale Abweichung vom Mittelwert von -26,16 % mit einer Standardabweichung von 36,75 % für die beiden PRC Assays. Aus diesen Standardabweichungen berechneten wir, wie in 4.7 motiviert und entsprechenden Papers beschrieben, die 95 % Limits of Agreement (LoA) und trugen diese im folgenden Plot ein.

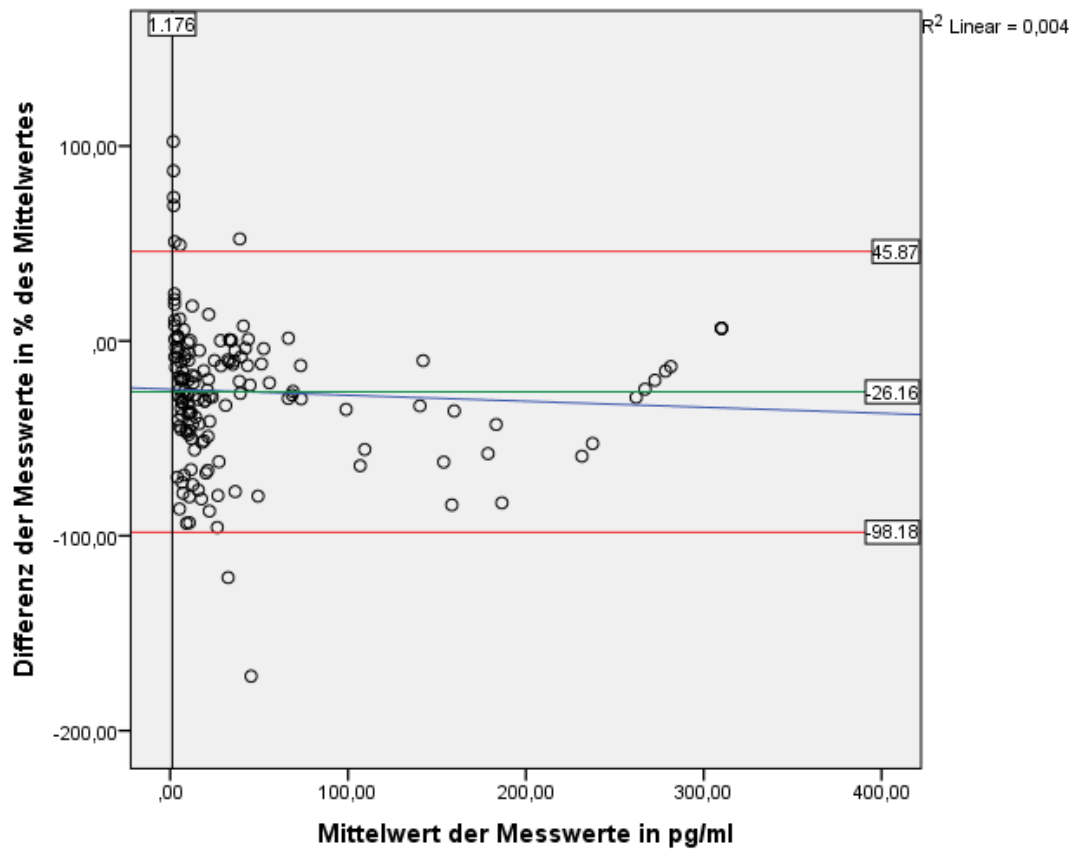


Abbildung 13: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der zwei Assays der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin® bei prozentualer Darstellung der Abweichungen

X-Achse: Mittelwert der Messwerte der 2 Assays [pg/ml]; Y-Achse: Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des jeweiligen Mittelwertes; grüne Linie: Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des Mittelwertes (PRC1-PRC2); rote Linien: 95 % Limits of Agreement; senkrechte schwarze Linie: gemittelte, funktionelle Sensitivität; blaue Linie: Regressionsgerade mit linearer Näherung; n = 157

Tabelle 10: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 13

Koeffizienten^a

Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	t	Sig.
	B	Standardfehler	Beta		
1 (Konstante)	-24,796	3,454		-7,179	,000
Mittelwert	-,031	,041	-,060	-,749	,455

a. Abhängige Variable: Differenz der Messwerte in %; Unabhängige Variable: Mittelwert „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (hochsignifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (nicht signifikant)

Im zweiten Bland-Altman-Plot der Assays (siehe Abb. 13) zeigte sich bei Vergleich der Differenzen der Messwerte in % des Mittelwertes, dass 148/157 Messwertpaare (94,3 %) innerhalb der 95 % Limits of Agreement im Bereich von -98,18 % und 45,87 % liegen und 9 außerhalb. Eine Regressionsanalyse liefert eine negative Steigung von -0,31 (dies entspricht einem proportional negativen Bias).

Das heißt mit zunehmender Renin-Konzentration liegt die prozentuale Differenz der PRC2 Diasorin® über der PRC1 Cisbio®. Dieser Bias ist, wie in Tab. 10 sichtbar, jedoch nicht signifikant.

Wir trugen auf der X-Achse nun die gemittelte funktionelle Sensitivität der Assays ein.

Abweichungen unterhalb dieser Schwelle von 1,18 sind klinisch weniger relevant.

Klammert man Messwerte darunter aus, liegen 149/153 Werten (97,4 %) innerhalb der LoA.

Fazit: Eine lineare Regression von PRC1 Cisbio® auf PRC2 Diasorin® (bzw. PRC2 Diasorin® auf PRC1 Cisbio®) zeigt einen signifikant positiven Zusammenhang zwischen den beiden Assays. Zudem zeigen die Bland-Altman-Plots eine gute Übereinstimmung für niedrige Renin-Konzentrationen mit einem proportional negativen Bias, welcher für die Differenzen der Assays, nicht jedoch für die prozentualen Abweichungen vom Mittelwert, signifikant ausfällt.

5.2.2 Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität Diasorin® Angiotensin-I RIA (PRA) mit der Plasma-Renin-Konzentration Cisbio® Renin III. Generation RIA (PRC1 Cisbio®)

Lineare Regression

Beim Betrachten der Korrelation zwischen PRA und PRC1 Cisbio® war diese mit 86,1 % (zweiseitig nach Pearson, $r = 0,861$) beziehungsweise einer Aufklärung der Messwertvarianz von 72,4 % ($R^2 = 0,724$) auf einem ähnlich hohen Niveau wie die Korrelation zwischen den, von der gleichen Firma vertriebenen, Diasorin® PRA- und PRC-Messverfahren (siehe Abb. 14). Die Unterschiede erklären sich möglicherweise durch die unterschiedlichen Verfahren der Renin-Bestimmung (Details siehe 4.6, Enzymaktivität bei PRA in Form eines Radioimmunoassays und direkte Messung der Renin-Konzentration durch Sandwich-Radioimmunoassay bei PRC1 Cisbio®), die methodenbedingt jeweils unterschiedlich vulnerabel gegenüber bestimmten Einflussfaktoren sein können.

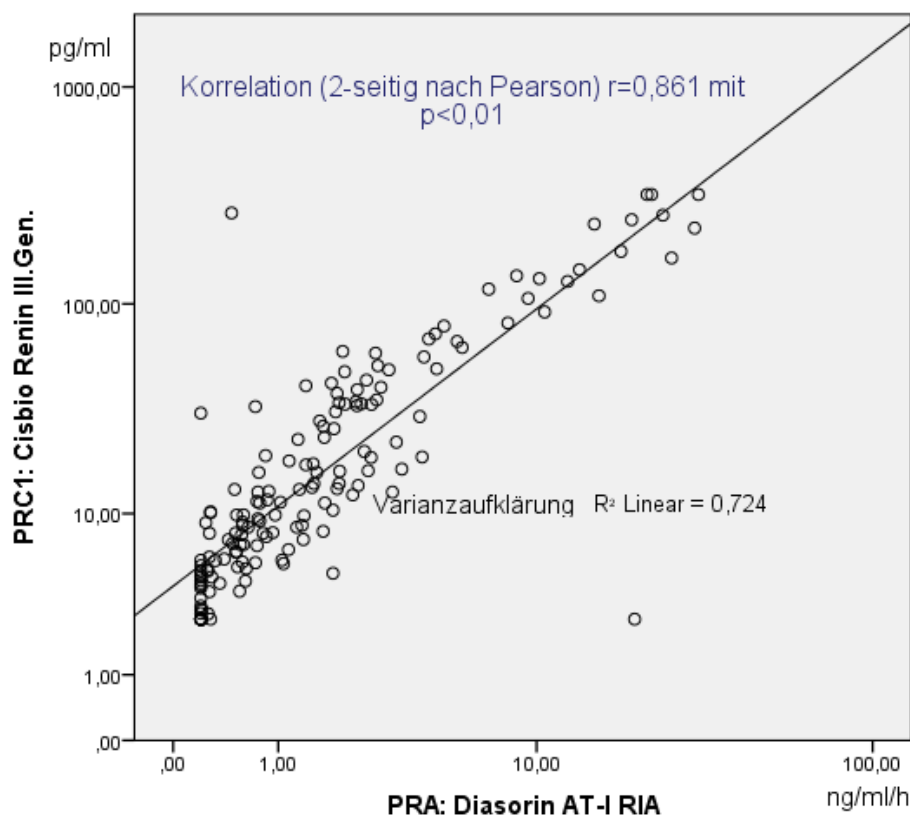


Abbildung 14: Korrelation der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® zur Plasma-Renin-Aktivität PRA

X-Achse: Renin-Aktivität PRA [ng/ml/h, logarithmische Skalierung]; Y-Achse: Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® [pg/ml, logarithmische Skalierung], Regressionsgerade mit linearer Näherung; $n = 157$; p -Wert für Regressionskoeffizient $<0,01$

Tabelle 11: Korrelation und Regression von Plasma-Renin-Aktivität PRA zu Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®

Koeffizienten ^a						
Modell	Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.	
	Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta			
1	(Konstante)	0,291	0,276		1,053	0,294
	PRC1-Cisbio® III	0,078	0,004	0,861	21,083	0,000

a Abhängige Variable: PRA Diasorin® AT-I RIA; Unabhängige Variable: PRC1 Cisbio®; „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (nicht signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant $p < 0,01$)

Die zugehörige Regressionsgleichung zu Tab. 11 lautet:

$$\text{PRA} = 0,078 \times \text{PRC1 Cisbio}^\circledast + 0,291$$

Übereinstimmung anhand Bland-Altman-Plots

Es folgt die Analyse der Übereinstimmung für den Vergleich der PRA mit der PRC1 Cisbio®. In Ermangelung eines etablierten Umrechnungsfaktors zwischen den beiden Assays, nutzten wir die von uns ermittelte Regressionsgleichung (s. o.), um die beiden Variablen anhand der vorhandenen Daten anzugleichen und die im Bland-Altman-Plot notwendigen gleichen Einheiten verwenden zu können (Umwandlung der PRA in pg/ml). Dargestellt wird in Tab. 12 ein Mittelwert der Differenzen von PRC1 Cisbio® - PRA von 3,19 pg/ml mit einer Standardabweichung von 53,47 pg/ml und eine prozentuale Abweichung vom Mittelwert von -3,58 % mit einer Standardabweichung von 38,18 %. Aus diesen Standardabweichungen berechneten wir, wie in 4.7 motiviert [54, 55], die 95 % Limits of Agreement (LoA) und trugen diese in den folgenden Plots (Abb.15, 16) ein.

Tabelle 12: Deskriptive Statistik der Bland-Altman-Plots für den Vergleich der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® mit der Plasma-Renin-Aktivität PRA

n	Gültig	157	157
	Fehlend	0	0
Mittelwert		3,19	-3,58
Median		10,47	,34
Standardabweichung		53,47	38,18
Minimum		-195,98	-253,52
Maximum		191,46	257,27

1. Spalte = Differenz der Messwerte der 2 Assays in pg/ml (Y-Achse in Abb. 15); 2. Spalte = Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des jeweiligen Mittelwertes (Y-Achse in Abb. 16)

In der Darstellung mittels Bland-Altman-Plot (siehe Abb. 15) zeigte sich bei Vergleich der Differenzen der Messwerte der beiden Assays, dass 153/157 Messwertpaare (97,5 %) innerhalb der 95 % Limits of Agreement liegen und 4 außerhalb (3 der 4 Outlier liegen unterhalb der LoA und einer oberhalb). Die LoA reichen von -101,61 pg/ml bis 107,99 pg/ml. Während im niedrigeren Konzentrationsbereich nahezu alle Werte innerhalb der LoA liegen, gibt es für höhere Konzentrationen einige Werte außerhalb. Eine Regressionsanalyse der prozentualen Differenzen vom Mittelwert liefert eine negative Steigung beziehungsweise negativen Regressionskoeffizienten von -0,164 (dies entspricht einem proportional negativen Bias), der mit einem p-Wert von <0,01 als hochsignifikant einzustufen ist. Das heißt, mit zunehmender Renin-Konzentration misst die PRA höhere Werte als die PRC1 Cisbio®.

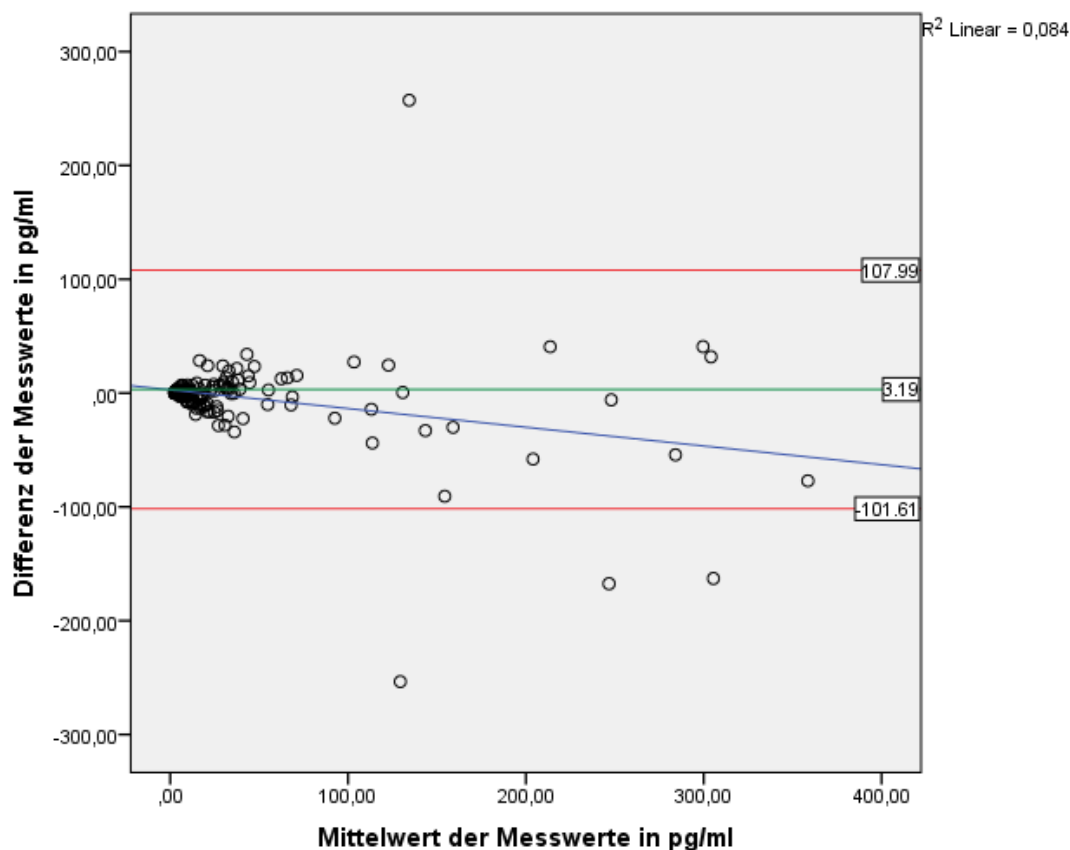


Abbildung 15: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität PRA mit der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®

X-Achse: Mittelwert der Messwerte der 2 Assays [pg/ml]; Y-Achse: Differenz der Messwerte der 2 Assays (PRC1-PRA) [pg/ml]; grüne Linie: Mittelwert der Differenz der zwei Assays; rote Linien: 95 % Limits of Agreement; blaue Linie: Regressionsgerade mit linearer Näherung; n= 157

Tabelle 13: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 15

Modell		Koeffizienten ^a				
		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	t	Sig.
		B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	2,893	3,393		,853	,395
	Mittelwert	-,164	,044	-,290	-3,771	,000

a. Abhängige Variable: Differenz der Mittelwerte; Unabhängige Variable: Mittelwert. „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (nicht signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant $p < 0,01$)

Auch für diesen Vergleich erstellten wir bei zunehmender Differenz der einfachen Reninwerte über den Messbereich einen zweiten Plot mit einer prozentualen Darstellung der Abweichungen (siehe Abb. 16). Es finden sich 124/157 Messwertpaaren (79,0 %) innerhalb der LoA im Bereich von -78,42 % bis 71,25 %.

Eine Regressionsanalyse liefert eine negative Steigung von -0,108 (dies entspricht einem proportional negativen Bias).

Das heißt, mit zunehmender Renin-Konzentration liegt die prozentuale Differenz der PRA über der PRC1 Cisbio®. Dieser Bias ist, wie in Tab. 14 sichtbar, jedoch nicht signifikant.

Wir trugen auf der X-Achse nun die funktionelle Sensitivität der PRC1 Cisbio® (5 pg/ml) ein. Leider gibt der Hersteller für die PRA keine funktionelle Sensitivität an, so dass hier nicht gemittelt werden kann. Abweichungen unterhalb dieser Schwelle sind klinisch weniger relevant. Klammert man die Messwerte darunter aus, liegen 107/124 (86,2 %) innerhalb der LoA.

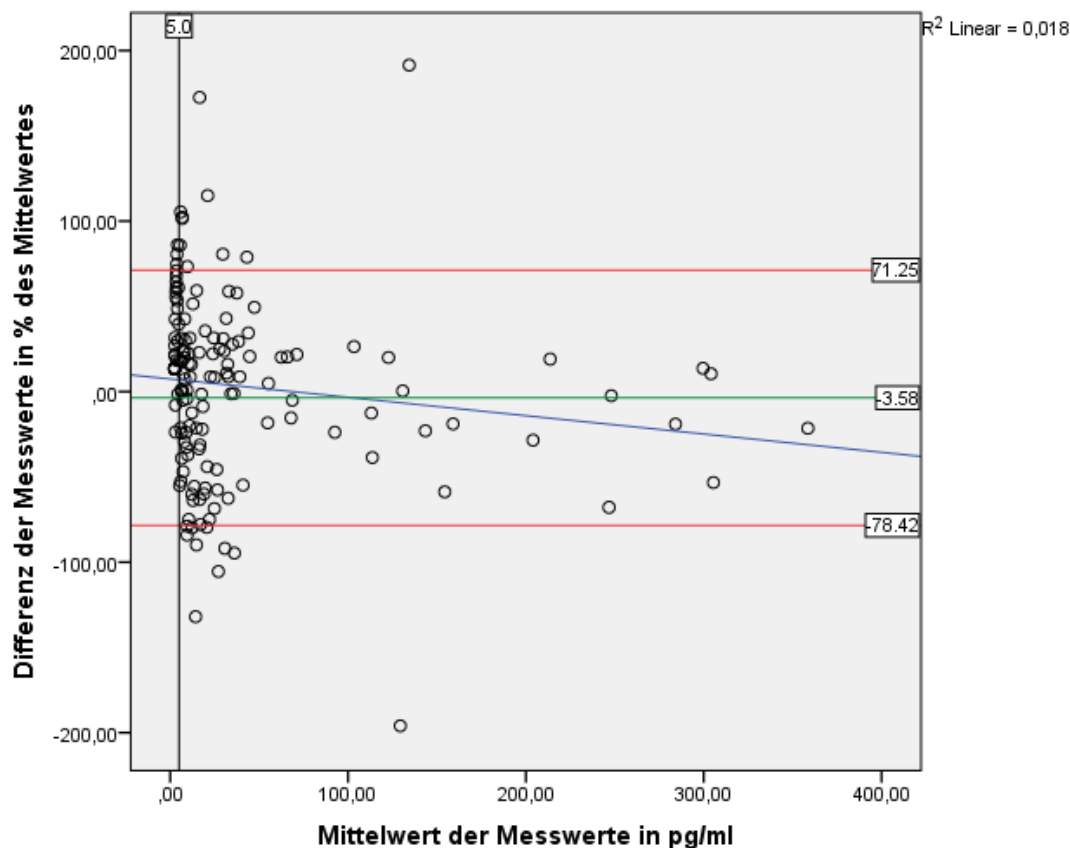


Abbildung 16: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio® und Plasma-Renin-Aktivität PRA bei prozentualer Darstellung der Abweichungen
 X-Achse: Mittelwert der Messwerte der 2 Assays [pg/ml]; Y-Achse: Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des jeweiligen Mittelwertes (PRC1-PRA); grüne Linie: mittlere Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des Mittelwertes; rote Linien: 95 % Limits of Agreement; senkrechte schwarze Linie : funktionelle Sensitivität der PRC1; blaue Linie: Regressionsgerade mit linearer Näherung; n = 157

Tabelle 14: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 16

Modell		Koeffizienten ^a				
		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	t	Sig.
		B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	7,424	4,918		1,509	,133
	Mittelwert	-,108	,063	-,135	-1,701	,091

a. Abhängige Variable: Differenz der Messwerte in % des Mittelwertes; Unabhängige Variable: Mittelwert. „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (nicht signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (nicht signifikant)

Fazit: Eine lineare Regression von PRC1 Cisbio® auf PRA zeigt einen signifikant positiven Zusammenhang zwischen den beiden Assays. Zudem zeigen die Bland-Altman-Plots eine gute Übereinstimmung für niedrige Renin-Konzentrationen mit einem proportional negativen Bias,

welcher für die Differenzen der Assays, nicht jedoch für die prozentualen Abweichungen vom Mittelwert signifikant ausfällt.

5.2.3 Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität Diasorin® Angiotensin-I RIA (PRA) mit Plasma-Renin-Konzentration Diasorin® Liaison Direct Renin CLIA (PRC2 Diasorin®)

Lineare Regression

Stellt man PRA und PRC2 Diasorin® gegenüber, findet man eine gute Korrelation (nach Pearson) von $r = 0,873$ beziehungsweise einer Varianzaufklärung von 71,3 % ($R^2 = 0,713$) der gemessenen Werte (siehe Abb. 17). Jedoch wird deutlich, dass möglicherweise verfahrensbedingt, die Werte stärker voneinander abweichen als die Messungen der beiden PRC-Assays im Vergleich.

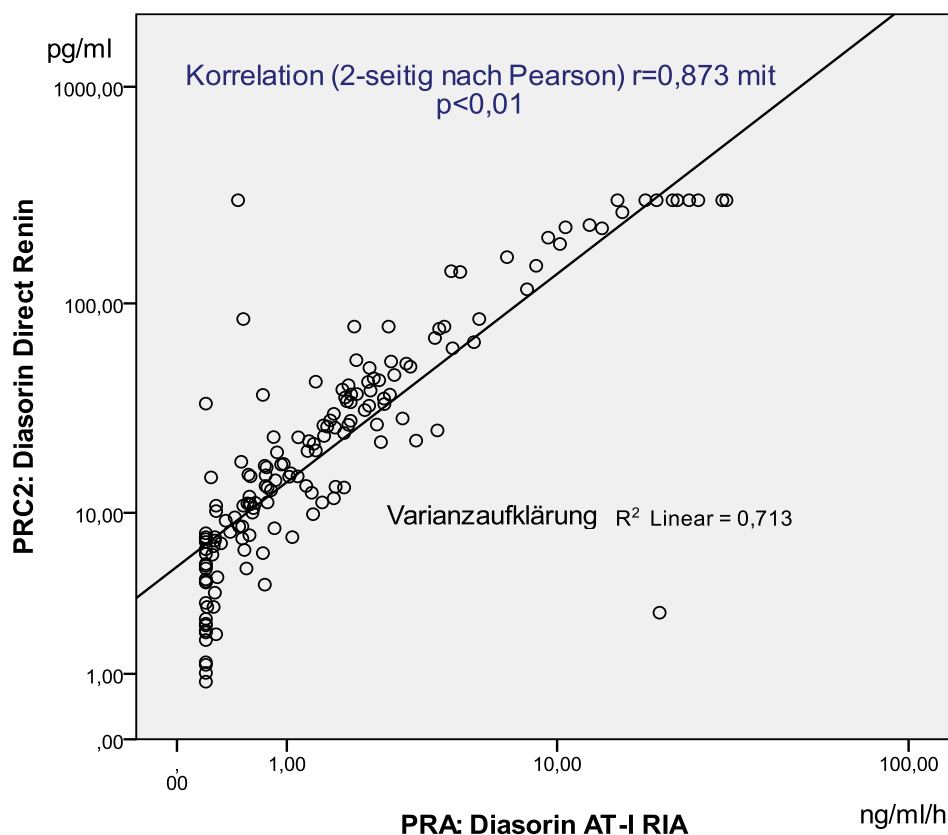


Abbildung 17: Vergleich der Korrelation von Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® mit Renin-Aktivität PRA

X-Achse: Renin-Aktivität PRA [ng/ml/h, logarithmische Skalierung]; Y-Achse: Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® [pg/ml, logarithmische Skalierung]; Regressionsgerade mit linearer Näherung; $n = 157$; p -Wert für Regressionskoeffizient $< 0,01$

Die zugehörige Regressionsgleichung zu Tab. 15 lautet:

$$\text{PRA} = 0,063 \times \text{PRC2 Diasorin}^\circledast + 0,016$$

Tabelle 15: Korrelation und Regressionsformel von Plasma-Renin-Aktivität PRA zu Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin®

Modell		Koeffizienten ^a				
		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	T	Sig.
		Regressionskoeffizient B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	0,016	0,27		0,061	0,951
	PRC2 Diasorin® Direct Renin	0,063	0,003	0,873	22,289	0,000

- a. Abhängige Variable: PRA Diasorin® AT-I RIA; Unabhängige Variable: PRC2 Diasorin®; „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (nicht signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant $p < 0,01$)

Übereinstimmung anhand Bland-Altman-Plots

Zuletzt verglichen wir die Übereinstimmung der PRC2 Diasorin® mit der PRA.

Da es für die Umrechnung der PRA in die PRC2 Diasorin® einen etablierten Faktor in den Guidelines der Endocrine Society gibt (1 ng/ml/h entspricht 7,6 pg/ml) [6], verwendeten wir diesen, anstelle unserer Näherungsgleichung aus der linearen Regression. In Tab. 16 zeigt sich für PRC2 Diasorin® - PRA ein Mittelwert von 47,47 pg/ml mit einer Standardabweichung von 75,52 pg/ml. Beim Betrachten der prozentualen Differenz im Vergleich zum Mittelwert berechneten wir 173,19 % mit einer Standardabweichung von 28,74 %. Aus diesen Standardabweichungen berechneten wir, wie in 4.7 motiviert [54, 55], die 95 % Limits of Agreement (LoA) und trugen diese in den folgenden Plots (Abb.18, 19) ein.

Tabelle 16: Deskriptive Statistik der Bland-Altman-Plots für den Vergleich der Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® mit der Plasma-Renin-Aktivität PRA

	n	Gültig Fehlend	Differenz der Messwerte	Differenz der Messwerte in % des Mittelwertes
			157	157
			0	0
Mittelwert			47,47	173,19
Median			16,41	177,72
Standardabweichung			75,52	28,74
Minimum			-17,18	-150,57
Maximum			299,53	199,37

1.Spalte = Differenz der Messwerte der 2 Assays [pg/ml] (Y-Achse in Abb. 18); 2.Spalte = Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des jeweiligen Mittelwertes (Y-Achse in Abb. 19)

Im Bland-Altman-Plot (siehe Abb. 18) für die Differenzen der Messwerte der beiden Assays, finden sich 140/157 Messwertpaare (89,2 %) innerhalb der 95 % Limits of Agreement und 17 außerhalb. Alle 17 Werte liegen oberhalb der LoA, welche von -100,55 pg/ml bis 195,49 pg/ml reichen. Eine Regressionsanalyse der einfachen Differenzen der Assays auf den Mittelwert liefert eine positive Steigung beziehungsweise positiven Regressionskoeffizienten von 0,612

(dies entspricht einem proportional negativen Bias), der mit einem p-Wert von $<0,01$ als hochsignifikant einzustufen ist.

Das heißt, mit zunehmender Renin-Konzentration misst die PRC2 Diasorin® höhere Werte als die PRA.

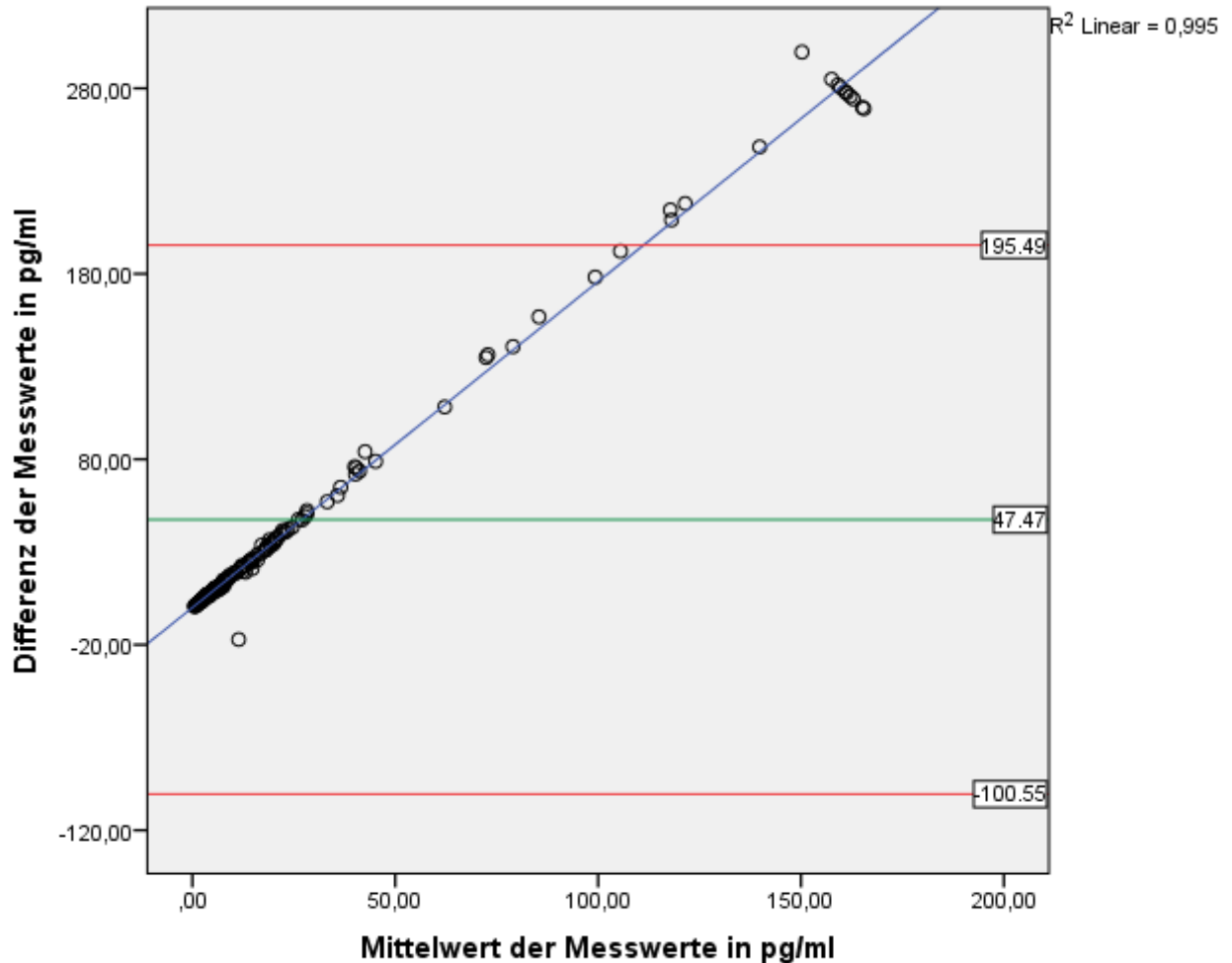


Abbildung 18: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der Plasma-Renin-Aktivität PRA mit der Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin®
umgerechnet in [pg/ml]; X-Achse: Mittelwert der Messwerte der 2 Assays [pg/ml]; Y-Achse: Differenz der Messwerte der 2 Assays (PRC2-PRA) [pg/ml]; grüne Linie: Mittelwert der Differenz der zwei Assays; rote Linien: 95 % Limits of Agreement; blaue Linie: Regressionsgerade mit linearer Näherung; n= 157

Tabelle 17: Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 18

Modell		Koeffizienten ^a				
		Nicht standardisierte Koeffizienten		Standardisierte Koeffizienten	t	Sig.
		B	Standardfehler	Beta		
1	(Konstante)	3,078	2,717		1,133	,259
	Mittelwert	,612	,038	,790	16,057	,000

a. Abhängige Variable: Differenz der Mittelwerte in pg/ml; Unabhängige Variable: Mittelwert.

„Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (nicht signifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (hochsignifikant $p < 0,01$)

Trägt man die Differenz der Messwerte in % des Mittelwertes im Bland-Altman-Plot ein (siehe Abb. 19), liegen 156/157 Messwertpaare (99,4 %) innerhalb der LoA, welche von 116,87 % bis 229,32 % reichen. Es gibt einen Outlier unterhalb der LoA.

Eine Regressionsanalyse liefert eine minimale, negative Steigung von -0,014 (dies entspricht einem proportional negativen Bias).

Das heißt, mit zunehmender Renin-Konzentration liegt die prozentuale Differenz der PRA minimal über der PRC2 Diasorin®.

Dieser Bias ist, wie in Tab. 17 sichtbar, jedoch nicht signifikant.

Nach Auftragen der funktionellen Sensitivität des Assays (1,18 pg/ml) verändert sich in diesem Vergleich die Übereinstimmung kaum. Nach Ausklammern eines extremen, negativen Outliers liegen 155/156 Werten (99,4 %) innerhalb der LoA.

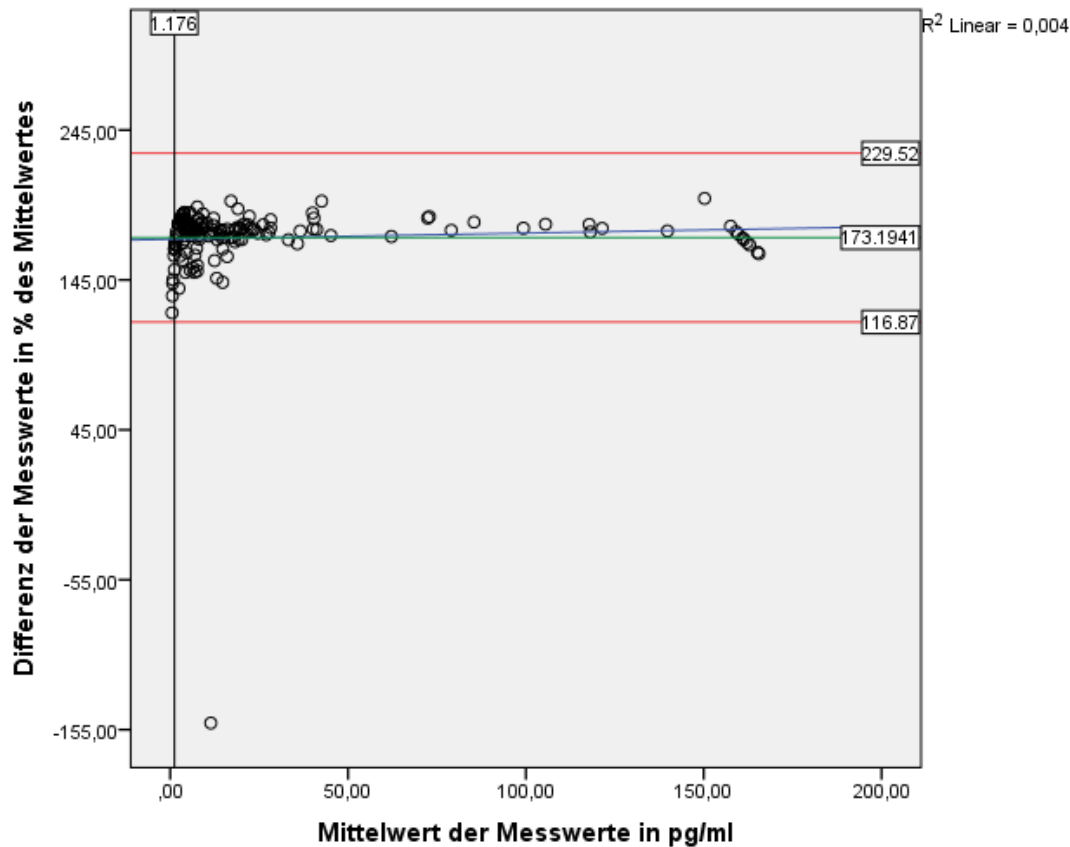


Abbildung 19: Bland-Altman-Plot für den Vergleich der PRC2 Diasorin® und PRA bei prozentualer Darstellung der Abweichungen ,
 X-Achse: Mittelwert der Messwerte der 2 Assays [pg/ml]; Y-Achse: Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des jeweiligen Mittelwertes (PRC2-PRA); grüne Linie: mittlere Differenz der Messwerte der 2 Assays in % des Mittelwertes; rote Linien: 95 % Limits of Agreement; senkrechte schwarze Linie: funktionelle Sensitivität; blaue Linie: Regressionsgerade mit linearer Näherung; n = 157

Tabelle 18 Signifikanzanalyse für Regression in Abb. 19

Modell		Koeffizienten ^a		Standardisierte Koeffizienten	t	Sig.
		Nicht standardisierte Koeffizienten	Standardfehler			
		B		Beta		
1	(Konstante)	71,308	4,476		15,931	,000
	Mittelwert	-,014	,063	-,018	-,224	,823

a. Abhängige Variable: Differenz der Messwerte in %; Unabhängige Variable: Mittelwert
 „Standardisierter Koeffizient Beta“ entspricht der Korrelation r; T-Wert entspricht Quotient aus Regressionskoeffizient B/Standardfehler; „Sig.“ zeigt die Signifikanz der Regressionsanalyse der Konstante (hochsignifikant) und des Regressionskoeffizienten für die abhängige Variable (nicht signifikant)

Fazit: Eine lineare Regression von PRC2 Diasorin® auf PRA zeigt einen signifikant positiven Zusammenhang zwischen den beiden Assays. Zudem zeigen die Bland-Altman-Plots eine gute Übereinstimmung für niedrige Renin-Konzentrationen mit einem signifikanten, proportional positiven Bias für die einfachen Differenzen, sowie einem minimalen, proportional negativen Bias für die prozentualen Abweichungen vom Mittelwert, der nicht signifikant ist.

5.3 Überprüfen der Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zur Conn-Diagnostik

Da im primären Kollektiv nur 10 Patienten mit gesichertem PHA aufgeführt waren, wurden aus den Archiven des Endokrinologikums, wie in 4.3 beschrieben, weitere 83 Datensätze von Patienten oder Mitarbeitern aufgenommen, für die Messwerte der beiden gebräuchlichsten Assays PRA Diasorin® oder PRC2 Diasorin® vorlagen. Dieses erfolgte, um die Treffsicherheit und Trennschärfe der entsprechenden ARR zur Abgrenzung zwischen NHV/EHT und PHA besser beurteilen zu können und die statistische Power / Trennschärfe zu erhöhen. Für die ARR anhand PRC1 Cisbio® wurden mangels verfügbarer Datensätze keine zusätzlichen Patienten ergänzt, der Cut-Off bleibt unverändert (siehe Abb. 23).

5.3.1 Diagnostik mittels PAC, PRA, PRC im Vergleich zur ARR

Wir stellten die Untergruppen zunächst auch isoliert anhand der PAC sowie der Renin-Werte PRA beziehungsweise PRC2 Diasorin® gegenüber, wobei sich - wie auch in anderen Arbeiten beschrieben [57] - die Untergruppen NHV/EHT und PHA nicht befriedigend voneinander differenzieren ließen (siehe Abb. 20, 21 sowie Tab. 18).

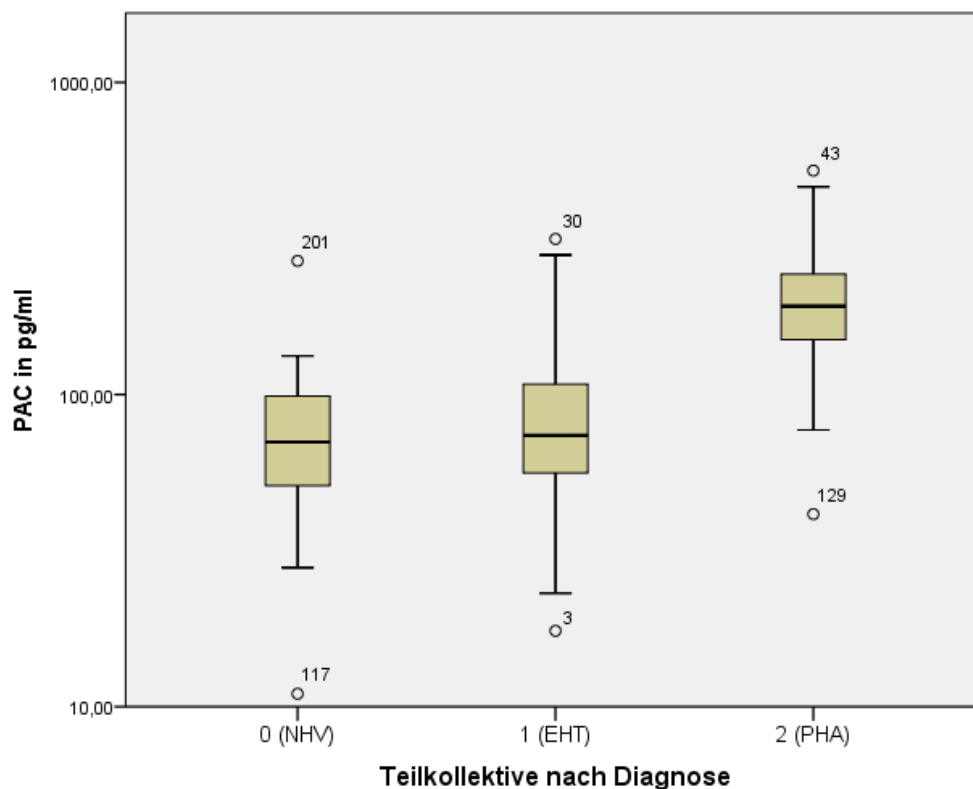


Abbildung 20: Unterteilung der Untergruppen Normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC in pg/ml,

logarithmische Skalierung, unterer und oberer Whisker = Minimum/Maximum ohne Outlier (nummerierte Kreise), untere/obere Begrenzung der Box = 25. Perzentil und 75. Perzentil, Linie innerhalb der Box = Median, keine Conn-Diagnostik möglich, n = 122, erweitertes Kollektiv

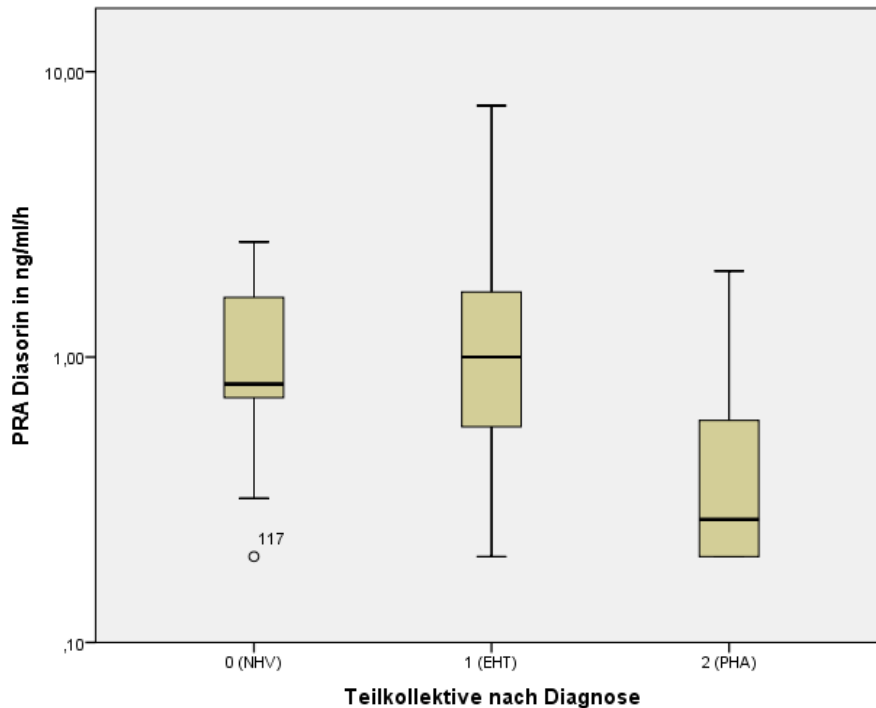


Abbildung 21: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand Plasma-Renin-Aktivität PRA in ng/ml/h,

logarithmische Skalierung; unterer und oberer Whisker = Minimum/Maximum ohne Outlier (nummerierte Kreise); untere/obere Begrenzung der Box = 25. Perzentil und 75. Perzentil; Linie innerhalb der Box = Median; keine Conn-Diagnostik möglich; n = 122; erweitertes Kollektiv

Tabelle 19: Einzelparameter Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC, Plasma-Renin-Aktivität PRA und Plasma-Renin-Konzentration PRC2 Diasorin® zur Conn-Diagnostik

Assay			PAC	PRA Diasorin®	PRC2 Diasorin®
Teilkollektiv	0 NHV	Anzahl	20	20	20
		Minimum	11,00	,20	6,18
		Mittelwert	82,26	1,11	19,67
		Maximum	268,00	2,53	41,46
		Standardabweichung	53,82	,67	10,75
	1 EHT	Anzahl	37	37	37
		Minimum	17,50	,20	,71
		Mittelwert	92,26	1,47	28,52
		Maximum	315,00	7,60	312,00
		Standardabweichung	62,65	1,65	68,46
	2 PHA	Anzahl	65	65	65
		Minimum	41,40	,20	,20
		Mittelwert	209,18	,51	3,67
		Maximum	522,00	2,00	15,48
		Standardabweichung	95,65	,42	3,58

In Abb. 24 und Tab. 20 erkennt man, dass auch nach Ergänzung der zusätzlichen Patienten, der zuvor ermittelte Cut-Off von 13 für den PRC2 Diasorin® eine Sensitivität von 100 % für die Erkennung des PHA und eine eindeutige Abgrenzung von den Gesunden bietet. Wie bei einem hochsensitiven Screening-Test zu erwarten, werden auch einige essentielle Hypertoniker (8 von 37 oder 21 %) falsch positiv gescreent. Diese sind in der etablierten und unter 2.3 aufgeführten Stufendiagnostik mit entsprechenden Bestätigungstests widerlegt worden. Die Anzahl der Patienten in den Untergruppen nach Ergänzung des sekundären Kollektivs und Verteilung sowie Mittelwerte der ARR sind ebenfalls in Tab. 20 ersichtlich.

Tabelle 20: Patientenanzahl und Aldosteron-Renin-Ratio in den Untergruppen - erweitertes Kollektiv

McKenna=Untergruppe	ARR mittels PAC/PRA				ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®			
	Mittelwert	Min	Max	Gültige n	Mittelwert	Min	Max	Gültige n
NHV = 0	93,68	14,31	357,33	20	5	0,67	12,52	20
EHT = 1	127,06	12,22	675	24	22,16	0,1	187,61	37
PHA = 2	598,15	62,73	2060	41	166,39	13,38	1960	35

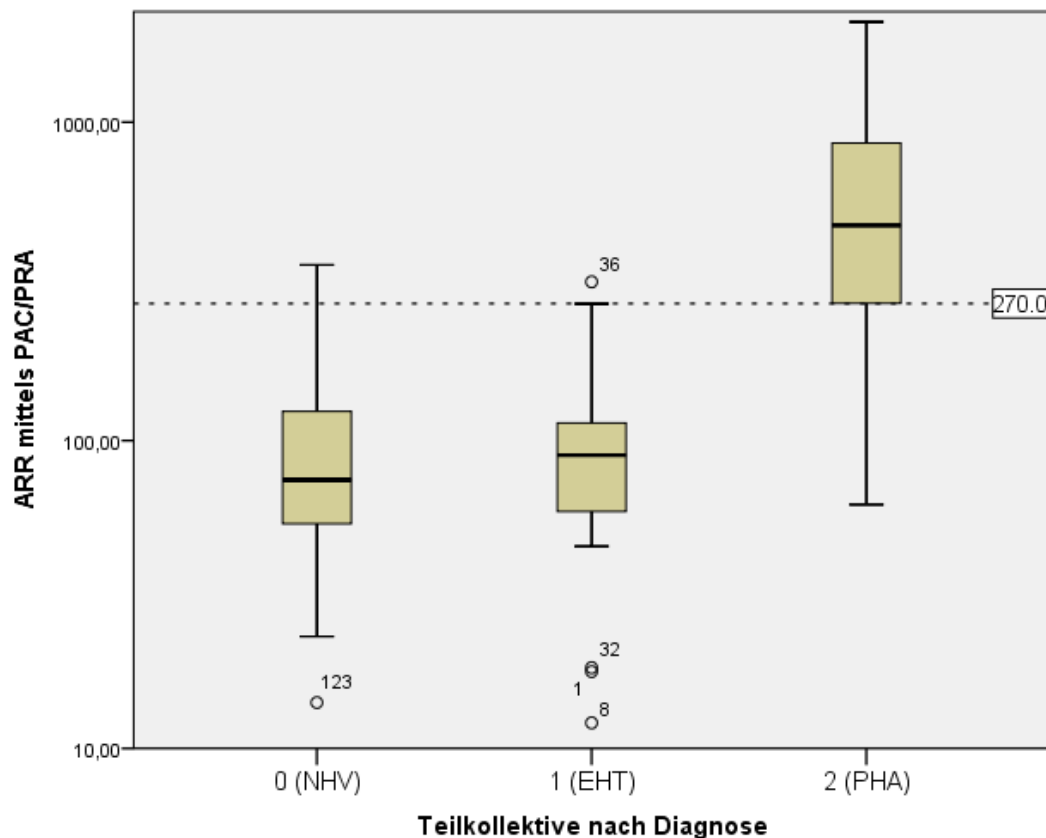


Abbildung 22: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand der Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (PAC/PRA) [(pg/ml)/(ng/ml/h)] zur Conn-Diagnostik; logarithmische Skalierung; unterer bis oberer Whisker = Minimum/Maximum ohne Outlier (nummerierte Kreise); untere/obere Begrenzung der Box = 25. Perzentil und 75. Perzentil; Linie innerhalb der Box = Median; n = 85; erweitertes Kollektiv

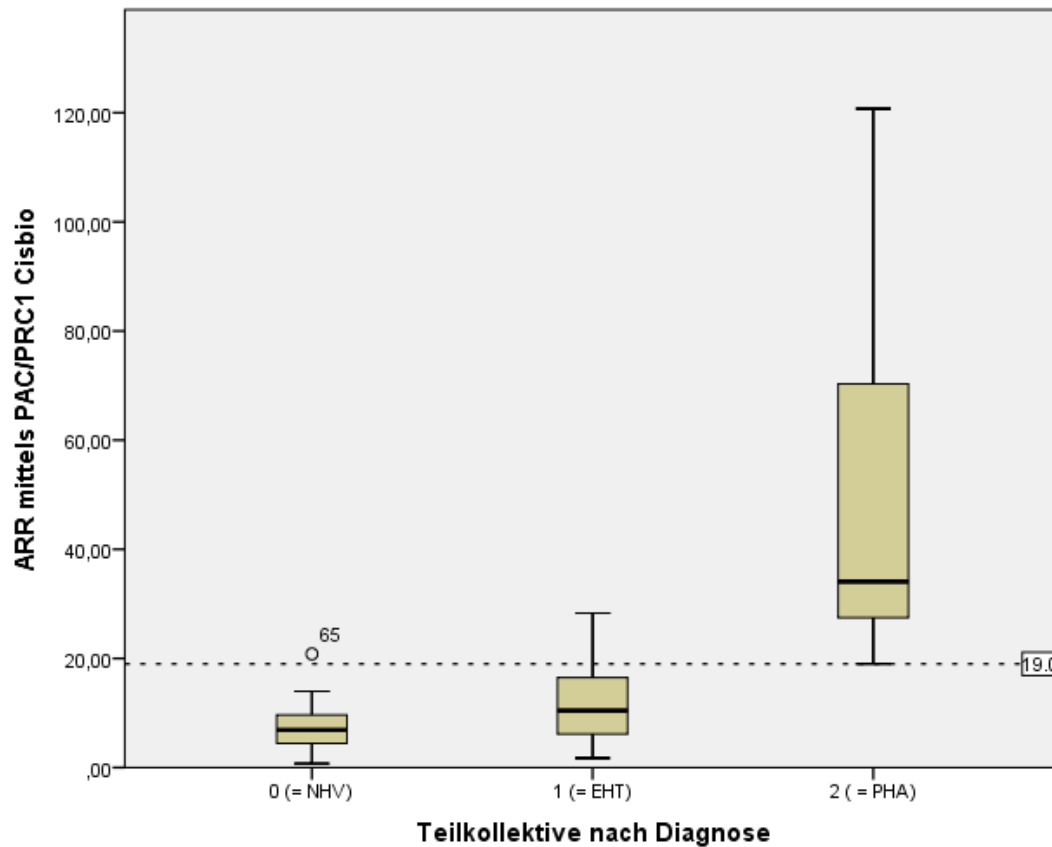


Abbildung 23: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (0, NHV), essentielle Hypertoniker (1, EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (2, PHA) anhand der Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Renin-Aktivität PRC1 Cisbio® (PAC/ PRC1 Cisbio®), einheitenlos da [(pg/ml)/(pg/ml)]; lineare Skalierung; unterer und oberer Whisker = Minimum/Maximum ohne Outlier (nummerierte Kreise); untere/obere Begrenzung der Box = 25. Perzentil und 75. Perzentil; Linie innerhalb der Box = Median; n = 46; primäres Kollektiv

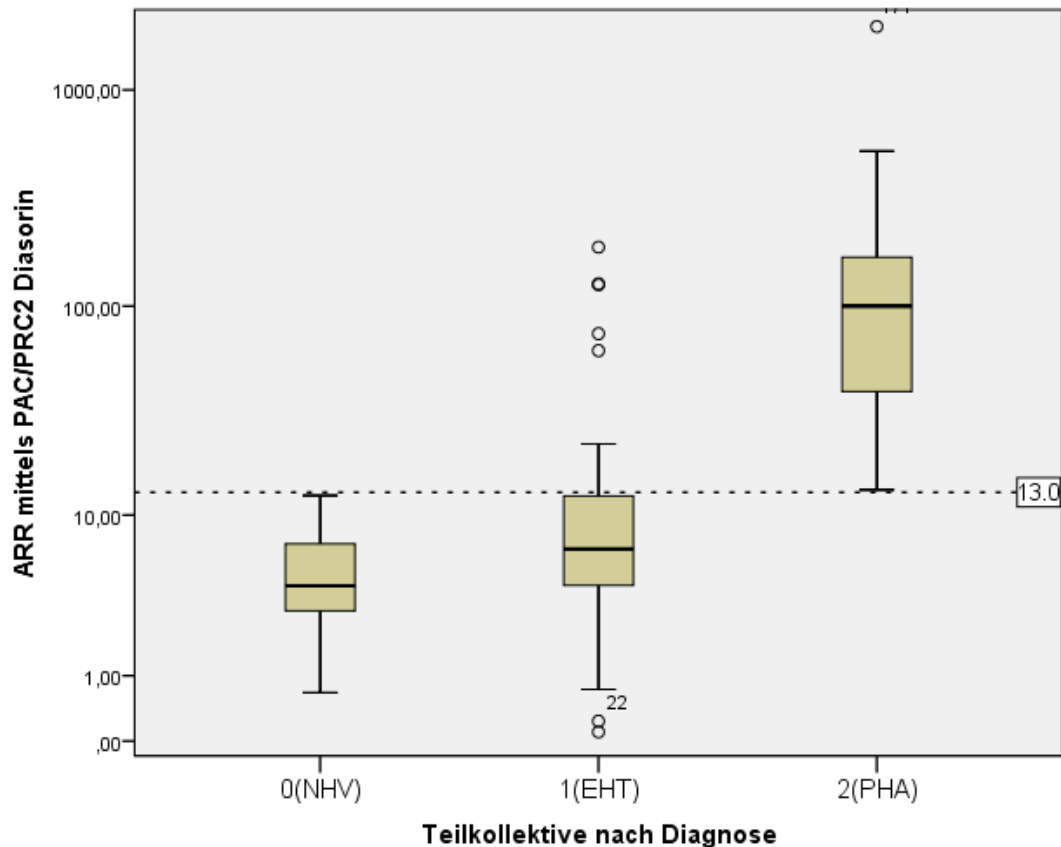


Abbildung 24: Unterteilung der Untergruppen normal healthy volunteers (NHV), essentielle Hypertoniker (EHT) und primärer Hyperaldosteronismus (PHA) anhand der Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (PAC/PRC2 Diasorin®) zur Conn-Diagnostik,
 einheitenlos da [(pg/ml)/(pg/ml)]; unterer und oberer Whisker = Minimum/Maximum ohne Outlier (nummerierte Kreise); untere/obere Begrenzung der Box = 25. Perzentil und 75. Perzentil; Linie innerhalb der Box = Median ; n = 92; erweitertes Kollektiv

In Abb. 21 und Tab. 20 wird ersichtlich, dass der ursprünglich ermittelte ARR Cut-Off von größer 270 zur Diagnose des PHA für die ARR mittels PAC/PRA - nach Ergänzung des sekundären Kollektivs - keine 100 %ige Sensitivität gewährleistet, sondern es zu 8/41 falsch Negativen kommt. Für eine 100 %ige Sensitivität müsste man den Cut-Off für einen positiven Screeningtest in diesem Kollektiv auf $ARR > 62$ senken (Spezifität 32 % durch einige extreme Outlier wie in Abb. 21 ersichtlich). Für den von uns ermittelten Kompromiss eines Cut-Off der $ARR > 130$ findet sich eine 95 %ige Sensitivität bei einer guten Spezifität von 83,7 % was wir als ausreichend sensitiv werteten. Im Wissen um teils schwankende ARR-Werte zu unterschiedlichen Messzeitpunkten [58] sollte bei Patienten im Grenzbereich deshalb eine erneute Bestimmung erwogen werden. Da im sekundären Kollektiv keine mit der PRC1 Cisbio® gemessenen Patienten vertreten waren, änderten sich hier der Cut-Off und Sensitivität/Spezifität mit dem erweiterten Kollektiv nicht.

5.3.2 Cut-Off anhand ROC-Analyse

Mittels ROC-Kurven (Receiver-Operator-Characteristics) Analyse und der Bestimmung der AUC (Area-under-the-Curve), wurde die Fähigkeit der drei verglichenen Assays und resultierender ARR-Quotienten verglichen, Patienten mit gesichertem Primärem Hyperaldosteronismus von Gesunden und essentiellen Hypertonikern zu unterscheiden.

Für die Assays PRC2 Diasorin® und PRA Diasorin® ergänzten wir die Daten unseres sekundären Kollektivs (siehe Tab. 5, 31). Damit konnten wir die statistische Power oder Trennschärfe bei der Unterscheidung zwischen NHV und EHT oder PHA durch eine größere Fallzahl in ihrer Aussagekraft verstärken.

Für den PRC1 Cisbio® waren keine weiteren Daten vorhanden daher konnte hier nur das kleinere, primäre Kollektiv verwendet werden.

Wir setzen die Definition eines optimalen Cut-Off fest mit der Bedingung bei kleinstmöglichem Anteil falsch-positiver Ergebnisse, alle tatsächlich erkrankten Patienten zu erkennen (Sensitivität 100 %), zeigten jedoch auch auf wie sich die Spezifität verändert, wenn man eine geringere Sensitivität als ausreichend definiert.

ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio ARR mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration PAC/ PRC1 Cisbio®: primäres Kollektiv

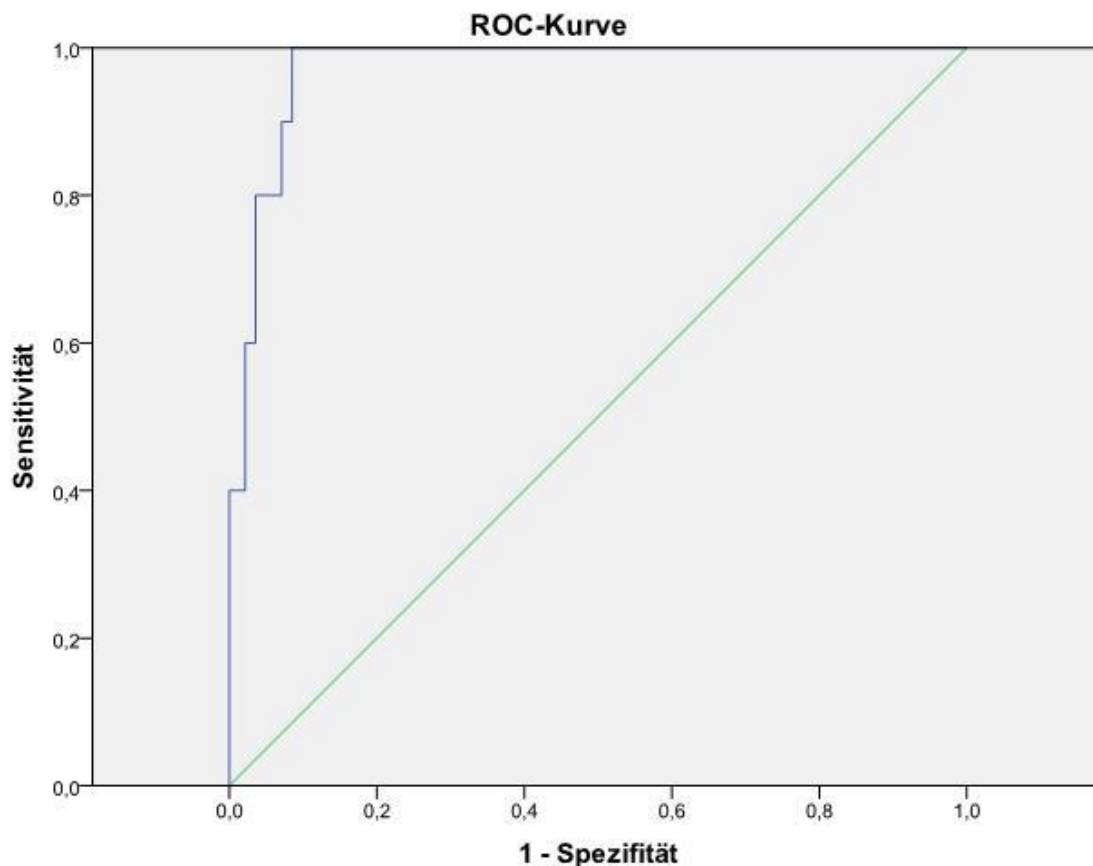


Abbildung 25: ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®, einheitenlos), X-Achse: 1-Spezifität; Y-Achse: Sensitivität; n = 46 aus dem primären Kollektiv; grüne Linie zeigt eine AUC 0,5 (entspricht Zufall/ Münzwurf)

Tabelle 21: Fläche unter der Kurve (AUC) für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®), n = 46 aus dem primären Kollektiv

AUC				
Variable(n) für Testergebnis: ARR für PRC1 Cisbio®				
Fläche	Standardfehler ^a	Asymptotische Signifikanz ^b	Asymptotisches 95 % Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,973	0,013	0,000	0,947	0,999

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese: Wahrheitsfläche = 0.5

In Abb. 25 und Tab. 20 zeigt sich für die aus dem Quotienten von PAC/PRC1 Cisbio® ermittelte ARR eine Area-under-the-curve der ROC-Kurve von 0,973 bei einem Standardfehler von 0,013 mit $p < 0,01$. Das 95 % Konfidenzintervall liegt zwischen 0,947 und 0,999. Dies entspricht einer Präzision von 97,3 % zur Unterscheidung PHA Vs. EHT/NHV. Die grüne Linie zeigt eine AUC von 0,5, was bezüglich der Vorhersage des korrekten Ergebnisses einem Münzwurf oder Zufall entspricht.

Für den Cut-Off von 19 betrug die Spezifität 91,5 % bei einer Sensitivität von 100 %, wenn man die Untergruppen NHV, EHT und PHA einschloss (n = 46).

ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio ARR mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration PAC/PRC2 Diasorin®: erweitertes Kollektiv

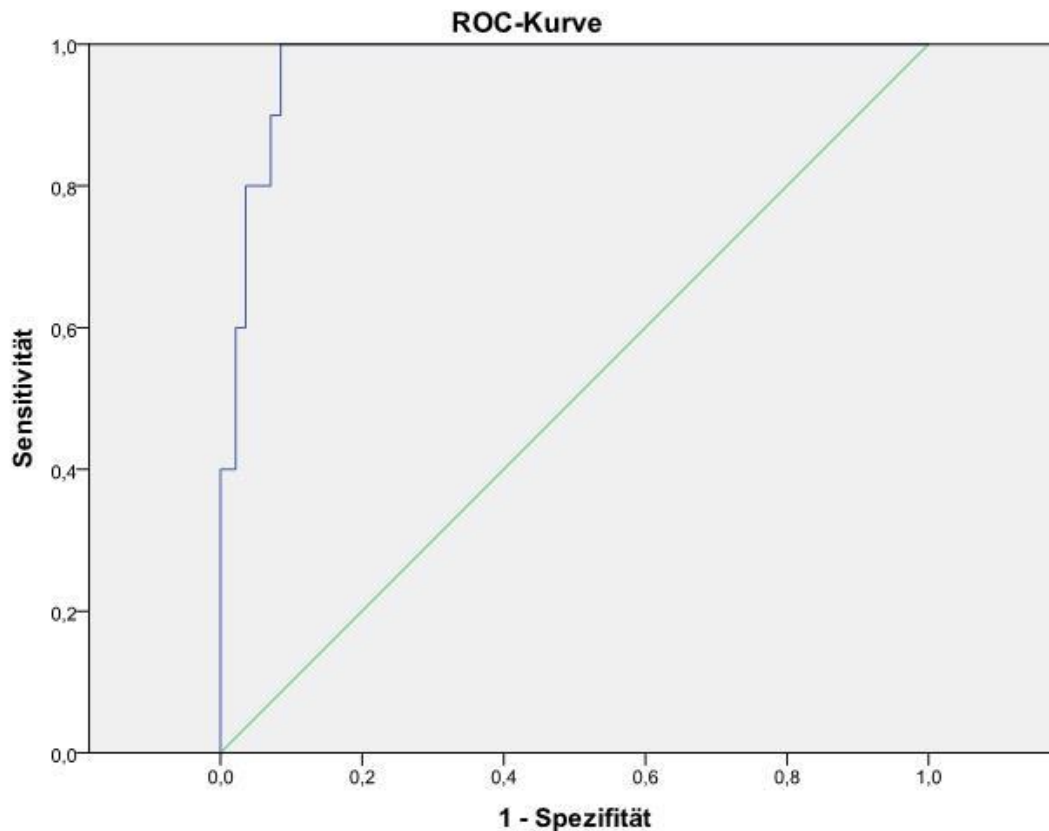


Abbildung 26: ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®, einheitenlos)
X-Achse: 1-Spezifität; Y-Achse: Sensitivität; n = 89 aus dem erweiterten Kollektiv; grüne Linie zeigt eine AUC 0,5 (entspricht Zufall/ Münzwurf)

Tabelle 22: Fläche unter der Kurve (AUC) für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Konzentration (ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®), n = 89 aus dem erweiterten Kollektiv

AUC				
Testergebnisvariable(n): ARR für PRC2 Diasorin®				
Bereich	Standardfehler ^a	Asymptotische Sig. ^b	Asymptotisches 95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,941	0,025	0,000	0,891	0,99

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese ist wahr mit einem Bereich von 0,5

Bei der Berechnung des optimalen Cut-Offs für die ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin® zeigt sich in Abb. 26 und Tab. 20 weiterhin eine 100 % Sensitivität bei Cut-Off 13, bei einer guten Spezifität von 85,2 %. Das 95 % Konfidenzintervall liegt im Bereich 0,891 bis 0,99. Die Präzision zur Unterscheidung der Entitäten betrug 94,1 % bei einer Area-under-the-Curve von 0,941 mit einem Standardfehler von 0,025 und $p < 0,01$. Die grüne Linie zeigt eine AUC von 0,5, was bezüglich der Vorhersage des korrekten Ergebnisses einem Münzwurf oder Zufall entspricht.

Setzt man den Cut-Off auf 22,08 erreicht man eine Sensitivität von 91,4 % bei einer Spezifität von 88,9 %.

ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio ARR mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität PAC/PRA: erweitertes Kollektiv

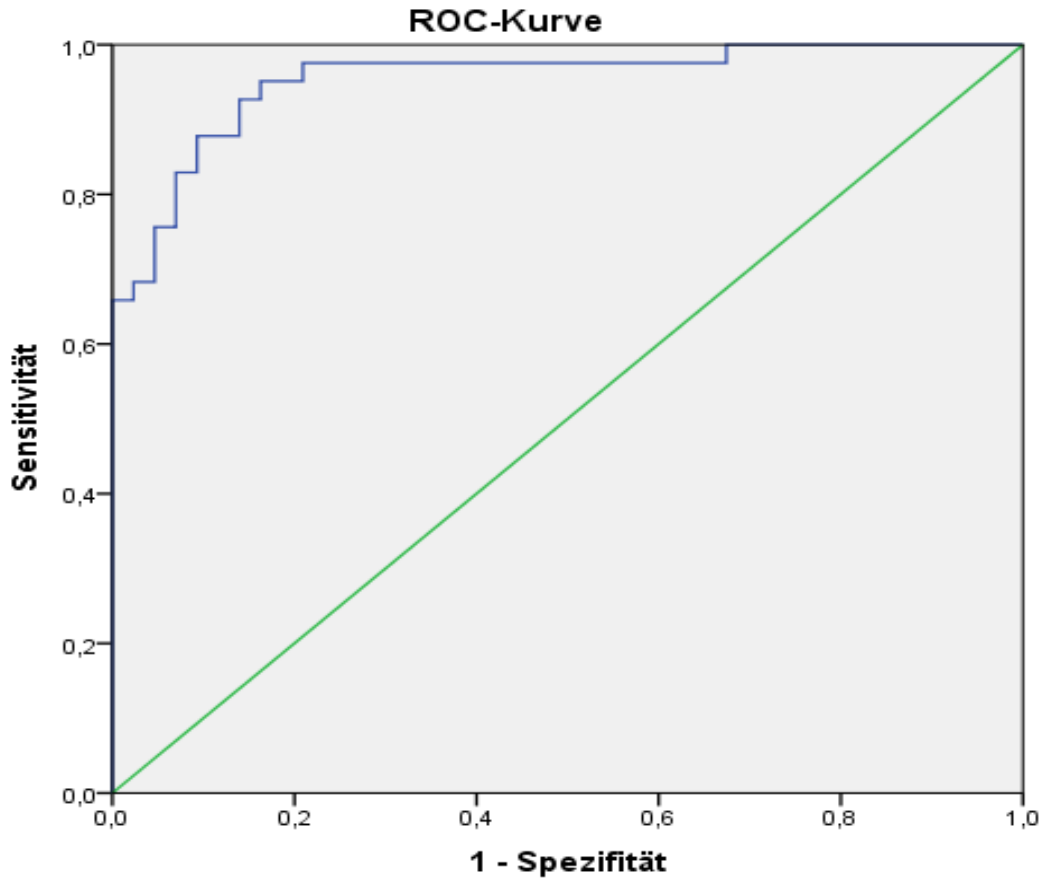


Abbildung 27: ROC-Kurve für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität, ARR mittels PAC/PRA, [(pg/ml)/(ng/ml/h)];
 X-Achse: 1-Spezifität; Y-Achse: Sensitivität; n = 84 aus dem erweiterten Kollektiv; grüne Linie zeigt eine AUC 0,5 (entspricht Zufall/ Münzwurf)

Tabelle 23: Fläche unter der Kurve (AUC) für Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (ARR mittels PAC/PRA), n = 84 aus dem erweiterten Kollektiv

AUC				
Testergebnisvariable(n): ARR für PRA				
Bereich	Standardfehler ^a	Asymptotische Sig. ^b	Asymptotisches 95 %-Konfidenzintervall	
			Untergrenze	Obergrenze
0,954	0,022	0,000	0,912	0,996

a. Unter der nichtparametrischen Annahme

b. Nullhypothese ist wahr mit einem Bereich von 0,5

In Abb. 27 und Tab. 23 zeigt sich für die ROC-Analyse der ARR mittels PAC/PRA eine Area-under-the-Curve von 0,954 mit einem Standardfehler von 0,022 und $p < 0,01$. Dies entspricht einer Präzision von 95,4 % zur Unterscheidung der Entitäten. Das 95 % Konfidenzintervall liegt im Bereich 0,912 bis 0,996. Die grüne Linie zeigt eine AUC von 0,5, was bezüglich der Vorhersage des korrekten Ergebnisses einem Münzwurf oder Zufall entspricht.

Bei einem Cut-Off der ARR von 62, der 100 % Sensitivität gewährleistet, ergibt sich eine unbefriedigende Spezifität von nur 32,6 %. Der Cut-Off liegt allerdings, nach Ergänzung des sekundären Patientenkollektivs auch deutlich unter dem, für das kleinere, primäre Kollektiv ermittelten Wert von 270. Unter Beibehaltung des ursprünglich ermittelten Cut-Off von 270 erreicht man im erweiterten Kollektiv nur eine Sensitivität von 75,6 % bei einer Spezifität von 95,3 %. Setzt man den Cut-Off auf 130, erreicht man in der ROC-Analyse eine Sensitivität von 95 % bei einer guten Spezifität von 83,7 %. Dies sahen wir als einen guten Kompromiss.

5.4 Trennung der Patientengruppen analog zum McKenna-Paradigma

In vorangegangenen Arbeiten [3, 49] war in kleineren Kollektiven allein anhand der Ermittlung der ARR im Verhältnis zur PAC eine eindeutige Zuordnung der getesteten Patienten zu einer, der auch von uns genutzten 5 Untergruppen (0-5, Erläuterung siehe Tabelle 17 und 3.3), von Stoffwechselerkrankungen des RAAS möglich. In unserem Kollektiv war dies für die Untergruppe PHA ebenfalls möglich. In den anderen Gruppen gab es jedoch teils kleinere Überschneidungen im Grenzbereich, die zwar starke, tendenziöse Aussagen erlauben, jedoch keine eindeutige Zuordnung anhand dieses Screening-Tests allein ermöglichen (siehe Abb. 28-30). Für die Patienten im Überlappungsbereich wäre bei Erstvorstellung eine weiterführende Diagnostik obligat. Die Patienten aus Gruppe 6 erklärten wir aufgrund der Substanzgruppe, Anzahl und/oder Dosis der eingenommenen Medikamente als zu stark medikamentös überlagert (siehe hierzu auch Empfehlungen zum Absetzen der Medikamente in Tab. 3) und klammerten sie aus der Analyse der Untergruppen gemäß McKenna-Paradigma aus.

Tabelle 24: Untergruppen angelehnt an das McKenna-Paradigma

Nummer	Abkürzung	Anzahl n =	Patientengruppe
0	NHV (normal healthy volunteers)	20	Normotensive Patienten/Probanden
1	EHT	43	Essentielle Hypertoniker
2	PHA	65	Primärer Hyper aldosteronismus
3	SHyperA	13	Sekundärer Hyper aldosteronismus
4	PHypoA	8	Primärer <u>Hypo</u> aldosteronismus
5	SHypoA	25	Sekundärer <u>Hypo</u> aldosteronismus
6	<i>Medikam.</i>	65	<i>medikamentös überlagert (nicht dargestellt)</i>

Eine Charakterisierung für diese Arbeit relevanter Vergleichsmerkmale der Untergruppen (Alter, BMI, Blutdruckwerte) findet sich in den Tabellen 19-26. Alle Altersangaben dort in Jahren, alle Blutdruckangaben (Systole, Diastole, MAD) in mm Hg.

Tabelle 25: Klinische Charakterisierung der Untergruppe normal healthy volunteers

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
normal healthy volunteers / NHV (Gruppe 0)	Mittelwert	43,65	124,50	75,60	91,90	27,54
	n	20	20	20	20	20
	Standardabweichung	15,90	12,53	7,07	6,90	5,66
	Minimum	19	111,00	58,00	76,33	20,07
	Maximum	75	169,00	85,00	106,33	39,78

Tabelle 26: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Essentielle Hypertoniker

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Essentielle Hypertoniker / EHT (Gruppe 1)	Mittelwert	59,42	145,86	89,70	108,42	29,08
	n	43	43	43	43	39
	Standardabweichung	12,97	18,04	12,11	12,62	4,86
	Minimum	31	124,00	59,00	83,33	18,73
	Maximum	83	200,00	120,00	145,00	40,04

Tabelle 27: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Primärer Hyperaldosteronismus

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Primärer Hyperaldosteronismus / PHA (Gruppe 2)	Mittelwert	56,68	155,67	91,50	112,89	27,97
	n	65	66	66	66	52
	Standardabweichung	13,18	20,30	10,78	12,85	6,61
	Minimum	22	116,00	60,00	86,67	19,94
	Maximum	84	200,00	120,00	146,67	43,60

Tabelle 28: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Sekundärer Hyperaldosteronismus

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Sekundärer Hyperaldosteronismus / SHyperA (Gruppe 3)	Mittelwert	67,77	137,62	82,85	101,10	31,49
	n	13	13	13	13	13
	Standardabweichung	13,31	14,26	11,45	9,70	7,41
	Minimum	40	110,00	60,00	84,33	19,84
	Maximum	86	160,00	100,00	116,67	42,83

Tabelle 29: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Primärer Hypoaldosteronismus

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Primärer Hypoaldosteronismus / PHypoA (Gruppe 4)	Mittelwert	55,25	132,00	83,63	99,75	28,84
	n	8	8	8	8	7
	Standardabweichung	21,76	22,78	14,37	16,04	10,36
	Minimum	26	96,00	53,00	67,33	18,04
	Maximum	79	158,00	98,00	118,00	46,87

Tabelle 30: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Sekundärer Hypoaldosteronismus

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Sekundärer Hypoaldosteronismus / SHypoA (Gruppe 5)	Mittelwert	54,76	136,44	84,96	102,12	26,87
	n	25	25	25	25	25
	Standardabweichung	17,61	21,85	12,53	14,05	7,00
	Minimum	21	91,00	60,00	73,00	17,24
	Maximum	82	188,00	104,00	126,67	52,98

Tabelle 31: Klinische Charakterisierung der Untergruppe Medikamenteneffekte

Auswertung ausgewählter Merkmale						
McKenna-Gruppe		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Medikamenteneffekte / Medis (Gruppe 6)	Mittelwert	62,06	138,60	82,48	101,18	27,94
	n	65	65	65	65	65
	Standardabweichung	16,01	18,23	11,68	12,37	6,70
	Minimum	23	108,00	52,00	74,00	16,10
	Maximum	90	197,00	115,00	133,33	58,46

Tabelle 32: Klinische Charakterisierung des Gesamtkollektivs (primäres und sekundäres Kollektiv)

Auswertung ausgewählter Merkmale						
Gesamtkollektiv (primär und sekundär)		Alter	Systole	Diastole	MAD	BMI
Gesamtsumme	Mittelwert	57,90	142,92	86,00	104,97	28,23
	n	240	240	240	240	220
	Standardabweichung	15,77	20,83	12,26	13,78	6,51
	Minimum	19	91,00	52,00	67,33	16,10
	Maximum	90	200,00	120,00	146,67	58,46

5.4.1 Trennung der Untergruppen anhand ARR mittels PAC/PRA

In Abb.28 zeigt sich für den PRA Assay eine eindeutige Trennung der PHA-Patienten von allen anderen Untergruppen unseres Kollektivs bei einer $ARR > 270$ (maximal 1570). Eine zusätzliche Einschränkung durch die Verwendung einer Mindestkonzentration an Aldosteron erscheint bei unserem Kollektiv (PAC-Werte von 83,7-314 $\mu\text{g}/\text{ml}$ für PHA) nicht sinnvoll. Auch der sekundäre Hyperaldosteronismus (SHyperA), ließ sich in unserem vom McKenna-Paradigma abgeleiteten Diagramm eindeutig abgrenzen mit Aldosteron-Konzentrationen $PAC > 210 \mu\text{g}/\text{ml}$ bei gleichzeitiger $ARR < 270$. Für die Untergruppen NHV, EHT, PHypoA und SHypoA zeigen sich Überlappungen im Grenzbereich, die eine eindeutige Zuordnung durch diesen Parameter allein, zumindest in unserem Kollektiv, verhindern. Die genauere Verteilung der Messwerte aller Untergruppen ist in Tab. 33 ersichtlich.

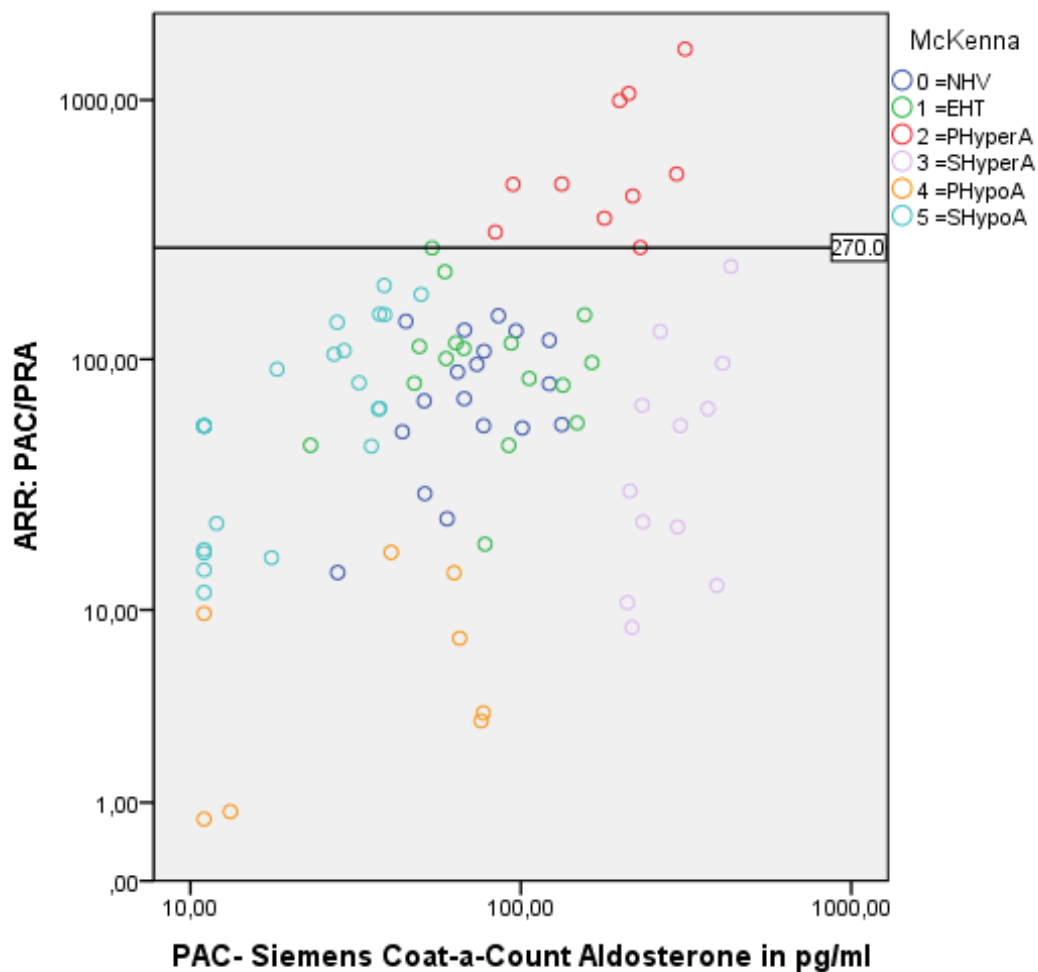


Abbildung 28: Trennung der Patienten analog zum McKenna-Paradigma mit PRA Assay

X-Achse: Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC) [$\mu\text{g}/\text{ml}$]; Y-Achse: Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (ARR mittels PAC/PRA) [$(\mu\text{g}/\text{ml})/(\text{ng}/\text{ml}/\text{h})$]; farbige Unterscheidung der Untergruppen siehe rechts oben; logarithmische Skalierung beider Achsen; $n = 92$ aus erweitertem Kollektiv

Tabelle 33: Mittelwerte und Messwertbereiche für PRA

McKenna (n =)	PAC (Siemens Coat-A-Count® Aldosterone) in pg/ml		PRA Diasorin® AT-I RIA in ng/ml/h		ARR-PRA	
	MW ± SD	Range	MW ± SD	Range	MW ± SD	Range
0 = NHV(18)	75,89 ± 29,44	27,90-133,00	1,19 ± 0,66	,32-2,53	81,18 ± 40,94	14,31-147,41
1 = EHT(18)	87,14 ± 41,96	23,10-164,00	1,08 ± 1,03	,20-4,17	149,43 ± 152,31	18,68-269,50
2 = PHA(10)	195,94 ± 76,71	83,70-314,00	,38 ± ,22	,20-,85	645,18 ± 423,04	270,59-1570,00
3 = SHyperA(13)	297,83 ± 62,36	210,00-432,00	10,33 ± 9,49	1,89-31,00	79,94 ± 88,88	8,41-228,57
4 = PHypoA(8)	44,58 ± 29,38	11,00-77,00	11,75 ± 8,98	1,14-24,30	7,11 ± 6,23	,73-17,31
5 = SHypoA(25)	23,19 ± 15,62	11,00-49,80	,41 ± ,26	,20-1,07	92,75 ± 79,21	11,83-193,00

5.4.2 Trennung der Untergruppen anhand ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®

In Abb. 29 zeigt sich eine gute Trennung der Untergruppen durch die ARR mittels PAC/PRC1 Cisbio®, wobei im Vergleich zur PRA hier jeweils ein Normotensiver (NHV) und ein essentieller Hypertoniker (EHT) falsch positiv gescreent werden, sofern man eine Sensitivität von 100 % der PHA durch einen niedrigstmöglichen Cut-Off der ARR > 19 (maximal 120) erreichen will. Die Gruppe sekundärer Hyperaldosteronismus lässt sich eindeutig abgrenzen (PAC > 210 pg/ml, ARR < 19), während es in den anderen Untergruppen kleinere Überlappungen im Grenzbereich gibt, die grafisch und aus Tab. 34 ersichtlich sind.

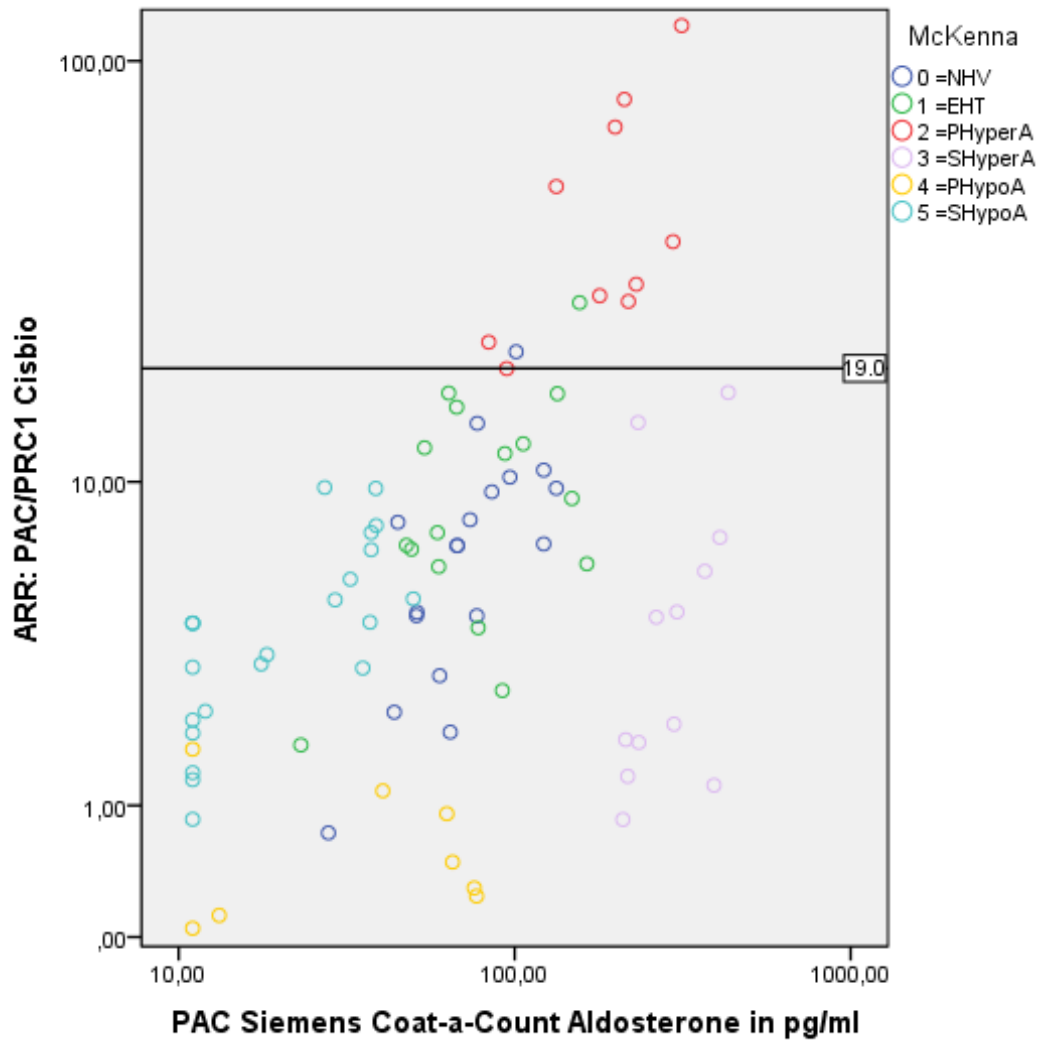


Abbildung 29: Trennung der Patienten analog zum McKenna-Paradigma mit PRC1 Cisbio®
 X-Achse: Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC) [pg/ml]; Y-Achse: Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (ARR mittels PAC/PRA) [einheitenlos]; logarithmische Skalierung beider Achsen ; farbige Unterscheidung der Untergruppen siehe rechts oben; n = 92

Tabelle 34: Mittelwerte und Messwertbereiche für PRC1 Cisbio®

McKenna Untergruppe	PAC (Siemens Coat-A-Count® Aldosterone) in pg/ml		PRC1 Cisbio® III. Generation in pg/ml		ARR = PAC / PRC1 Cisbio®	
	MW ± SD	Range	MW ± SD	Range	MW ± SD	Range
(n =)						
0 = NHV(18)	75,89 ± 29,44	27,90-133,00	14,29 ± 9,04	4,85-38,20	7,37 ± 4,85	,73-20,82
1 = EHT(18)	87,14 ± 41,96	23,10-164,00	10,78 ± 8,42	3,84-34,50	11,72 ± 7,74	1,75-28,30
2 = PHA(10)	195,94 ± 76,71	83,70-314,00	4,91 ± 2,32	2,60-7,94	48,86 ± 32,78	18,98-120,77
3 = SHyperA(13)	297,83 ± 62,36	210,00-432	110,66 ± 90,57	16,60-320,00	7,86 ± 10,97	,86-16,62
4 = PHypoA(8)	44,58 ± 29,38	11,00-77,00	145,64 ± 113,14	6,51-320,00	,62 ± ,58	,05-1,69
5 = SHypoA(25)	23,19 ± 15,62	11,00-49,80	5,59 ± 2,88	2,60-12,80	6,05 ± 5,59	,86-9,86

5.4.3 Trennung der Untergruppen anhand ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin®

In Abb. 30 erkennt man, dass auch mit der ARR mittels PAC/PRC2 Diasorin® eine eindeutige Abgrenzung unserer PHA-Patienten von den anderen Untergruppen möglich ist, wenn man einen Cut-Off von ARR>13 ansetzt. Auch die Gruppe SHyperA ließ sich mit den Beschränkungen ARR<13 und PAC>210 eindeutig abgrenzen. Für die anderen Untergruppen gab es Überlappungen im Grenzbereich, die aus Tab. 35 ersichtlich sind.

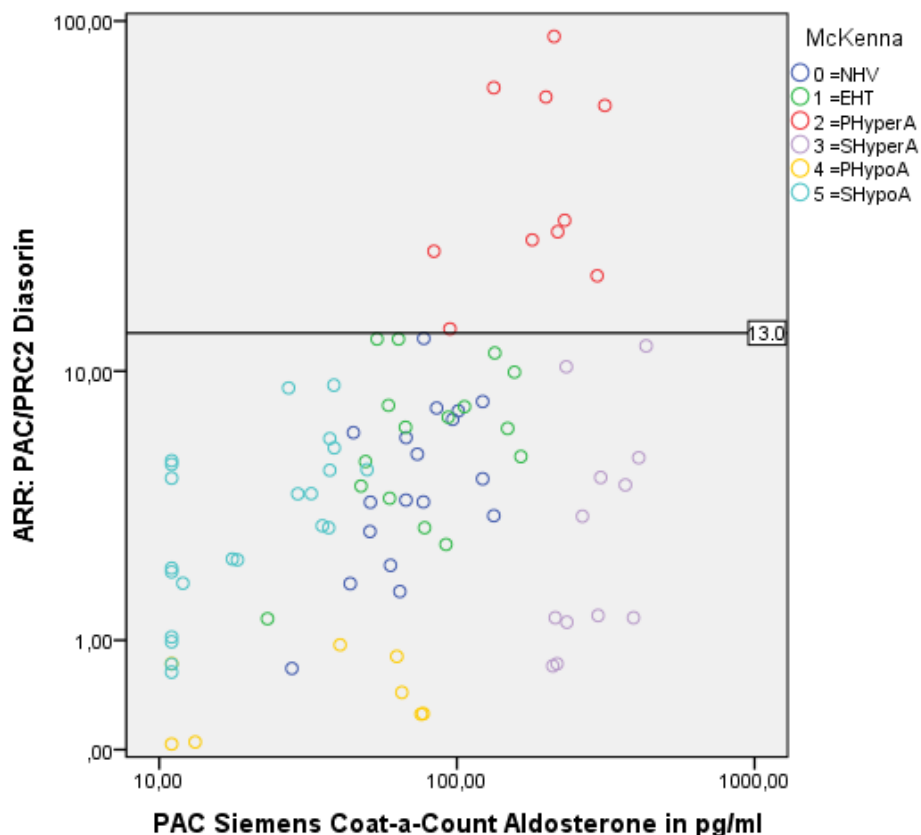


Abbildung 30: Trennung der Patienten analog zum McKenna-Paradigma mit PRC2 Diasorin®
 X-Achse: Plasma-Aldosteron-Konzentration (PAC) [pg/ml]; Y-Achse: Aldosteron-Renin-Ratio mittels Plasma-Aldosteron-Konzentration/Plasma-Renin-Aktivität (ARR mittels PAC/PRA) [einheitenlos]; logarithmische Skalierung bd. Achsen; farbige Unterscheidung der Untergruppen siehe rechts oben; n = 92

Tabelle 35: Mittelwerte und Messwertbereiche für PRC2 Diasorin®

McKenna	PAC (Siemens Coat-A-Count® Aldosterone) in pg/ml		PRC2 Diasorin® Direct Renin		ARR = PAC / PRC2 Diasorin®	
	MW ± SD	Range	MW ± SD	Range	MW ± SD	Range
(n =)						
0=NHV(18)	75,89 ± 29,44	27,90-133,00	19,67 ± 10,75	6,18-41,46	5,00 ± 2,93	,67-12,52
1=EHT(18)	87,14 ± 41,96	23,10-164,00	14,32 ± 8,80	4,32-34,44	6,77 ± 5,65	1,29-12,48
2=PHA(10)	195,94 ± 76,71	83,70-314,00	6,35 ± 4,02	2,04-15,48	40,78 ± 25,90	13,38-90,60
3=SHyperA(13)	297,83 ± 62,36	210,00-432,00	146,73 ± 104,87	22,62-300,00	3,88 ± 5,20	,70-11,90
4=PHypoA(8)	44,58 ± 29,38	11,00-77,00	181,19 ± 123,94	15,18-300,00	,44 ± ,35	,04-,94
5=SHypoA(25)	23,19 ± 15,62	11,00-49,90	6,92 ± 4,42	2,10-17,34	3,77 ± 4,02	,63-9,06

5.5 Effekte antihypertensiver Medikation auf die Renin-Bestimmung

Da die moderne Bluthochdrucktherapie häufig aus mehreren Substanzen besteht, ist es nicht unproblematisch, in einem ambulanten Setting Aussagen über den Effekt einzelner Präparate zu machen. Um tendenzielle Aussagen zur Sensitivität der verschiedenen Renin-Assays gegenüber den unterschiedlichen, antihypertensiven und sonstigen beeinflussenden Substanzgruppen machen zu können, erfolgte eine Einteilung der Patienten unter Medikation in 2 Gruppen. Bei Mehrfachmedikation erfolgte die Einteilung nach Einschätzung zweier unabhängiger Experten sowie anhand Dosierungen und Literaturangaben oder Studien zum Einfluss auf die Messverfahren [30, 53, 59-61]. Bei fehlen einer gezielten Intervention (wie auch in anderen Arbeiten), sind diese quantitativen Ergebnisse jedoch eher als Orientierung zu betrachten.

- 1) Patienten mit insgesamt Renin-stimulierender Medikation
Hierunter fielen 69 Patienten, die mit ACE-Hemmern, Calcium-Antagonisten, ATI-Antagonisten, Thiaziden, Schleifendiuretika, Spironolacton oder auch oralen Antikonzeptiva therapiert wurden.
- 2) Patienten mit insgesamt Renin-supprimierender Medikation
In diese Gruppe fielen 16 Patienten, die Beta-Blocker, Clonidin oder NSAR einnehmen mussten.

Für diese Teilkollektive ermittelten wir Mittelwerte und verglichen sie mit denen der Patienten ohne Blutdruckmedikation (n = 18), um tendenzielle Aussagen zur Inter- und Intra-Assay-Sensitivität gegenüber oben genannten Substanzgruppen zu ermöglichen.

Tabelle 36: Einfluss Renin-stimulierender/Renin-supprimierender Medikation auf die Assays

Assay	Patienten ohne Medikation (n = 18)	Renin-stimulierende Medikation (n = 69)	Renin-supprimierende Medikation (n = 16)
Ø Cisbio® Renin III.Gen. (PRC1 Cisbio®)	14,28 pg/ml	60,10 pg/ml = 420 % des Ausgangswertes	9,28 pg/ml = 65 % des Ausgangs- wertes
Ø Diasorin® Liaison (PRC2 Diasorin®)	19,67 pg/ml	82,44 pg/ml = 419 % des Ausgangswertes	12,54 pg/ml = 64 % des Ausgangs- wertes
Ø Diasorin® AT-I RIA (PRA)	1,19 ng/ml/h	5,26 ng/ml/h = 442 % des Ausgangswertes	0,58 ng/ml/h = 49 % des Ausgangs- wertes

Dargestellt sind jeweils die Mittelwerte der Renin-Assays (linke Spalte) für die im Tabellenkopf genannten Untergruppen. Farblich dargestellt finden sich darunter die prozentualen Abweichungen der Messergebnisse unter Renin-stimulierender oder –supprimierender Medikation im Vergleich zum Mittelwert der gesunden Probanden, ohne das Renin beeinflussende Medikation.

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass die drei Renin-Assays soweit durch unseren indirekten Vergleich differenzierbar, vergleichbar vulnerabel für Medikamenteneinflüsse sind, wobei die PRA in beide Richtungen stärker reagiert als die PRC Assays. Die gemittelten Normwerte betragen für PRC1 Cisbio® 14,28 pg/ml, für PRC2 Diasorin® 19,67 pg/ml und für den PRA Assay 1,19 ng/ml/h. Die PRC1 Cisbio® zeigte unter Renin-stimulierender Medikation einen Anstieg der gemittelten Werte auf 60,1 pg/ml oder 420 % des Ausgangswertes, die PRC2 Diasorin® auf fast identische 419 % oder 82,44 pg/ml und die PRA war mit 5,26 ng/ml/h oder 442 % des Ausgangswertes etwas stärker empfindlich. Unter Renin-supprimierender Medikation fiel der Mittelwert der PRC1 Cisbio® auf 9,28 pg/ml oder 65 % des Ausgangswertes ab, die PRC2 Diasorin® sank auf 12,54 pg/ml oder 64 % des Ausgangswertes. Die PRA reagiert jedoch auf Renin-supprimierende Medikation mit einem stärkeren Abfall gegenüber den PRC-Assays, auf 0,58 ng/ml/h, was 49 % des Ausgangswertes entspricht. Wie in Tab. 36 deutlich wird, sind die beiden PRC Assays prozentual gesehen ähnlich vulnerabel gegenüber den Einflüssen der Renin-stimulierenden und Renin-supprimierenden Medikamentengruppen. Unter 5.2.1 stellten wir bereits fest, dass der PRC2 Diasorin® Liaison tendenziell höhere Werte misst als der PRC1 Cisbio®, was sich auch beim Vergleich der Medikamenteneinflüsse widerspiegelt. So misst der PRC2 Diasorin® Liaison unter Renin-stimulierender Medikation Werte, die im Mittel 37,2 % höher liegen, als die mit dem PRC1 Cisbio® bestimmten. Unter Renin-supprimierender Medikation zeigt sich ein ähnliches Bild, der PRC2 Diasorin® liefert im Durchschnitt Ergebnisse, die um 35,1 % höher liegen als die mit dem PRC1 Cisbio® ermittelten (Abb. 31, Tab. 36).

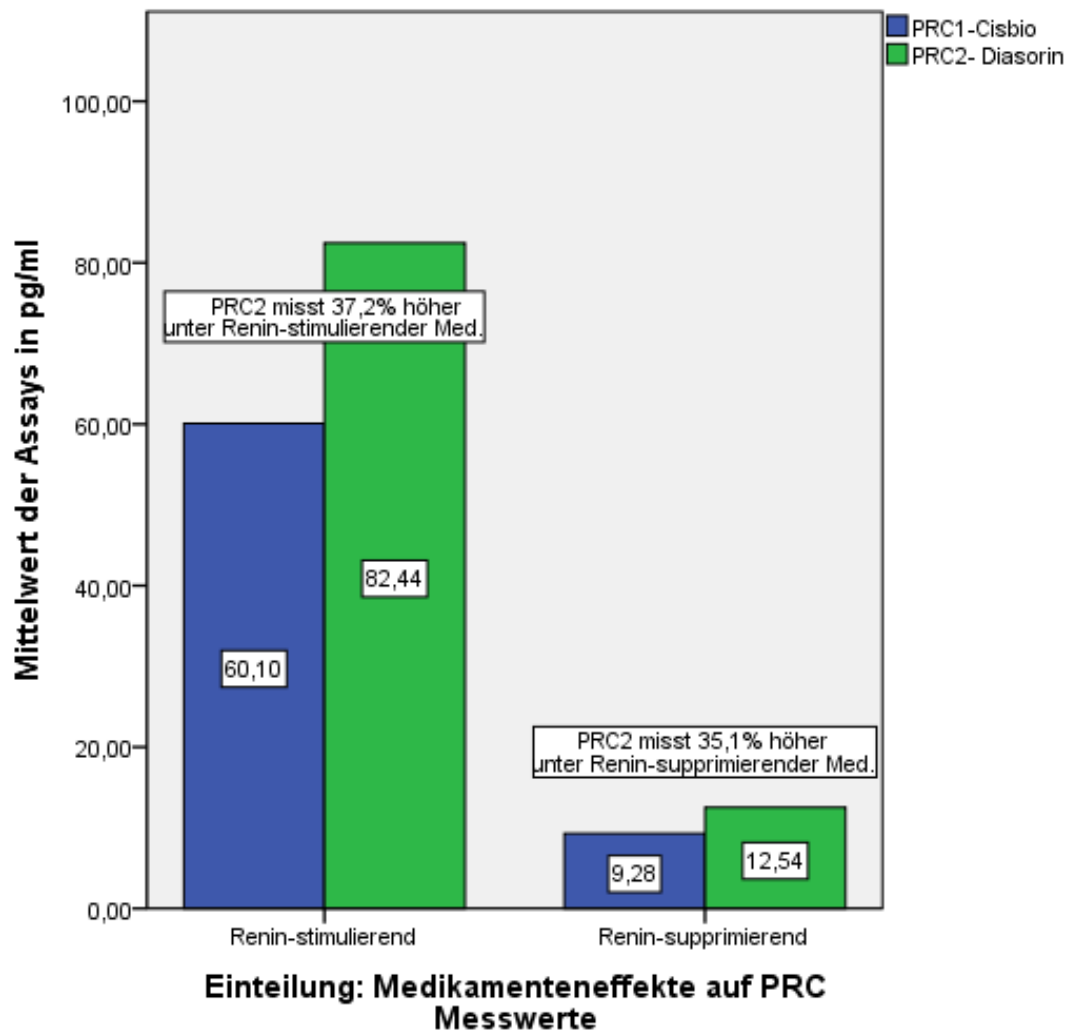


Abbildung 31: Einfluss antihypertensiver Medikation auf Ergebnisse der Renin-Bestimmung
 Gruppierung: siehe 5.4; n = 85; [pg/ml]

5.6 Korrelation von RAAS-Messwerten zu anderen Vitalparametern

Blutdruckwerte:

In einigen Arbeiten konnte gezeigt werden, dass möglicherweise ein hoher Zusammenhang beziehungsweise eine signifikante Korrelation zwischen den Aldosteronspiegeln und den absoluten Blutdruckwerten besteht [16, 62, 63]. Wir untersuchten deshalb unser gesamtes primäres Kollektiv auf Zusammenhänge zwischen Aldosteron, Renin, der ARR und den verschiedenen Blutdruckparametern Systole, Diastole und arteriellem Mitteldruck MAD.

Tabelle 37: Korrelation und Signifikanz von Aldosteron-Renin-Ratio mittels der drei Renin-Assays zu Blutdruckparametern

ARR ermittelt mittels:		MAD in mm Hg	Systole in mm Hg	Diastole in mm Hg
PAC/ PRC1 Cisbio®	Korrelation nach Pearson	,329**	,339**	,267**
	Signifikanz (2-seitig)	,000	,000	,001
	n = 157	156	156	156
PAC/PRC2 Diasorin®	Korrelation nach Pearson	,327**	,329**	,273**
	Signifikanz (2-seitig)	,000	,000	,001
	n = 157	156	156	156
PAC/PRA	Korrelation nach Pearson	,347**	,367**	,274**
	Signifikanz (2-seitig)	,000	,000	,001
	n = 157	156	156	156

Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig).**

Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).*

Wie in Tab. 37 deutlich wird, besteht eine hochsignifikante Korrelation zwischen den mittels der drei Renin-Assays ermittelten ARR und den Blutdruckwerten. Dies gilt für unser primäres Patientenkollektiv, wobei die Korrelation für die PAC/PRC1 Cisbio®, 33,9 % für die systolischen, 26,7 % für diastolischen und 32,9 % für die mittleren arteriellen Blutdruckwerte beträgt. Für die ARR, errechnet mit PAC/PRC2 Diasorin®, betragen die Korrelationen 32,9 % für die systolischen, 27,3 % für diastolischen und 32,7 % für die mittleren arteriellen Blutdruckwerte. Eine nochmals geringfügig höhere Korrelation besteht zwischen ARR und den Blutdruckparametern, wenn man die PAC/PRA als Berechnungsgrundlage annimmt, nämlich: 36,7 % für die systolischen, 27,4 % für diastolischen und 34,7 % für die mittleren arteriellen Blutdruckwerte. All diese Werte sind signifikant mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von $p < 0,05$ (* in Tab. 37) beziehungsweise $p < 0,01$ (** in Tab. 37).

Beispielhaft grafisch dargestellt wird dieser im Mittel lineare Zusammenhang in Abb. 32, wo man die für steigende ARR (ermittelt durch den in Deutschland am gebräuchlichsten Quotient mittels PAC/PRC2 Diasorin®), ebenfalls steigenden MAD-Werte erkennen kann.

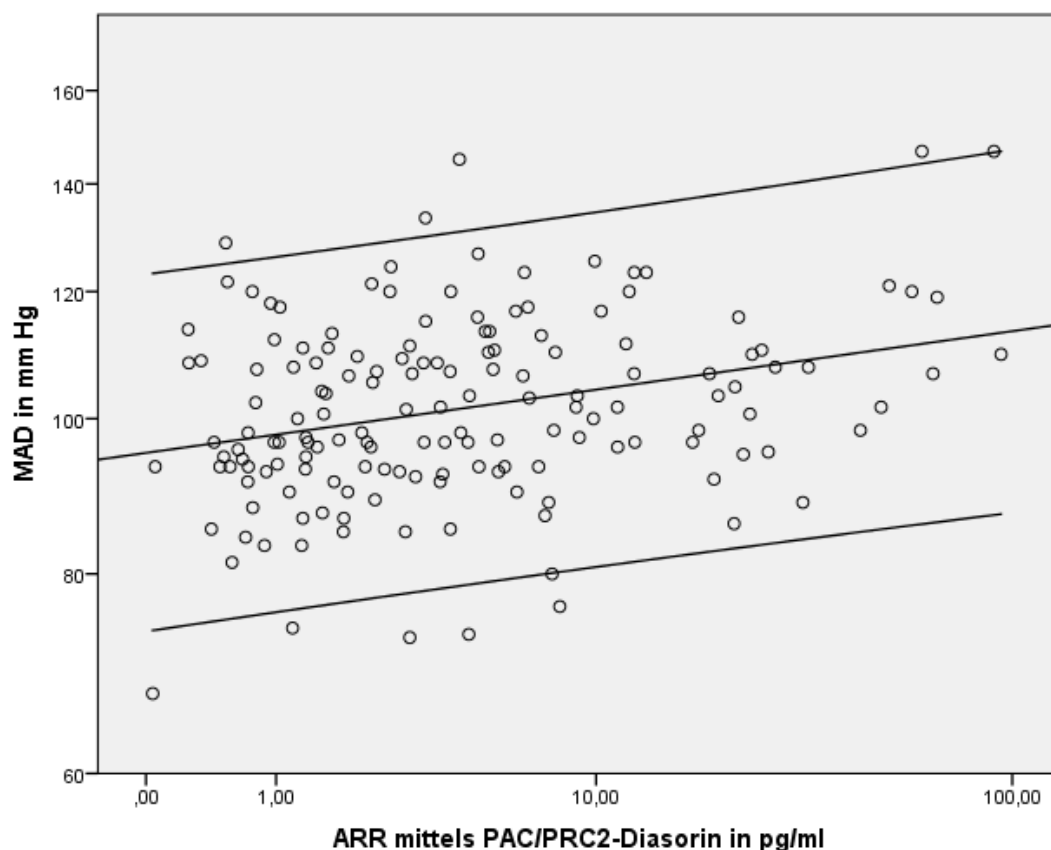


Abbildung 32: Korrelation zwischen mittlerem arteriellen Druck (MAD) und Aldosteron-Renin-Ratio (ARR) ermittelt mit den Assays PAC/PRC2 Diasorin®

n = 157; p-Wert für Regressionskoeffizient <0,05; mittlere Regressionsgerade repräsentiert linearen Anstieg von MAD bei steigender ARR; obere und untere Gerade zeigen das 95 % Konfidenzintervall

Eine in der Literatur ebenfalls beschriebene, starke Korrelation zwischen den absoluten Aldosteron-Werten und den Blutdruckparametern [16] fand sich in diesem Ausmaß für unsere Population nicht. Die Korrelationen betragen hier, bei unbefriedigender Signifikanz im T-Test, nur 8,2 % für die systolischen; 3,2 % für die diastolischen; und 5,9 % für die mittleren arteriellen Blutdruckwerte (siehe Tab. 37).

Tabelle 38: Korrelation und Signifikanz von Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC zu Blutdruckparametern

Korrelationen					
PAC in pg/ml		Siemens Coat-A-Count® Aldosterone	MAD in mm Hg	Systole in mm Hg	Diastole in mm Hg
Siemens Coat-A-Count® Aldosterone	Korrelation nach Pearson	1	,059	,082	,032
	Signifikanz (2-seitig)		,462	,310	,692
	n	157	156	156	156

Auch für die isolierten Renin-Werte der beiden PRC Assays und der PRA fand sich keine vergleichbar starke (erwartbar negative) Korrelation zu den Blutdruckmesswerten. Diese lagen sämtlich unterhalb von 20 % Vorhersagewahrscheinlichkeit und waren nur für die Aussage: „Je niedriger der gemessene Reninwert, desto höher tendenziell der diastolische Blutdruck“ mit $p < 0,05$ signifikant.

Tabelle 39: Korrelation und Signifikanz zwischen Renin mit 3 verschiedenen Renin-Assays und Blutdruckwerten

Korrelationen							
		PRC1 Cisbio® III. Gen	PRC2 Diasorin® Direct Renin	PRA Diasorin® AT-I RIA	Systole	Diastole	MAD
PRC1 Cisbio® III. Gen	Pearson- Korrelation	1	,948**	,861**	-,044	-,194*	-,141
	Sig. (2- seitig)		,000	,000	,586	,015	,078
	n	157	157	157	157	157	157
PRC2 Diasorin® Direct Renin	Pearson- Korrelation	,948**	1	,873**	-,062	-,186*	-,145
	Sig. (2- seitig)	,000		,000	,440	,020	,071
	n	157	157	157	157	157	157
PRA Diasorin® AT-I RIA	Pearson- Korrelation	,861**	,873**	1	,005	-,165*	-,099
	Sig. (2- seitig)	,000	,000		,949	,039	,216
	n	157	157	157	157	157	157

Korrelation ist bei Niveau 0,01 signifikant (zweiseitig).**

Korrelation ist bei Niveau 0,05 signifikant (zweiseitig).*

Kalium

Während in früheren Studien zur PRA und PRC nur hypokaliämische Hypertoniker gescreent wurden [18], verzichteten wir zum Zwecke größtmöglicher Sensitivität und aufgrund teils bestehender Kalium-Substitution aus verschiedenen Gründen (zum Beispiel auch die Therapie mit Schleifendiuretika) auf diese Vorauswahl, was sich auch mit aktuell angewendeten Leitlinien deckt [6].

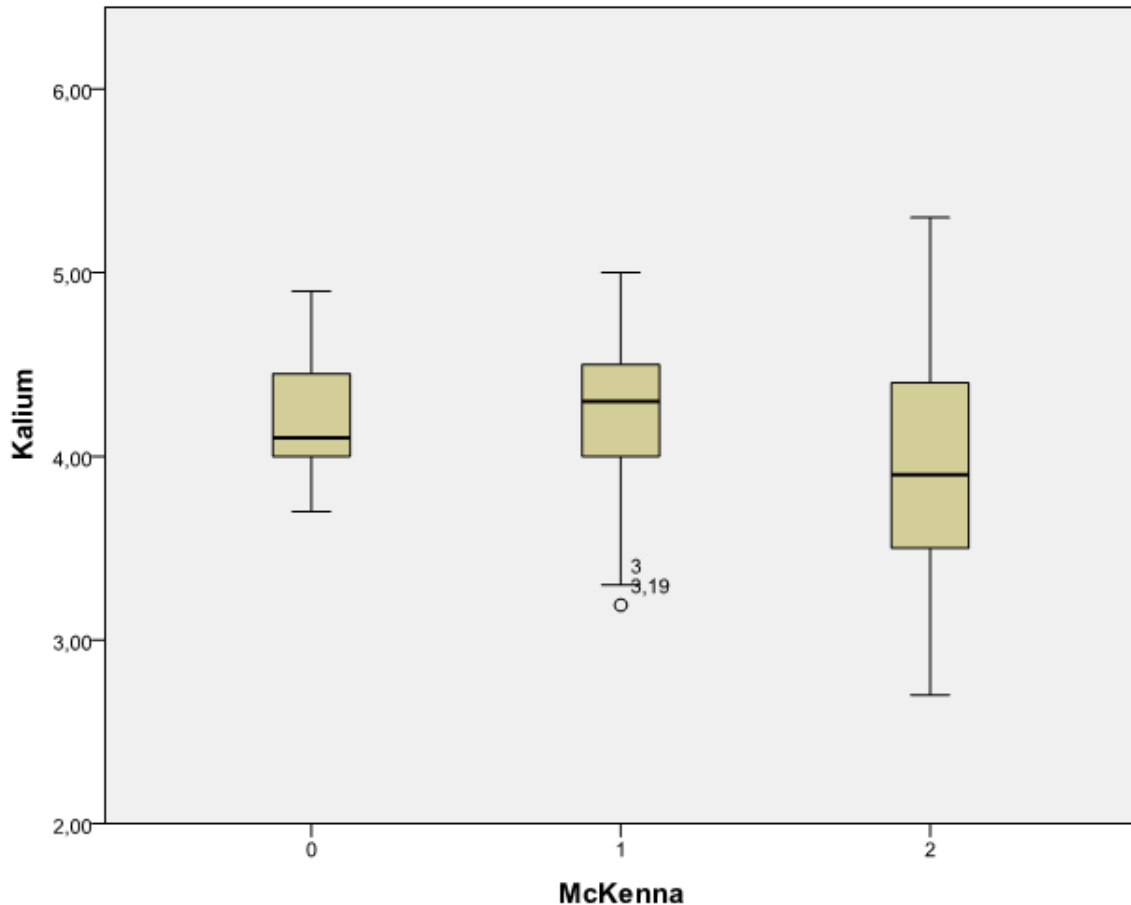


Abbildung 33: Kaliumspiegel bei den Untergruppen nach McKenna

Y-Achse: Kaliumspiegel [mmol/l]; X-Achse: Untergruppen nach McKenna 0 = normal healthy volunteers / NHV, 1 = Essentielle Hypertoniker / EHT, 2 = Primärer Hyperaldosteronismus / PHA; n = 104; erweitertes Patientenkollektiv

In Abbildung 24 erkennt man Tendenzen zum Kaliumspiegel im Serum. Um die statistische Trennschärfe zu erhöhen, wurde hier das sekundäre Patientenkollektiv ergänzt. Bei normotensiven (NHV = 0) liegt Kalium mit 3,7-4,90 mmol/l (Mittel 4,20±0,34 mmol/l) durchgehend im Normbereich. Bei essentiellen Hypertonikern (EHT = 1) ist Kalium mit 3,19-5,00 mmol/l (Mittelwert 4,25±0,41) häufiger im hochnormalen Bereich. Beim Primären Hyperaldosteronismus (PHA = 2) werden bei einem Wertebereich von 2,70-5,30 mmol/l (Mittel 3,94±0,64 mmol/l) Abweichungen sowohl in den (erwartungsgemäß) hypokaliämischen Bereich als auch Ausreißer in den hyperkaliämischen Bereich gemessen. Der durchschnittliche Kaliumspiegel für Patienten mit PHA liegt also, trotz Substitution bei einigen Patienten, signifikant unterhalb dessen für gesunde Probanden oder essentielle Hypertoniker.

Tabelle 40: Kaliumspiegel in mmol/l für Gesunde (NHV) , essentielle Hypertoniker (EHT) und primären Hyperaldosteronismus (PHA) im erweiterten Kollektiv

Kalium bei NHV					
	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Kalium	20	3,70	4,90	4,20	,34

Kalium bei EHT					
	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Kalium	37	3,19	5,00	4,24	,41

Kalium bei PHA					
	n	Minimum	Maximum	Mittelwert	Standardabweichung
Kalium	65	2,70	5,30	3,93	,60

6. Diskussion

6.1 Klinische Relevanz

Ziel dieser Arbeit war es, eine kritische, klinische Validierung der drei verglichenen, jeweils weitverbreiteten Renin-Messverfahren, vorzunehmen. Für eine aussagekräftige Screening-Diagnostik ist ein möglichst genauer Renin-Assay Grundvoraussetzung, da der ermittelte ARR durch Messunterschiede diesbezüglich am stärksten beeinflusst wird. Dieses ist auch unter dem Gesichtspunkt wichtig, dass für Screening-Untersuchungen oft Assay-unabhängige Grenzwerte und daraus resultierende Quotienten empfohlen werden. Dieses ist angesichts der von uns gefundenen Ergebnisse bedenklich und sollte zumindest im Wissen um mögliche Inter-Assay-Variationen geschehen, um im Falle von falsch-positiven Ergebnissen aufwendige und teils invasive Diagnostik zu vermeiden als auch ein Übersehen potentiell heilbarer Patienten im Falle falsch-negativer Ergebnisse zu verhindern. Im Klinikalltag können Medikamente mit Einfluss auf die Renin-Bestimmung selten ganz abgesetzt werden. Deshalb ist für den Kliniker eine semiquantitative Einschätzung des Ausmaßes, beziehungsweise der Unterschiede der Medikamenteneffekte auf Renin-Bestimmungen mit unterschiedlichen Assays und Unterschiede bei verschiedenen Assays eine wichtige Information.

6.2 Vor- und Nachteile der verschiedenen Messverfahren

Für den täglichen Gebrauch in einem ambulanten Setting stellen neben der absoluten Genauigkeit und Linearität des Messbereiches auch Faktoren wie Arbeitsaufwand, Schnelligkeit, Kosten und Reproduzierbarkeit eine entscheidende Rolle. Ebenso muss die Empfindlichkeit der verschiedenen Assays gegenüber anderen Medikamenten wie Antihypertensiva (Tab. 3), SSRI-Antidepressiva, oralen Kontrazeptiva und nicht-steroidalen Anti-Rheumatika berücksichtigt werden (siehe 5.5).

Unterschiede der 3 Verfahren wie in den Bland-Altman-Plots in 5.2 aufgezeigt, sind klinisch weniger relevant. Die Abweichungen im niedrigsten Reninmessbereich ändern nicht die Aussage für die Bestimmung der ARR (hoher Quotient bei niedrigem beziehungsweise supprimierten Renin).

Klammert man diese Bereiche aus, beziehungsweise interpretiert sie im oben genannten Kontext ist die Vergleichbarkeit sehr gut und die Assays methodisch gleichwertig, mit den in den folgenden Abschnitten besprochenen Besonderheiten.

6.2.1 Plasma-Aldosteron-Konzentration PAC

Da wir die PAC (Radioimmunoassay) nur mit einem Assay bestimmten, ist eine vergleichende Methodenkritik nicht möglich. Die PAC allein ist auch nicht zur Diagnostik des PHA geeignet, wie sich in Abb. 11 und Tab. 19 bestätigt. Eine eindeutige Korrelation zwischen hohen Aldosteronwerten und hohen Blutdrücken, wie in anderen Arbeiten beschrieben, konnten wir nicht nachweisen (siehe Tab. 37). Aufgrund der guten Zuordnungsfähigkeit der Patienten in die McKenna Gruppen (siehe 5.4) bei teils auch niedrigen Aldosteron-Messwerten, ist die klinische Tauglichkeit des DPC Coat-A-Count® Aldosteron Assays als gut zu bezeichnen, wobei die Aldosteronbestimmung in der Steroidanalytik weiterhin zu den schwierigeren Methoden zählt [64]. Einer der Gründe ist die im Vergleich zu beispielsweise Cortisol etwa 1000-fach niedrigere Konzentration an Aldosteron im Blut mit entsprechender Notwendigkeit einer höheren Empfindlichkeit der Messverfahren. So ist die PAC, neben der Bestimmung der ARR, auch für die Auswertung des Kochsalzbelastungstests von großer Bedeutung. Gerade im, für diesen Test wichtigen, Messbereich von <60 pg/ml (der Cut-Off für einen positiven Test beträgt 50 pg/ml) zeigt der von uns verwendete Test die größte Interassay-Variation von bis zu 15,7 % (siehe 4.6.1). Dies bedeutet, dass bei erneuter Messung der Probe, der Wert um knapp 16 % abweichen kann und damit nicht sicher reproduzierbar ist. In anderen Arbeiten wurden sogar Inter-Assay

Variabilitäten von bis zu 20 % berichtet [64]. Ergebnisse, die besonders nahe am Cut-Off liegen, sollten daher im Wissen um diese Ungenauigkeit interpretiert und gegebenenfalls erneut bestimmt werden. Eine gaschromatographische Messung der PAC könnte die Assay-bedingte eingeschränkte Reproduzierbarkeit verbessern [25, 26, 65], ist jedoch im klinischen Alltagsgebrauch noch nicht ökonomisch und verbreitet genug, um diese bereits flächendeckend zu ersetzen. Generell kann man jedoch verallgemeinernd sagen, dass für die Bestimmung der ARR die Genauigkeit des Renin-Assays eine größere Bedeutung hat als die absolute Genauigkeit des Aldosteron-Assays [61].

6.2.2 Plasma-Renin-Aktivität PRA

Die historisch als Goldstandard zur Erkennung des PHA etablierte PRA (Radioimmunoassay) ist eine valide und international mehrheitlich standardisierte Messung in der serologischen Analytik des RAAS.

Methodenbedingt ist die Korrelation zwischen der Plasma-Renin-Aktivität und den Plasma-Renin-Konzentrationen etwas geringer als beim Vergleich derselben untereinander, jedoch hochsignifikant und qualitativ vergleichbar (siehe Abb. 14, 17, Tab. 11, 15) und auf ähnlichem Niveau wie in anderen Arbeiten. So zeigten Wu et. Al eine Korrelation von 81,8 % gegenüber unseren 86,1-87,3 % [33].

Die PRA kann allein nicht zur Diagnose eines PHA genutzt werden (Abb. 21, Tab. 19). Sie zeigt sich jedoch sensitiv zur Erkennung desselben, wenn man die Aldosteron-Renin-Ratio bildet (Abb. 22). Bei der Plasma-Renin-Aktivität ergibt sich methodenbedingt eine Inkubationszeit, die umso länger sein sollte (von praktisch üblichen 1,5 h bis theoretisch 24 h), je niedriger die PRA ist [66]. Dies führt zu höherem Zeitaufwand und verursacht dadurch höhere Kosten. Davon abgesehen, sind Inkubationszeiten von 24 h zum Erreichen der maximalen Sensitivität praktisch betrachtet (außerhalb von Studien) unrealistisch in Zeiten der High-Throughput-Laborverfahren und ökonomischen Zwänge. Der theoretische Genauigkeitsvorteil der PRA im untersten Messbereich kann deshalb praktisch oft nicht ausgereizt werden, da meist standardisierte Inkubationszeiten von zum Beispiel 1,5 h verwendet werden [7] [66].

Der Hersteller macht leider keine Aussage zur funktionellen Sensitivität.

Es konnte außerdem gezeigt werden, dass die Messunterschiede bei der Bestimmung stärker ausgeprägt sind als bei der PRC [33], je höher die absoluten Messwerte liegen, was die Aussagekraft in diesem Messbereich etwas einschränkt. Weitere Begrenzungen des Verfahrens sind die im Vergleich stärkere pH- und Temperaturabhängigkeit und höhere Anforderungen an Probentransport und Lagerung (gekühlt). Zum Beispiel wird ab einem pH von 8 Renin zerstört, was bei unabdingbar Anstiegenderem pH während der Inkubation eine Pufferung notwendig macht [66]. All dies erhöht wiederum die Kosten und sorgt bei Nichtbeachtung für Ungenauigkeit. Des Weiteren ist die PRA-Messung (als Enzymaktivität) temperaturabhängig, weshalb die Proben schnellstmöglich, spätestens jedoch nach 6 Stunden, eingefroren werden sollten, um eine Akkumulation von AT-I zu verhindern. Exemplarisch zeigt sich dies möglicherweise durch eine höhere Variabilität der Messergebnisse (im Vergleich zur PRC) zwischen verschiedenen Laboren [7]. Bei Patienten mit Herzinsuffizienz oder Leberzirrhose werden die Messergebnisse möglicherweise ebenfalls verfälscht, da die Angiotensinogen-Spiegel als Ausgangswert erniedrigt sind [33].

Vorteil der PRA im Vergleich zur PRC sind die durch lange Inkubationszeit theoretisch niedrigeren messbaren Renin-Werte, welche wiederum die Aussagekraft der ARR in diesem Bereich erhöhen. Weitere Vorteile sind die weniger starke Beeinflussbarkeit des Assays durch eine unterschiedliche Kochsalzversorgung [22] der Patienten im Vorfeld sowie auch gegenüber oraler Kontrazeption und zyklusbedingt unterschiedlichem Östrogenspiegel (beides im Vergleich zur PRC) [67, 68]. Des Weiteren gibt es Hinweise, dass die Einnahme von Antidepressiva des

SSRI (Selective-Serotonine-Reuptake-Inhibitor)-Typus die mittels PRA gemessenen ARR-Werte weniger stark beeinflusst [60].

6.2.3 Plasma-Renin-Konzentration PRC1 Cisbio®

Die direkte Renin-Bestimmung mittels des PRC1 Cisbio® (Radioimmunoassay) ist laut unserer Arbeit in Sensitivität und Spezifität gleichwertig und vergleichbar gegenüber der Plasma-Renin-Aktivität PRA (Abb. 14, Tab. 11) und korreliert hochsignifikant und deutlich mit dem zweiten direkten Renin-Assay, der PRC2 Diasorin® (Abb. 10, Tab. 6, 7). Dies spricht für die Qualität beider Assays im Vergleich zum Goldstandard PRA.

Der Hersteller gibt an, dass die Ungenauigkeit bei der Renin-Bestimmung stark zunimmt, sobald die Blutprobe einen Hämolysegrad von mehr als 0,3 mg/dl überschreitet, was bei erschwerten Blutabnahmebedingungen, längerer Stauungszeit oder entsprechender Disposition beziehungsweise Vorerkrankung des Patienten durchaus vorkommen kann und unter Standard-Untersuchungsbedingungen initial nicht bemerkt werden würde. Eine derartige Empfindlichkeit wird für die anderen Assays nicht angegeben. Ein Problem für die Auswertung stellen die fehlenden Normwertbereiche des Herstellers für Patienten über 60 Jahre dar, was dem steigenden Alter der Gesamtbevölkerung und damit des Patientenkollektivs keine Rechnung trägt. Ebenfalls muss vermerkt werden, dass die Standardabweichungen (und damit die Streuung der Messergebnisse) bereits in der Gruppe der 40-60-jährigen deutlich größer werden, so dass davon ausgegangen werden muss, dass dies bei über 60-jährigen möglicherweise noch stärker ausgeprägt ist. Eine direkte Anfrage an den Hersteller ergab jedoch, dass es keine angepassten Normwertbereiche für ältere Patienten gibt. Dies vermindert durch sinkende Präzision natürlich die Aussagekraft des Tests für diese älteren Patienten.

Vorteile beider direkten Renin-Messverfahren sind der einfachere, ungekühlte Transport, keine Notwendigkeit der Pufferung oder Verwendung von Angiotensinase-Inhibitoren.

6.2.4 Plasma-Renin-Konzentration PRC2-Diasorin®

Auch der zweite direkte Renin-Assay PRC2 Diasorin® korreliert, trotz unterschiedlichen Messverfahrens (einziger CLIA im Vergleich) hochsignifikant mit dem PRC1 Cisbio® (Abb. 10, Tab. 6, 7) sowie - methodenbedingt etwas weniger stark - mit der PRA (Abb. 17, Tab. 15). Insgesamt sind somit alle drei Renin-Assays als vergleichbar zu betrachten.

Der PRC2 Diasorin® misst im Mittel höhere Renin-Konzentrationen als der PRC1 Cisbio®. Dies hat natürlich einen signifikanten Einfluss auf den mit diesen Werten ermittelten Aldosteron-Renin-Quotient (indirekt proportional, siehe Abb. 11) und verfälscht diesen unter Umständen, denn für die mit der PRC ermittelten Cut-Off-Werte der ARR existieren bisher keine Assay-spezifischen Grenzwerte in den Leitlinien, jedoch verschiedene Arbeiten, die jeweils die ARR mit PRC1 Cisbio® (Abb. 34), PRC2 Diasorin® (Abb. 35) oder PRA (Abb. 36) bestimmten. Die Leistungsfähigkeit mit einer Zeit von 35 min von der Inkubation bis zum ersten Ergebnis spricht ebenso für die weite Verbreitung dieses Assays sowie auch die Möglichkeit, durch die vollautomatische Analyse bis zu 180 Tests pro Stunde durchzuführen. Vorteile beider direkten Renin-Messverfahren sind der einfachere da ungekühlt mögliche Transport der Plasma- oder Vollblutproben, keine Notwendigkeit der Pufferung oder Verwendung von Angiotensinase-Inhibitoren. Plasmaproben können sogar bis zu drei Tage lang gelagert werden (zum Beispiel übers Wochenende bei einer Abnahme am Freitagnachmittag [66]). Einzig eine Kühlung im Bereich von 0° C - 6° C ist zu vermeiden, da es hier zur Kryoaktivierung von Prorenin zu aktiviertem Prorenin kommen kann [69], welches nicht enzymatisch aktiv ist jedoch durch die Assays nicht zu unterscheiden ist. Dorrian et al fanden hier eine signifikante Interferenz zwischen Renin und Prorenin von 9 % für den PRC2 Diasorin® [70].

Seit einiger Zeit stehen auch massenspektrometrische Verfahren wie die HPLC (high Performance liquid Chromatography = Hochleistungsflüssigkeitschromatographie) als präzise

Alternative zu den etablierten Immunoassays zur Verfügung. Bisher wurden Aldosteron-Messverfahren etabliert, und auch die HPLC zur Renin-Bestimmung wird bald außerhalb von Universitätskliniken flächendeckend alltagstauglich sein [25, 26, 65]. Dennoch werden mittelfristig, aus Kosten- und Verfügbarkeitsgründen, Immunoassays weiterhin ihren Platz behalten.

6.3 Präzision der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zur M. Conn-Diagnostik - Finden des optimalen Cut-Off

Wir bestimmten sowohl grafisch durch Analyse unserer Gesamtpopulation anhand des McKenna-Paradigmas (Abb. 28-30, Tab. 20), als auch durch ROC-Analysen zur Identifikation der PHA-Patienten jeweils Cut-Off-Werte (Abb. 25-27) und verglichen diese mit den in der Literatur beschriebenen (Abb. 34-36). Anhand der AUC in der ROC-Analyse lässt sich zeigen, dass die ARR mittels PAC/PRA hochsensitiv und spezifisch PHA-Patienten identifizieren kann (siehe Abb. 22, Tab. 20). Anhand der AUC in der ROC-Analyse ist die Erkennung des PHA durch Bildung der ARR mit der PRC1 Cisbio® sensitiv und spezifisch möglich, wobei der Cut-Off aufgrund der absolut gesehen niedrigeren Renin-Messwerte im Quotienten etwas höher ausfällt als bei der PRC2 Diasorin® (siehe Abb. 11). Bei isolierter Betrachtung der Aldosteron- oder Renin-Messwerte war der PHA nicht zu diagnostizieren (Tab. 19). Zur Diagnose des PHA mit der PRC2 Diasorin® ermittelten wir mittels ROC-Analyse jeweils Cut-Off-Werte für den besten Kompromiss aus Sensitivität und Spezifität, dieser war bei $ARR > 13$ gegeben (Abb. 24, Tab. 22). Isoliert ließ sich mit der PRC2 Diasorin® keine Diagnose eines PHA stellen (Abb. 30, Tab. 19).

6.3.1 PRC1 Cisbio®

Für maximale Sensitivität zur PHA Erkennung ermittelten wir einen Cut-Off der ARR von 19 für den PRC1 Cisbio® (Abb. 23, Tab. 20). Andere Gruppen kamen zu ähnlichen Ergebnissen (Abb. 34). Für die Trennung der Teilkollektive PHA und Essentielle Hypertoniker plus gesunde Probanden, liegt der von uns ermittelte Cut-Off von 19 nahe an den in der großen Bevölkerungsstudie SHIP vorgeschlagenen Werten von 16 für Männer und 21 für Frauen [71]. Ältere Arbeiten empfahlen deutlich höhere Cut-Offs von 50 pg/ml [53] beziehungsweise 62 pg/ml [72] für den gleichen Assay (siehe 5.3, 5.4).

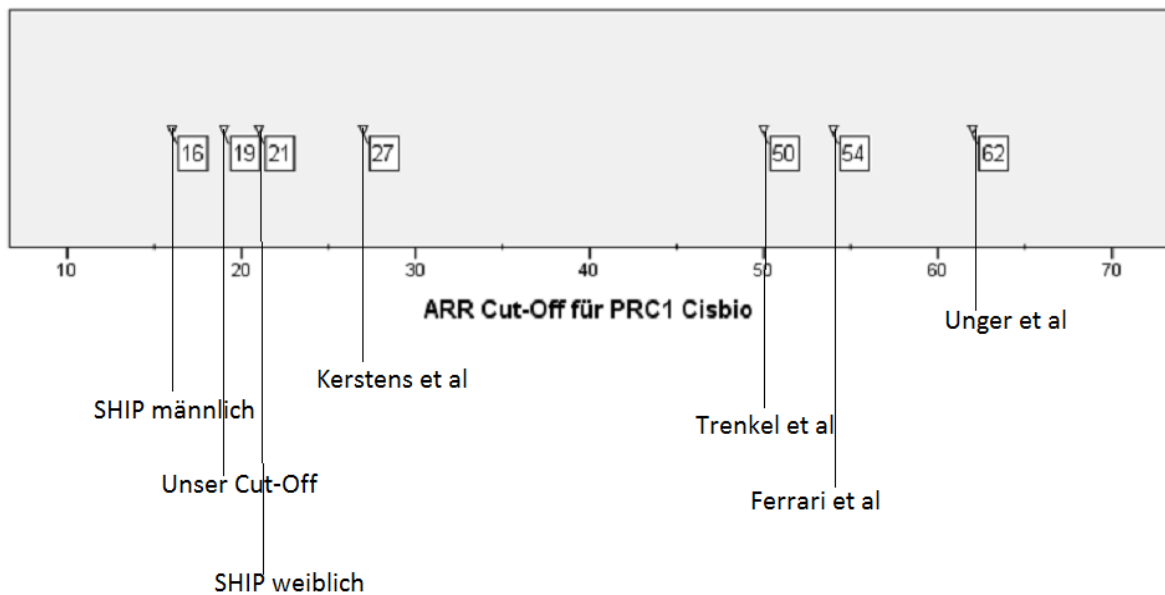


Abbildung 34: Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio ARR für Renin-Assay PRC1 Cisbio® in verschiedenen Studien
Umgerechnet in [pg/ml]

6.3.2 PRC2 Diasorin®

Zur Trennung essentieller Hypertoniker/ gesunder Probanden und PHA-Patienten etablierten wir einen Cut-Off von 13 für die ARR mit dem in Europa weit verbreiteten PRC-Assay von Diasorin® (Abb. 24, Tab. 20). Andere Gruppen kamen zu ähnlichen Ergebnissen, um maximale Sensitivität zu erzielen, so bestimmten Dorrian et al einen Cut-Off von 15 für den gleichen Assay [70]. Dort wurde zur Verbesserung der Spezifität noch ein Mindestspiegel für die PAC von 300 pmol/l (entspricht 100,8 pg/ml) postuliert, um eine bessere Spezifität zu erreichen. Wir nahmen dieses Zusatzkriterium nicht auf, um keine Patienten zu übersehen, da in unserer PHA-Gruppe PAC-Werte von 83-314 pg/ml auftraten (siehe Tab. 19). Pizzolo et al verwendeten hier einen höheren Cut-Off von 32 mit dem Zusatzkriterium des auf mindestens 150 pg/ml erhöhten PAC-Spiegels [68]. Andere Gruppen bestimmten 13,8 [73] beziehungsweise 24,7 [74] als Cut-Off.

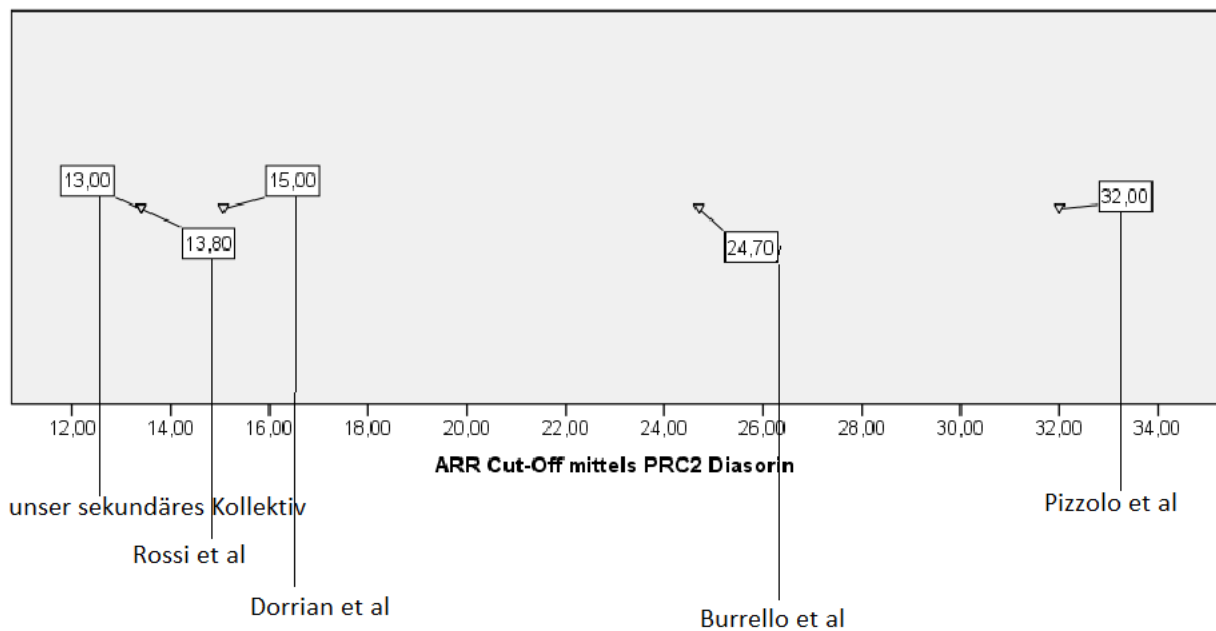


Abbildung 35: Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio ARR für Renin-Assay PRC2 Diasorin® in verschiedenen Studien.
Umgerechnet in [pg/ml]

In den letzten Jahren gesunkene empfohlene Cut-Off-Werte für die ARR mittels PRC Messung lassen sich unter Umständen auch durch die Tatsache erklären, dass der PRC2 Diasorin® tendenziell höhere Werte misst als der bis 2006 benutzte PRC Assay von Nichols und sich deshalb ein niedrigerer, mittlerer Quotient ergibt [75]. In diesem Sinne erklärt sich auch, dass ARR-Cut-Off-Werte mit PRC2 Diasorin® insgesamt niedriger angesiedelt sind als solche mit PRC1 Cisbio®. Es müssen hier natürlich auch potentiell noch unterschiedliche verwendete Aldosteron-Assays beachtet werden.

6.3.3 PRA Diasorin®

Für die PRA ermittelten wir anhand unseres Kollektivs mit prädiagnostizierten Patienten im primären Patientenkollektiv einen Cut-Off der ARR von mindestens 270 (pg/ml)/(ng/ml/h), um maximale Sensitivität zu erreichen. Glinicki et al empfahlen dagegen einen Cut-Off von 31 für maximale Sensitivität und 115 für einen guten Kompromiss zwischen Sensitivität und Spezifität. [76]. Wu et al bestimmten einen Cut-Off von 66,9 (ng/dl)/(ng/ml/h) und Pizzolo et al bestimmten 50 (ng/dl)/(ng/ml/h) als Cut-Off [68]. Nach Ergänzen weiterer gesicherter PHA-Patienten aus dem sekundären Patientenkollektiv (Details hierzu siehe 4.3.2 und 5.3) legten wir einen Kompromiss für ein positives Screening bei $ARR > 130$ fest, um hier eine gute Spezifität von 83 % bei ausreichender Sensitivität von 95 % zu erreichen (siehe Abb. 27, 5.3). Diese Ergebnisse decken sich mit den von Glinicki et al beschriebenen (siehe Abb. 36).

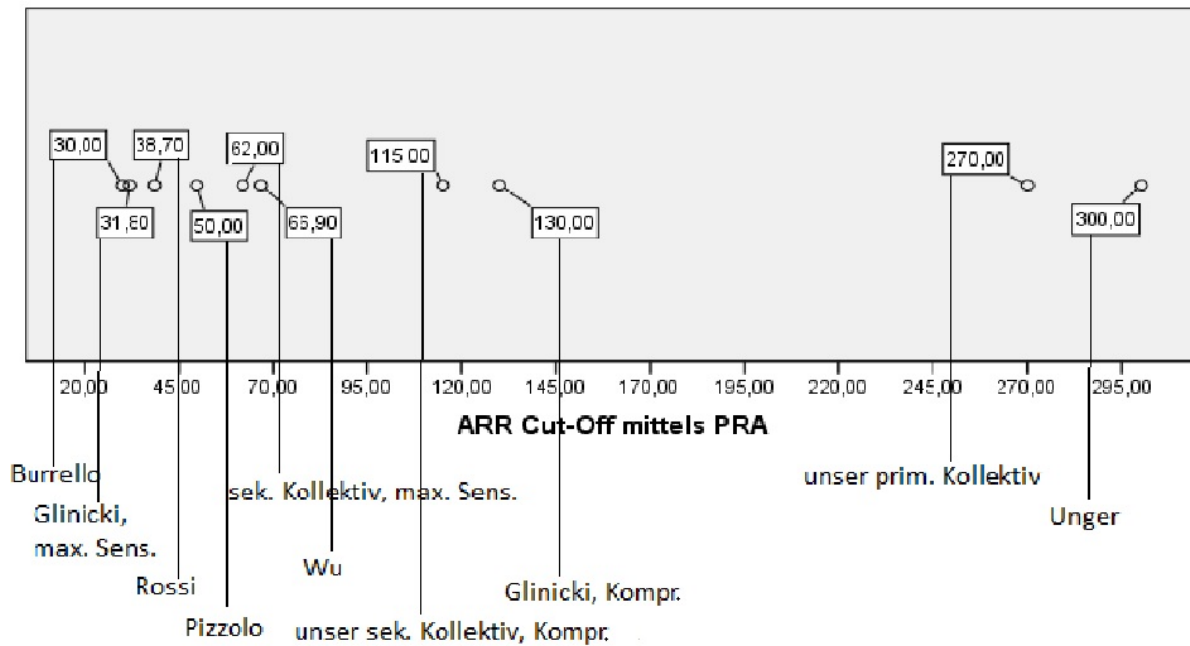


Abbildung 36: Cut-Off-Werte der Aldosteron-Renin-Ratio für Renin-Assay PRA in verschiedenen Studien
in [(pg/ml)/(ng/ml/h)]

In den vergangenen Jahren gab es mehrere Studien und Metaanalysen, um einen möglichst sensitiven und spezifischen Cut-Off-Wert für die ARR zu ermitteln, ab dem ein PHA wahrscheinlich ist und man eine weitergehende Diagnostik einleiten sollte. Dabei ging der Trend in Richtung niedrigere Cut-Off-Werte, um bei sensiblem Kostenmanagement dennoch eine maximale Sensitivität zu ermöglichen und möglichst keine Erkrankten zu übersehen [27]. Eine früher übliche Einschränkung auf Patienten mit einer PAC >150 mmol/l ist heutzutage obsolet, da sich in verschiedenen Arbeiten gezeigt hat, dass dadurch PHA-Patienten übersehen werden [7]. Allerdings ist es sicherlich sinnvoll, Patienten mit einem Aldosteronspiegel unterhalb des Cut-Off-Wertes für den Kochsalzbelastungstest auch bei formal erhöhtem ARR als negativ zu bewerten. Eine Hypokaliämie ist weiterhin nicht notwendig für die Verdachtsdiagnose PHA und tritt bei unseren Probanden eher selten auf (siehe Tab. 40)

6.4 Bedeutung des McKenna Algorithmus in der klinischen Praxis

In der Vergangenheit konnte in einigen Arbeiten allein anhand der Bestimmung der ARR und der PAC eine Differenzierung von PHA-Patienten von essentiellen Hypertonikern und Gesunden erfolgen[57]. Dies konnten wir auch bei unserem Kollektiv erneut bestätigen (siehe Abb. 33-35). Auch der sekundäre Hyperaldosteronismus war eindeutig abgrenzbar. Eine weitergehende Differenzierung auch anderer Erkrankungen des RAAS allein anhand der ARR [3, 49] war für die übrigen Untergruppen (primärer und sekundärer Hypoaldosteronismus) bei unserem Kollektiv nicht möglich. Zwar zeigten sich deutliche Tendenzen, jedoch auch Überlappungen der Untergruppen in den Grenzbereichen der zuletzt genannten Untergruppen (siehe Abb. 28-30, Tab. 33-35), so dass hier weiterführende Diagnostik notwendig ist. Eine Trennung der Untergruppen von RAAS-Erkrankungen gemäß dem McKenna-Paradigma (siehe 3.3, 5.4) war allein mit der PAC, PRA oder direkten Renin-Bestimmung mittels PRC1 Cisbio® oder PRC2 Diasorin® nicht möglich. Wir trennten die von uns ermittelten Cut-Offs nach Renin-Assay (Abb. 34-36). Diese Entscheidung trafen wir auch aufgrund der von uns unter anderem in 6.2

beschriebenen Inter-Assay-Abweichung zwischen PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin®, da dies deutliche Auswirkungen auf die Berechnung der ARR und entsprechende Grenzwertempfehlungen hat (siehe Abb. 8). Zudem müsste die PRA (wie für die Bland-Altman-Plots in 5.2 notwendig) für eine gemeinsame Darstellung konvertiert werden, was eine zusätzliche Fehlerquelle darstellt und möglicherweise die Ergebnisse verfälscht.

6.5 Medikamenteneffekte

Die tendenzielle Empfindlichkeit der verschiedenen Assays gegenüber Renin-supprimierender und Renin-stimulierender Medikation ist unter 5.5 ausführlicher dargestellt. Da unsere Arbeit (wie verschiedene andere Studien zu diesem Thema auch) keine Interventionsstudie darstellt, sind die im Folgenden getroffenen Aussagen trotz diskreter Ergebnisse eher orientierend zu werten und nicht geeignet um Vorhersagen zu quantitativen Effekten zu treffen. Dennoch sollen die ermittelten Ergebnisse unter diesem Vorbehalt diskutiert werden.

Zusammenfassend zeigen unsere Werte, nach Klassifizierung anhand des Einflusses auf Renin, eine vergleichbare Empfindlichkeit der 3 Assays gegenüber antihypertensiver Medikation, wobei die PRA sensitiver auf Renin-supprimierende Medikation wie Beta-Blocker, Clonidin oder NSAR reagiert als die direkten Renin-Assays (Abb. 31 Tab. 36). Die Bestimmung der Renin-Aktivität ist tendenziell empfindlicher gegenüber Renin-stimulierender und Renin-supprimierender Medikation als die direkt gemessene Plasma-Renin-Konzentration (Tab. 36), was mutmaßlich auch an der indirekten Messung liegt. Gegenüber Renin-stimulierender und Renin-supprimierender Medikation sind sowohl der PRC1 Cisbio® (RIA) und der PRC2 Diasorin® (CLIA) rechnerisch vergleichbar sensibel, was die Ergebnisse in 5.5 (Abb. 31, Tab. 36) belegen und auf eine gute Vergleichbarkeit hindeutet. Hier zeigt sich erneut, dass die mit dem PRC2 Diasorin® höher gemessenen Renin-Werte auch durch diese Medikamente nicht aufgehoben werden.

Es gab in den vergangenen Jahren verschiedene Publikationen mit teils unterschiedlichen Ergebnissen und Empfehlungen, was die Umstellung oder das Pausieren blutdrucksenkender Medikation angeht. Eine Arbeit findet beispielsweise unter komplett beibehaltener, prädiagnostischer Medikation eine hohe Sensitivität und Spezifität für den PHA. [77] Dies allerdings mit relativ hohen Cut-Off-Werten für die ARR und Aldosteron, die mittlerweile als überholt gelten [5].

Eine Arbeit fand keinen signifikanten Medikamenteneinfluss auf die Screeningergebnisse bei PHA-Patienten, abgesehen von Spironolacton, während sie beim EHT-Patientengut durchaus signifikant abwichen [30], eine andere Gruppe fand signifikante Einflüsse nur für Spironolacton und Beta-Blocker [53]. Ebenfalls bekannt ist der Einfluss von oralen Kontrazeptiva, weshalb oft auch ein Absetzen dieser vor der ARR-Bestimmung empfohlen wird, um falsch-positive Ergebnisse zu vermeiden [68, 78]. Umgedreht kann man grob sagen, dass ein positiver Screening-Test unter Renin-stimulierender Medikation (ACE-Hemmern, Calcium-Antagonisten, ATI-Antagonisten, Thiaziden, Schleifendiuretika, Spironolacton oder auch oralen Antikonzeptiva) die Verdachtsdiagnose PHA quasi beweist. Im klinischen Alltag verursachen Renin-supprimierende Medikamente (Beta-Blocker, Clonidin, NSAR) sehr viele falsch-positive Ergebnisse, die unter Umständen unnötige Diagnostik oder Therapie nach sich ziehen. Wichtig ist deshalb die Einhaltung der Empfehlungen zu Pausieren beziehungsweise Umstellung der Medikamente (siehe Tab. 3.) [6]. Ebenfalls erwähnenswert ist die Tatsache, dass gerade in der Gruppe der Patienten mit „therapierefraktärem Hypertonus“, bei denen eine leitliniengerechte Umstellung der Mehrfachmedikation meist nicht möglich ist, die Rate an Patienten mit PHA bis zu 20 % beträgt [79].

Insgesamt geht der aktuelle Konsens in Richtung eines möglichst leitliniengerechten Umstellens (siehe Tab. 3), mit Inkaufnahme eines geringen Restrisikos einer hypertensiven Entgleisung oder kardialen Dekompensation [28] bei entsprechend prädisponierten Patienten. Eine interessante

und klinisch relevante Fragestellung wäre, wie hoch Renin bei Patienten mit PHA stimulierbar ist. Unser Ergebnis mit einer Stimulierbarkeit des PRC2 Diasorin® auf 82,44 ng/dl und des PRC1 Cisbio® auf 60,1 ng/dl wurde überwiegend bei Hypertonikern gemessen. Wenn man in prospektiven Studien nachweisen könnte, dass ein Renin oberhalb des Normbereiches unter Renin-stimulierender Medikation einen PHA ausschließt, wäre das für die ambulante Diagnostik eine große Hilfe. Im Rahmen der im Conn-Register erfassten Patientendaten wäre dies prospektiv durchaus möglich, indem man zuerst den ARR ermittelt und anschließend die empfohlene Stufendiagnostik unter Medikamentenpause durchführt. Aufgrund der pro Praxis oder Zentrum eher niedrigen Fallzahlen, wäre hier ein Multicenter-Ansatz sinnvoll. Abschließend soll erwähnt werden, dass die Abschätzung der Medikamenteneffekte in unserer retrospektiven Datenauswertung durch die Gewinnung im klinischen Alltag anstelle einer gezielten Intervention allenfalls orientierend und semiquantitativ möglich sind .

6.6 Korrelation der Aldosteron-Renin-Ratio zu anderen Vitalparametern

Wir konnten eine signifikante, direkte Korrelation zwischen zunehmender ARR und steigendem systolischen, diastolischen und mittlerem arteriellen Druck (siehe Tab. 37) zeigen.

Wie in 5.6 beschrieben, wurden in anderen Studien, wie auch bei unseren Patienten, teils starke Zusammenhänge zwischen Vitalparametern wie dem Blutdruck und Messwerten des Aldosteron-Renin-Systems gefunden [16, 63]. Tomaschitz et al konnten sogar (bei Einteilung der Patienten in 10 Gruppen von jeweils niedriger zu hoher ARR) zeigen, dass die PAC stärkster Prädiktor für den diastolischen Blutdruck und zweitstärkster Prädiktor für den systolischen Blutdruck ist [16]. Dieser Zusammenhang war in unserem Kollektiv nicht nachweisbar (Tab. 37). Ein direkter Zusammenhang zwischen der Renin-Aktivität/Renin-Konzentration und Blutdruckwerten kann von uns nicht dargestellt werden (Tab. 38, 39). Bei Bildung der ARR besteht jedoch eine hochsignifikante Korrelation zwischen steigender ARR und steigenden Blutdruckwerten (Abb. 32, Tab. 37). Für die ARR mittels PRC2 Diasorin® lässt sich, wie auch für den PRC1 Cisbio®, eine starke Korrelation zu den Blutdruckwerten herstellen, wobei für steigende ARR jeweils auch höhere Blutdrücke gemessen werden. Newton-Cheh et al wiesen einen Einfluss der ARR auf den zu erwartenden Blutdruck auch bei Gesunden nach [62]. Insgesamt belegen diese klinischen Daten die überragende Bedeutung des RAAS für die Blutdruckregulation des Körpers und erklären auch die Vielzahl der Antihypertensiva, die an dessen Regelkreisen ansetzen (Abb. 1, 6). Unsere Messergebnisse sind jedoch nicht gänzlich unkritisch zu bewerten, da sie wie viele andere klinische Arbeiten zu diesem Thema, teils unter antihypertensiver Medikation gemessen wurden.

6.7 Methodenkritik und Grenzen der vorliegenden Arbeit

Unsere Arbeit liefert einen guten Anhalt für die Ergebnisse einer Secondary care center Population aus dem klinischen Alltag im Sinne der Versorgungsforschung. Weiterer Vorteil für die Kohärenz der Messwerte ist der Single-Center, Single-Lab-Ansatz. Zu bemängeln ist formal, dass die Versorgung der Patienten teils durch verschiedene Ärzte erfolgte und auch Medikamentenumstellungen hier verschiedenen Philosophien folgten, was eine streng standardisierte Medikamentengabe nicht ermöglicht.

Generell ist durch die retrospektive Analyse der Population keine gezielte Intervention im Sinne einer Medikamentenumstellung oder –pause möglich gewesen, was die Aussagekraft unserer Arbeit in Bezug auf die Sensitivität der Messverfahren gegenüber Medikamenten abschwächt.

Aus unserer Sicht sind jedoch tendenzielle Aussagen hierzu möglich, welche unter diesem Aspekt gewertet werden müssen und keine quantitativen Vorhersagen oder Empfehlungen zulassen.

6.7.1 Cut-Off-Werte für positives Screening

Bei den ermittelten Cut-Off-Werten muss nicht nur eine meist relevante Inter-Assay Abweichung mit entsprechend anderen, resultierenden ARR-Cut-Offs (mittlerweile ca. 20 in den „Endocrine Society clinical Practice Guidelines“) bedacht werden, sondern auch Schwankungen bei Benutzung des gleichen Assays, jedoch in unterschiedlichen Laboratorien. Dies zeigten unter anderem stichprobenartige Ringversuche einer Laborgruppe [7]. Des Weiteren sind, wie bereits im Methodenteil erwähnt auch intraindividuell Schwankungen von bis zu 37 % möglich. Bei 3 Bestimmungen beim gleichen Patienten hatten nur 30-40 % der später gesicherten PHA-Patienten durchgängig ARR-Werte oberhalb des Cut-Off [50].

Bei Verdacht auf einen endokrinen Hypertonus sollte deshalb auch bei initial negativem Screening-Test eine erneute Bestimmung erwogen werden (insbesondere wenn der Messwert nur knapp unterhalb des Cut-Off liegt).

6.7.3 Kalium

In unserer Population fand sich erwartungsgemäß ein normokaliämisches Teilkollektiv der gesunden Probanden (siehe Abb. 33, Tab. 34). Dazu erwartungsgemäß ein Kollektiv an PHA-Patienten, welche im Durchschnitt einen niedrigeren Kaliumspiegel aufwiesen. Dies bestätigt, dass Hypokaliämie für den PHA nicht pathognomonisch ist, diese Patienten jedoch tendenziell eher niedrigere Kaliumspiegel aufweisen als Gesunde oder essentielle Hypertoniker und dies sogar unter Kaliumsubstitution, was auch in größeren populationsbasierten Studien bestätigt wurde. Unser Patientengut ist jedoch nicht komplett repräsentativ, da es sich um eine Vorauswahl in einem Secondary care center handelte und keine populationsbasierte Studie.

6.7.4 Kontrazeption

Es wurde mehrfach gezeigt, dass die orale Kontrazeption aufgrund ihrer letztlich Renin-supprimierenden Wirkung die ARR erhöht und damit die Wahrscheinlichkeit für einen positiven Screening-Test erhöht [68]. Letztlich zeigten sogar 13,6 % der normotensiven Frauen unter oraler Kontrazeption einen erhöhten ARR. Damit ist die ARR als Screening-Test bei Frauen im gebärfähigen Alter weniger aussagekräftig [67, 68, 78] und sollte mindestens vorsichtig interpretiert oder bei nur grenzwertig positiver ARR wiederholt werden (idealerweise nach Absetzen der Kontrazeptiva).

6.7.5 Tageszeiten von Blutabnahmen, Unwägbarkeiten

Aufgrund der logistischen Gegebenheiten in der ambulanten Versorgung mit nicht punktgenau steuerbaren Terminen, teils verspäteten Patienten, verschiedenen individuellen Tagesrhythmen und anderen Unwägbarkeiten muss klargestellt werden, dass eine Abnahme zur exakt gleichen

Tageszeit beziehungsweise in der identischen Phase der periodischen RAAS-Hormon und Katecholaminfreisetzung nicht möglich ist. Diskrete Abweichungen aufgrund dieser Tatsache müssen daher bei der Betrachtung der Ergebnisse ins Kalkül gezogen werden [52]. Ebenso kann davon ausgegangen werden, dass manche der Patienten nicht nüchtern zur Blutabnahme erschienen. Ein Absetzen beziehungsweise Umstellen aller blutdrucksenkenden Medikamente war nicht bei allen Probanden möglich und vertretbar. Es wurde daher in diesen Fällen die medikamentöse Therapie nur soweit organisatorisch möglich und gesundheitlich unbedenklich [28] angeglichen (siehe 4.5).

Es ist weiterhin bekannt, dass eine gute Korrelation zwischen zwei Testverfahren nicht gleichzusetzen ist mit einer hohen Genauigkeit der Übereinstimmung über den gesamten Messbereich [64], was sich beispielsweise in der zunehmenden Differenz der PRA und PRC Messwerte über den Messbereich hinweg zu höheren Ergebnissen zeigt (siehe Abb. 9, 10) und durch unsere Bland-Altman-Plots (siehe 5.2, 7.1) genauer untersucht wurde.

7. Zusammenfassung

In der vorliegenden Arbeit wurden drei Renin-Assays untereinander verglichen, davon zwei Assays, welche die Plasma-Renin-Konzentration messen (Cisbio® Renin III. Generation = PRC1 Cisbio® und Diasorin® Liaison Direct Renin = PRC2 Diasorin®) sowie einen Assay für die Plasma-Renin-Aktivität (Diasorin® Angiotensin I RIA = PRA). Klinisch wurden diese Assays zudem zum Screening auf Dysbalancen im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System verwendet, insbesondere dem primären Hyperaldosteronismus (PHA).

7.1 Vergleichbarkeit der Renin-Messverfahren (siehe 5.2)

Die beiden Assays PRC1 Cisbio® und PRC2 Diasorin® zeigten untereinander einen sehr guten Zusammenhang anhand der Korrelation (Koeffizient $r = 0,948$, $p < 0,01$) beziehungsweise Varianzaufklärung und jeweils eine gute Korrelation beziehungsweise Varianzaufklärung zur - methodenbedingt etwas stärker abweichenden - PRA (Korrelationskoeffizient jeweils $0,861$ und $0,873$, $p < 0,01$). Sie sind damit methodisch sehr gut vergleichbar (Abb. 10, 12, 13). In der Bland-Altman-Analyse zeigte sich eine gute paarweise Übereinstimmung aller drei Assays. Erwartungsgemäß bieten die Messergebnisse der beiden Assays der Renin-Konzentration weniger ausgeprägte Differenzen als der Vergleich dieser mit der Renin-Aktivität. Über den Messbereich zunehmende Differenzen in diesen Analysen zeigen sich in der prozentualen Abweichung als weniger relevant. Gleichzeitig treten beim prozentualen Vergleich dieser Abweichungen die größten Unterschiede im niedrigsten Messwertbereich, nahe der funktionellen Sensitivität der Assays auf, was die Vergleichbarkeit bestätigt.

7.2 Präzision der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zur M. Conn-Diagnostik (siehe 5.3 und 6.3)

Wir verglichen anhand ROC-Analysen die Präzision der drei Assays im Screening, um PHA-Patienten mit bereits bestätigter Diagnose zu erkennen. Mit einer AUC von $0,973$ und damit $97,3$ % Präzision war diese für die PRC1 Cisbio® am größten. Die Genauigkeit war geringfügig größer als die der PRA (AUC = $0,954$ und damit $95,4$ %) und der PRC2 Diasorin® (AUC = $0,941$ entsprechend $94,1$ % Präzision zur Erkennung der PHA-Patienten). Anhand unserer Ergebnisse sind alle drei Renin-Assays geeignet, nach Bestimmung der ARR, zuverlässig alle PHA-Patienten zu erkennen, wobei ein gewisser Anteil falschpositive essentielle Hypertoniker (je nach Assay $16-21$ %) durch die etablierte Stufendiagnostik herausgefiltert werden muss. Wir bestimmten Cut-Offs zur Erkennung des PHA anhand der ARR. Diese werden in der Diskussion (6.3, Abb. 34-36) mit Ergebnissen anderer Studien verglichen. Da der PRC2 Diasorin® im Vergleich zum PRC1 Cisbio® höhere Renin-Werte bei gleicher Messvariable lieferte, wurden anhand unserer Fälle Cut-Off-Werte von $ARR > 19$ für den PRC1 Cisbio®, $ARR > 13$ für den PRC2 Diasorin® (für beide kürzt sich die Einheit pg/ml weg) sowie eine Grenze der $ARR > 270$ in $(\text{pg/ml})/(\text{ng/ml/h})$ für die PRA ermittelt, um alle PHA-Patienten im primären Kollektiv zu erkennen. Um diese Cut-Offs zu validieren und die statistische Trennschärfe zu steigern, ergänzten wir 83 weitere Probanden/Mitarbeiter, essentielle Hypertoniker und PHA-Patienten mit gesicherter Diagnose zum Patientenpool (siehe 5.3). Für die beiden PRC-Assays änderte sich der primär ermittelte Cut-Off nicht. Für die PRA sank der Cut-Off der ARR zur Erkennung aller 41 PHA-Patienten von $ARR > 270$ auf $ARR > 62$ für eine Sensitivität von 100 %. Einen guten Kompromiss bietet anhand unserer Daten ein Cut-Off der $ARR > 130$ (Sensitivität von 95 %, Spezifität von $83,7$ %, Vgl. 6.3.3). Es sollten also für jeden Assay spezifische Grenzwerte verwendet werden. Einen Mindestwert für Aldosteron halten wir nicht für sinnvoll. Wir unterstützen die Empfehlung für eine hohe Sensitivität niedrige Cut-Offs anzusetzen (siehe Abb. 25-27, Vergleich mit anderen Arbeiten in 6.3, Abb. 34-36). Auch empfiehlt es sich, die

Antihypertensiva gemäß aktuellen Empfehlungen (siehe Tab. 3) zu pausieren beziehungsweise umzustellen, um falsch positive und negative Screening-Ergebnisse zu verringern.

7.3 Trennung der Patientengruppen analog zum McKenna-Paradigma (siehe 5.4)

Wir ordneten die Patienten analog zum McKenna-Paradigma [49] in 5 Untergruppen (siehe 3.3) und konnten alle 10 PHA-Patienten des primären Kollektivs anhand der ARR klar erkennen. Auch der sekundäre Hyperaldosteronismus konnte anhand der ARR eindeutig identifiziert werden. Die Untergruppen primärer und sekundärer Hypoaldosteronismus zeigten im Grenzbereich der Messwerte Überlappungen, die eine Diagnose allein anhand der ARR- in unserem Kollektiv nicht erlauben. Entgegen der primären Arbeit von McKenna konnten wir eine saubere Trennung von primärem und sekundärem Hypoaldosteronismus nicht grafisch aufzeigen.

7.4 Effekte antihypertensiver Medikation auf die Renin-Bestimmung (siehe 5.5)

Weiterhin verglichen wir die Renin-Assays orientierend in Bezug auf ihre Sensitivität gegenüber Renin-stimulierender oder -supprimierender Medikation, insbesondere Antihypertensiva. Aufgrund der oftmals nicht vermeidbaren Mehrfachmedikation sowie retrospektiven Datenauswertung ist dieser Vergleich nur indirekt möglich. Die PRA reagierte sowohl unter Renin-stimulierender Medikation empfindlicher als die Renin-Konzentration der PRC Assays (Anstieg auf 442 % versus 420 % beziehungsweise 419 %) als auch empfindlicher unter supprimierender Medikation (Abfall auf 49 % versus 65 % beziehungsweise 64 % des Ausgangswertes), während die PRC Assays - wie oben ersichtlich- vergleichbar stark reagierten (Tab. 36). Hieraus könnte man ableiten, dass die Absetzempfehlungen bei Benutzung der PRA strenger sein sollten als bei Benutzung der PRC.

7.5 Korrelation der Aldosteron-Renin-Ratio ARR zu anderen Vitalparametern (siehe 5.6)

Bei der Untersuchung der Zusammenhänge beziehungsweise Korrelationen zwischen RAAS-Messwerten und Vitalparametern zeigten sich die stärksten Zusammenhänge für eine positive Korrelation der ARR der Patienten (in aufsteigender Signifikanz) zu steigenden diastolischen (26,7-27,4 % je nach Assay), mittleren arteriellen (32,9-34,7 %) und am stärksten für die systolischen Blutdruckwerte (33,9-36,7 %). In unserem PHA-Patientengut war der Kaliumspiegel beim Großteil der gemessenen Patienten im Normbereich, für PHA-Patienten aber im Durchschnitt signifikant niedriger (K mittel = 3,9 mmol/l) als der von Gesunden oder essentiellen Hypertonikern (K mittel jeweils gleich 4,2 mmol/l).

8. Literaturverzeichnis

1. Murase, K., R. Nagaishi, H. Takenoshita, T. Nomiya, Y. Akehi, and T. Yanase, *Prevalence and clinical characteristics of primary aldosteronism in Japanese patients with type 2 diabetes mellitus and hypertension*. *Endocr.J.*, 2013. **60**(8): p. 967-976.
2. Borgel, J., S. Springer, J. Ghafoor, D. Arndt, H.W. Duchna, A. Barthel, S. Werner, H.J. Van, C. Hanefeld, H. Neubauer, D. Bulut, and A. Mugge, *Unrecognized secondary causes of hypertension in patients with hypertensive urgency/emergency: prevalence and co-prevalence*. *Clin.Res.Cardiol.*, 2010. **99**(8): p. 499-506.
3. Diederich, S., M. Bidlingmaier, M. Quinkler, and M. Reincke, *[Diagnosis of primary hyperaldosteronism]*. *Med.Klin.(Munich)*, 2007. **102**(1): p. 16-21.
4. Hannemann, A. and H. Wallaschofski, *Prevalence of primary aldosteronism in patient's cohorts and in population-based studies--a review of the current literature*. *Horm.Metab Res.*, 2012. **44**(3): p. 157-162.
5. Hannemann, A., N. Friedrich, J. Ludemann, H. Volzke, R. Rettig, J. Peters, M. Reincke, A. Doring, M. Nauck, and H. Wallaschofski, *Reference intervals for aldosterone, renin, and the aldosterone-to-renin ratio in the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-1)*. *Horm.Metab Res.*, 2010. **42**(6): p. 392-399.
6. Funder, J.W., R.M. Carey, F. Mantero, M.H. Murad, M. Reincke, H. Shibata, M. Stowasser, and W.F. Young, Jr., *The Management of Primary Aldosteronism: Case Detection, Diagnosis, and Treatment: An Endocrine Society Clinical Practice Guideline*. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016. **101**(5): p. 1889-916.
7. Diederich, S., *Diagnostik und Therapie bei Primärem Hyperaldosteronismus*. *Internist.Prax.*, 2012. **2012**(52): p. 289-303.
8. Howard, G. and D.C. Goff, *Population shifts and the future of stroke: forecasts of the future burden of stroke*. *Ann.N.Y.Acad.Sci.*, 2012. **1268**: p. 14-20.
9. Kulshreshtha, A., L.M. Anderson, A. Goyal, and N.L. Keenan, *Stroke in South Asia: a systematic review of epidemiologic literature from 1980 to 2010*. *Neuroepidemiology*, 2012. **38**(3): p. 123-129.
10. Born-Frontsberg, E., M. Reincke, L.C. Rump, S. Hahner, S. Diederich, R. Lorenz, B. Allolio, J. Seufert, C. Schirpenbach, F. Beuschlein, M. Bidlingmaier, S. Endres, and M. Quinkler, *Cardiovascular and cerebrovascular comorbidities of hypokalemic and normokalemic primary aldosteronism: results of the German Conn's Registry*. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, 2009. **94**(4): p. 1125-1130.
11. Leoncini, G., F. Viazzi, E.A. Rosei, E. Ambrosioni, F.V. Costa, G. Leonetti, A.C. Pessina, B. Trimarco, M. Volpe, G. Deferrari, and R. Pontremoli, *Chronic kidney disease in the hypertensive patient: an overview of the I-DEMAND study*. *High Blood Press Cardiovasc.Prev.*, 2011. **18**(1): p. 31-36.
12. Hillaert, M.A., E.G. Lentjes, H. Kemperman, Y. van der Graaf, H.M. Nathoe, F. Beygui, G. Montalescot, P.A. Doevendans, A.M. Wassink, and B.E. van, *Aldosterone, atherosclerosis and vascular events in patients with stable coronary artery disease*. *Int.J.Cardiol.*, 2012.
13. Kang, Y.S. and D.R. Cha, *Aldosterone and diabetic kidney disease*. *Curr.Diab.Rep.*, 2009. **9**(6): p. 453-459.
14. Valabhji, J., J. Donovan, P.A. Kyd, M. Schachter, and R.S. Elkeles, *The relationship between active renin concentration and plasma renin activity in Type 1 diabetes*. *Diabet.Med.*, 2001. **18**(6): p. 451-458.
15. Lozano de, L.F., M. Leal, and E. Lissen, *[Liver cirrhosis and the renin-angiotensin-aldosterone system]*. *Rev.Esp.Enferm.Apar.Dig.*, 1986. **70**(5): p. 465-468.
16. Tomaschitz, A., S. Pilz, E. Ritz, B. Obermayer-Pietsch, and T.R. Pieber, *Aldosterone and arterial hypertension*. *Nat.Rev.Endocrinol.*, 2010. **6**(2): p. 83-93.
17. Vantyghem, M.C., C. Douillard, and A.S. Balavoine, *[Hypotension from endocrine origin]*. *Presse Med.*, 2012. **41**(11): p. 1137-1150.

18. Torpy, D.J., C.A. Stratakis, and G.P. Chrousos, *Hyper- and hypoaldosteronism*. Vitam.Horm., 1999. **57**: p. 177-216.
19. Farese, R.V., Jr., E.G. Biglieri, C.H. Shackleton, I. Irony, and R. Gomez-Fontes, *Licorice-induced hypermineralocorticoidism*. N.Engl.J.Med., 1991. **325**(17): p. 1223-1227.
20. DeFronzo, R.A., *Hyperkalemia and hyporeninemic hypoaldosteronism*. Kidney Int., 1980. **17**(1): p. 118-134.
21. Schwartz, G.L., *Screening for adrenal-endocrine hypertension: overview of accuracy and cost-effectiveness*. Endocrinol.Metab Clin.North Am., 2011. **40**(2): p. 279-94, vii.
22. Kerstens, M.N., A.C. Kobold, M. Volmer, J. Koerts, W.J. Sluiter, and R.P. Dullaart, *Reference values for aldosterone-renin ratios in normotensive individuals and effect of changes in dietary sodium consumption*. Clin.Chem., 2011. **57**(11): p. 1607-1611.
23. Quinkler, M., J. Lepenies, and S. Diederich, *Primary hyperaldosteronism*. Exp.Clin.Endocrinol.Diabetes, 2002. **110**(6): p. 263-271.
24. Arnaldi, G. and M. Boscaro, *Adrenal incidentaloma*. Best.Pract.Res.Clin.Endocrinol.Metab, 2012. **26**(4): p. 405-419.
25. Taylor, P.J., D.P. Cooper, R.D. Gordon, and M. Stowasser, *Measurement of aldosterone in human plasma by semiautomated HPLC-tandem mass spectrometry*. Clin.Chem., 2009. **55**(6): p. 1155-1162.
26. Baron, S., L. Amar, A.L. Faucon, A. Blanchard, L. Baffalio, C. Faucard, S. Travers, J.Y. Pagny, M. Azizi, and P. Houillier, *Criteria for diagnosing primary aldosteronism on the basis of liquid chromatography-tandem mass spectrometry determinations of plasma aldosterone concentration*. J Hypertens, 2018. **36**(7): p. 1592-1601.
27. Ahmed, A.H., R.D. Gordon, N. Sukor, E. Pimenta, and M. Stowasser, *Quality of life in patients with bilateral primary aldosteronism before and during treatment with spironolactone and/or amiloride, including a comparison with our previously published results in those with unilateral disease treated surgically*. J.Clin.Endocrinol.Metab, 2011. **96**(9): p. 2904-2911.
28. Fischer, E., F. Beuschlein, M. Bidlingmaier, and M. Reincke, *Commentary on the Endocrine Society Practice Guidelines: Consequences of adjustment of antihypertensive medication in screening of primary aldosteronism*. Rev.Endocr.Metab Disord., 2011. **12**(1): p. 43-48.
29. Mulatero, P., R.G. Dluhy, G. Giacchetti, M. Boscaro, F. Veglio, and P.M. Stewart, *Diagnosis of primary aldosteronism: from screening to subtype differentiation*. Trends Endocrinol.Metab, 2005. **16**(3): p. 114-119.
30. Seiler, L., L.C. Rump, J. Schulte-Monting, M. Slawik, K. Borm, H. Pavenstadt, F. Beuschlein, and M. Reincke, *Diagnosis of primary aldosteronism: value of different screening parameters and influence of antihypertensive medication*. Eur.J.Endocrinol., 2004. **150**(3): p. 329-337.
31. Mulatero, P., S.M. di Cella, S. Monticone, D. Schiavone, M. Manzo, G. Mengozzi, F. Rabbia, M. Terzolo, E.P. Gomez-Sanchez, C.E. Gomez-Sanchez, and F. Veglio, *18-hydroxycorticosterone, 18-hydroxycortisol, and 18-oxocortisol in the diagnosis of primary aldosteronism and its subtypes*. J.Clin.Endocrinol.Metab, 2012. **97**(3): p. 881-889.
32. Connolly, T.M., P. Vecsei, D. Haack, K.H. Kohl, S. Abdelhamid, and A. Ammenti, *Aldosterone diagnosis in hypertension: comparative evaluation of radioimmunoassays for urinary aldosterone and 18-OH-corticosterone*. Klin.Wochenschr., 1978. **56 Suppl 1**: p. 173-181.
33. Wu, V.C., C.C. Kuo, H.W. Chang, C.T. Tsai, C.Y. Lin, L.Y. Lin, Y.H. Lin, S.M. Wang, K.H. Huang, C.C. Fang, Y.L. Ho, K.L. Liu, C.C. Chang, S.C. Chueh, S.L. Lin, R.F. Yen, and K.D. Wu, *Diagnosis of primary aldosteronism: comparison of post-captopril active renin concentration and plasma renin activity*. Clin.Chim.Acta, 2010. **411**(9-10): p. 657-663.
34. Castro, O.L., X. Yu, and D.C. Kem, *Diagnostic value of the post-captopril test in primary aldosteronism*. Hypertension, 2002. **39**(4): p. 935-938.

35. Kempers, M.J., J.W. Lenders, O.L. van, G.J. van der Wilt, L.J. Schultze Kool, A.R. Hermus, and J. Deinum, *Systematic review: diagnostic procedures to differentiate unilateral from bilateral adrenal abnormality in primary aldosteronism*. *Ann.Intern.Med.*, 2009. **151**(5): p. 329-337.
36. Mulatero, P., C. Bertello, D. Rossato, G. Mengozzi, A. Milan, C. Garrone, G. Giraudo, G. Passarino, D. Garaballo, A. Verhovez, F. Rabbia, and F. Veglio, *Roles of clinical criteria, computed tomography scan, and adrenal vein sampling in differential diagnosis of primary aldosteronism subtypes*. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, 2008. **93**(4): p. 1366-1371.
37. Prochazka, V., Z. Kala, M. Jira, K. Stary, S. Bohata, and I. Penka, *[Laparoscopic adrenalectomy--indications and selection criteria]*. *Rozhl.Chir*, 2012. **91**(4): p. 230-234.
38. Stewart, P.M. and B. Allolio, *Adrenal vein sampling for Primary Aldosteronism: time for a reality check*. *Clin.Endocrinol.(Oxf)*, 2010. **72**(2): p. 146-148.
39. Kahn, S.L. and J.F. Angle, *Adrenal vein sampling*. *Tech.Vasc.Interv.Radiol.*, 2010. **13**(2): p. 110-125.
40. Mengozzi, G., D. Rossato, C. Bertello, C. Garrone, A. Milan, R. Pagni, F. Veglio, and P. Mulatero, *Rapid cortisol assay during adrenal vein sampling in patients with primary aldosteronism*. *Clin.Chem.*, 2007. **53**(11): p. 1968-1971.
41. Potthoff, S.A., F. Beuschlein, and O. Vonend, *[Primay hyperaldosteronism--diagnostic and treatment]*. *Dtsch.Med.Wochenschr.*, 2012. **137**(48): p. 2480-2484.
42. Pang, T.C., C. Bambach, J.C. Monaghan, S.B. Sidhu, A. Bune, L.W. Delbridge, and M.S. Sywak, *Outcomes of laparoscopic adrenalectomy for hyperaldosteronism*. *ANZ.J.Surg.*, 2007. **77**(9): p. 768-773.
43. Lumachi, F., M. Ermani, S.M. Basso, D. Armanini, M. Iacobone, and G. Favia, *Long-term results of adrenalectomy in patients with aldosterone-producing adenomas: multivariate analysis of factors affecting unresolved hypertension and review of the literature*. *Am.Surg.*, 2005. **71**(10): p. 864-869.
44. Catena, C., G. Colussi, E. Nadalini, A. Chiuch, S. Baroselli, R. Lapenna, and L.A. Sechi, *Cardiovascular outcomes in patients with primary aldosteronism after treatment*. *Arch.Intern.Med.*, 2008. **168**(1): p. 80-85.
45. Stowasser, M., S.A. Klemm, T.J. Tunny, W.J. Storie, J.C. Rutherford, and R.D. Gordon, *Response to unilateral adrenalectomy for aldosterone-producing adenoma: effect of potassium levels and angiotensin responsiveness*. *Clin.Exp.Pharmacol.Physiol*, 1994. **21**(4): p. 319-322.
46. Sechi, L.A., G. Colussi, F.A. Di, and C. Catena, *Cardiovascular and renal damage in primary aldosteronism: outcomes after treatment*. *Am.J.Hypertens.*, 2010. **23**(12): p. 1253-1260.
47. Pisoni, R., M.C. Acelajado, F.R. Cartmill, T. Dudenbostel, L.J. Dell'Italia, S.S. Cofield, S. Oparil, and D.A. Calhoun, *Long-term effects of aldosterone blockade in resistant hypertension associated with chronic kidney disease*. *J.Hum.Hypertens.*, 2012. **26**(8): p. 502-506.
48. Parthasarathy, H.K., J. Menard, W.B. White, W.F. Young, Jr., G.H. Williams, B. Williams, L.M. Ruilope, G.T. McInnes, J.M. Connell, and T.M. MacDonald, *A double-blind, randomized study comparing the antihypertensive effect of eplerenone and spironolactone in patients with hypertension and evidence of primary aldosteronism*. *J.Hypertens.*, 2011. **29**(5): p. 980-990.
49. McKenna, T.J., S.J. Sequeira, A. Heffernan, J. Chambers, and S. Cunningham, *Diagnosis under random conditions of all disorders of the renin-angiotensin-aldosterone axis, including primary hyperaldosteronism*. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, 1991. **73**(5): p. 952-957.
50. Tanabe, A., M. Naruse, S. Takagi, K. Tsuchiya, T. Imaki, and K. Takano, *Variability in the renin/aldosterone profile under random and standardized sampling conditions in primary aldosteronism*. *J.Clin.Endocrinol.Metab*, 2003. **88**(6): p. 2489-2494.
51. Stowasser, M., R.D. Gordon, J.C. Rutherford, N.Z. Nikwan, N. Daunt, and G.J. Slater, *Diagnosis and management of primary aldosteronism*. *J.Renin.Angiotensin.Aldosterone.Syst.*, 2001. **2**(3): p. 156-169.
52. Kawasaki, T., P. Cugini, K. Uezono, H. Sasaki, K. Itoh, M. Nishiura, and K. Shinkawa, *Circadian variations of total renin, active renin, plasma renin activity and plasma aldosterone in clinically healthy young subjects*. *Horm.Metab Res.*, 1990. **22**(12): p. 636-639.

53. Seifarth, C., S. Trenkel, H. Schobel, E.G. Hahn, and J. Hensen, *Influence of antihypertensive medication on aldosterone and renin concentration in the differential diagnosis of essential hypertension and primary aldosteronism*. Clin.Endocrinol.(Oxf), 2002. **57**(4): p. 457-465.
54. Bland, J.M. and D.G. Altman, *Agreement between methods of measurement with multiple observations per individual*. J Biopharm Stat, 2007. **17**(4): p. 571-82.
55. Giavarina, D., *Understanding Bland Altman analysis*. Biochem Med (Zagreb), 2015. **25**(2): p. 141-51.
56. Mandrekar, J.N., *Receiver operating characteristic curve in diagnostic test assessment*. J Thorac Oncol, 2010. **5**(9): p. 1315-6.
57. Perschel, F.H., R. Schemer, L. Seiler, M. Reincke, J. Deinum, C. Maser-Gluth, D. Mechelhoff, R. Tauber, and S. Diederich, *Rapid screening test for primary hyperaldosteronism: ratio of plasma aldosterone to renin concentration determined by fully automated chemiluminescence immunoassays*. Clin Chem, 2004. **50**(9): p. 1650-5.
58. Tanabe, A., M. Naruse, S. Takagi, K. Tsuchiya, T. Imaki, and K. Takano, *Variability in the renin/aldosterone profile under random and standardized sampling conditions in primary aldosteronism*. J Clin Endocrinol Metab, 2003. **88**(6): p. 2489-94.
59. Mulatero, P., F. Rabbia, A. Milan, C. Paglieri, F. Morello, L. Chiandussi, and F. Veglio, *Drug effects on aldosterone/plasma renin activity ratio in primary aldosteronism*. Hypertension, 2002. **40**(6): p. 897-902.
60. Ahmed, A.H., M. Calvird, R.D. Gordon, P.J. Taylor, G. Ward, E. Pimenta, R. Young, and M. Stowasser, *Effects of two selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants, sertraline and escitalopram, on aldosterone/renin ratio in normotensive depressed male patients*. J Clin Endocrinol Metab, 2011. **96**(4): p. 1039-45.
61. Stowasser, M., A.H. Ahmed, E. Pimenta, P.J. Taylor, and R.D. Gordon, *Factors affecting the aldosterone/renin ratio*. Horm Metab Res, 2012. **44**(3): p. 170-6.
62. Newton-Cheh, C., C.Y. Guo, P. Gona, M.G. Larson, E.J. Benjamin, T.J. Wang, S. Kathiresan, C.J. O'Donnell, S.L. Musone, A.L. Camargo, J.A. Drake, D. Levy, J.N. Hirschhorn, and R.S. Vasan, *Clinical and genetic correlates of aldosterone-to-renin ratio and relations to blood pressure in a community sample*. Hypertension, 2007. **49**(4): p. 846-856.
63. Bravo, E.L. and M.A. Rafeq, *New insight into the role of aldosterone/renin ratio in elevated peripheral and central blood pressure*. J.Am.Coll.Cardiol., 2010. **55**(19): p. 2181-2182.
64. Stowasser, M. and R.D. Gordon, *Aldosterone assays: an urgent need for improvement*. Clin.Chem., 2006. **52**(9): p. 1640-1642.
65. Van Der Gugten, J.G., J. Dubland, H.F. Liu, A. Wang, C. Joseph, and D.T. Holmes, *Determination of serum aldosterone by liquid chromatography and tandem mass spectrometry: a liquid-liquid extraction method for the ABSCIEX API-5000 mass spectrometry system*. J.Clin.Pathol., 2012. **65**(5): p. 457-462.
66. Cartledge, S. and N. Lawson, *Aldosterone and renin measurements*. Ann.Clin.Biochem., 2000. **37** (Pt 3): p. 262-278.
67. Ahmed, A.H., R.D. Gordon, P.J. Taylor, G. Ward, E. Pimenta, and M. Stowasser, *Effect of contraceptives on aldosterone/renin ratio may vary according to the components of contraceptive, renin assay method, and possibly route of administration*. J.Clin.Endocrinol.Metab, 2011. **96**(6): p. 1797-1804.
68. Pizzolo, F., R. Raffaelli, A. Memmo, L. Chiecchi, C. Pavan, P. Guarini, G.C. Guidi, M. Franchi, R. Corrocher, and O. Olivieri, *Effects of female sex hormones and contraceptive pill on the diagnostic work-up for primary aldosteronism*. J.Hypertens., 2010. **28**(1): p. 135-142.
69. Pitarresi, T.M., S. Rubattu, R. Heinrikson, and J.E. Sealey, *Reversible cryoactivation of recombinant human prorenin*. J Biol Chem, 1992. **267**(17): p. 11753-9.
70. Dorrian, C.A., B.J. Toole, S. Alvarez-Madrado, A. Kelly, J.M. Connell, and A.M. Wallace, *A screening procedure for primary aldosteronism based on the Diasorin Liaison automated chemiluminescent immunoassay for direct renin*. Ann.Clin.Biochem., 2010. **47**(Pt 3): p. 195-199.

71. Hannemann, A., N. Friedrich, J. Ludemann, H. Volzke, R. Rettig, J. Peters, M. Reincke, A. Doring, M. Nauck, and H. Wallaschofski, *Reference intervals for aldosterone, renin, and the aldosterone-to-renin ratio in the population-based Study of Health in Pomerania (SHIP-1)*. *Horm Metab Res*, 2010. **42**(6): p. 392-9.
72. Unger, N., S. Lopez, I. C. Pitt, M.K. Walz, T. Philipp, K. Mann, and S. Petersenn, *Comparison of active renin concentration and plasma renin activity for the diagnosis of primary hyperaldosteronism in patients with an adrenal mass*. *Eur.J.Endocrinol.*, 2004. **150**(4): p. 517-523.
73. Rossi, G.P., G. Ceolotto, G. Rossitto, T.M. Seccia, G. Maiolino, C. Berton, D. Basso, and M. Plebani, *Prospective validation of an automated chemiluminescence-based assay of renin and aldosterone for the work-up of arterial hypertension*. *Clin Chem Lab Med*, 2016. **54**(9): p. 1441-50.
74. Burrello, J., S. Monticone, F. Buffolo, M. Lucchiari, M. Tetti, F. Rabbia, G. Mengozzi, T.A. Williams, F. Veglio, and P. Mulatero, *Diagnostic accuracy of aldosterone and renin measurement by chemiluminescent immunoassay and radioimmunoassay in primary aldosteronism*. *J Hypertens*, 2016. **34**(5): p. 920-7.
75. Schirpenbach, C., L. Seiler, C. Maser-Gluth, F. Beuschlein, M. Reincke, and M. Bidlingmaier, *Automated chemiluminescence-immunoassay for aldosterone during dynamic testing: comparison to radioimmunoassays with and without extraction steps*. *Clin.Chem.*, 2006. **52**(9): p. 1749-1755.
76. Glinicki, P., W. Jeske, L. Bednarek-Papierska, A. Kruszynska, M. Gietka-Czernel, E. Roslonowska, J. Slowinska-Srzednicka, A. Kasperlik-Zaluska, and W. Zgliczynski, *The ratios of aldosterone / plasma renin activity (ARR) versus aldosterone / direct renin concentration (ADRR)*. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*, 2015. **16**(4): p. 1298-305.
77. Gallay, B.J., S. Ahmad, L. Xu, B. Toivola, and R.C. Davidson, *Screening for primary aldosteronism without discontinuing hypertensive medications: plasma aldosterone-renin ratio*. *Am.J.Kidney Dis.*, 2001. **37**(4): p. 699-705.
78. Oelkers, W., F.M. Helmerhorst, W. Wuttke, and R. Heithecker, *Effect of an oral contraceptive containing drospirenone on the renin-angiotensin-aldosterone system in healthy female volunteers*. *Gynecol.Endocrinol.*, 2000. **14**(3): p. 204-213.
79. Calhoun, D.A., M.K. Nishizaka, M.A. Zaman, R.B. Thakkar, and P. Weissmann, *Hyperaldosteronism among black and white subjects with resistant hypertension*. *Hypertension*, 2002. **40**(6): p. 892-6.

Eidesstattliche Erklärung

„Ich, Claudius Broderson, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Laborbeurteilung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems: Evaluation im Praxisalltag und Vergleich verschiedener Methoden zur Renin-Bestimmung“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

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

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

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

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

Danksagung

Ich danke meinem Doktorvater für eine persönliche, optimistische und pragmatische Betreuung und prompte Antwort auf jede meiner zahlreichen Fragen und entstandenen Problemen, insbesondere vor dem Hintergrund der parallel laufenden Facharztausbildung, sowie den allzeit freundlichen und respektvollen Umgang miteinander. Weiterer Dank gilt meiner Familie für ihre Unterstützung und Liebe, die es mir überhaupt erst ermöglicht hat, meine Ideen und Pläne bis zu diesem Punkt zu verwirklichen, meiner Frau für ihre Geduld und Motivation in stressreichen Zeiten, meiner Schwiegermutter und meinen besten Freunden für ihre Anregungen.