

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

DISSERTATION

Kochsalzinfusionstest und Subdifferenzierung und Outcome des primären  
Hyperaldosteronismus:

Analyse des Deutschen Conn-Registers

zur Erlangung des akademischen Grades

Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät

Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Marianne Weigel

aus Donskoje/Kasachstan

Datum der Promotion:

04.09.2015

## Inhaltsverzeichnis

<b>Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>5</b>
<b>Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>7</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>8</b>
<b>Abstract in Deutsch .....</b>	<b>10</b>
<b>Abstract in Englisch.....</b>	<b>12</b>
<b>I. Einleitung.....</b>	<b>14</b>
1.1. Ätiologie.....	14
1.2. Pathophysiologie.....	14
1.2.1. ENaC.....	14
1.2.2. Na-K-ATPase .....	15
1.2.3. Mutationen.....	16
1.2.3.1. Kaliumkanalmutationen.....	16
1.2.3.2. ATPase Mutationen.....	16
1.2.3.3. Calciumkanalmutation.....	17
1.3. Epidemiologie .....	17
1.4. Morbidität und Mortalität.....	18
1.4.1. Wirkung des Aldosterons am Herzgewebe .....	18
1.4.2. Wirkung des Aldosterons am Nierengewebe .....	19
1.4.3. Wirkung des Aldosterons am Gefäßsystem.....	20
1.4.4. weitere Komorbiditäten.....	20
1.4.5. Mortalität .....	21
1.5. Diagnostik.....	21
1.5.1. Screening .....	21
1.5.2. Bestätigungstests .....	22
1.5.2.1 Intravenöser Kochsalzbelastungstest.....	23
1.5.2.2 Captopril-Test .....	24
1.5.2.3. Fludrocortison-Suppressionstest.....	24
1.5.2.4. Oraler Kochsalzbelastungstest.....	25
1.5.3. Vergleich der Bestätigungstests .....	26
1.5.3.1. Vergleich des Kochsalzinfusionstestes mit dem Captopril-Test.....	26
1.5.3.2. Vergleich des Kochsalzinfusionstestes mit dem Fludrocortison-Suppressionstest .....	27

1.5.3.3. Vergleich des Kochsalzinfusionstestes mit Aldosteronmetaboliten im Urin.....	27
1.5.3.4. Cut-off Wert des Aldosterons für den Kochsalzinfusionstest .....	27
1.5.4. Subtypisierung mittels bildgebender Verfahren und Nebennierenvenen-Katheter ...	28
1.6. Fragestellung .....	29
<b>II. Methodik .....</b>	<b>31</b>
2.1. Studiendesign .....	31
2.2. Gesamtstudienpopulation und Subgruppeneinteilung .....	32
2.3. Definitionen der einzelnen Outcome-Stufen .....	33
2.4. Analyse des Kortisols während des Kochsalzinfusionstestes .....	33
2.5. Recherche der aktuellen Datenlage zum Thema Vergleich der Bestätigungstests bei PA .....	34
2.6. statistische Methoden .....	35
<b>III. Ergebnisse.....</b>	<b>36</b>
3.1. Baseline Charakteristika aller Patienten.....	36
3.1.1. Charakteristika der 256 Patienten.....	36
3.1.2. Charakteristika der 126 Patienten.....	36
3.2. Charakteristika der beiden Subgruppen .....	37
3.2.1. Diagnoseparameter .....	37
3.2.2. klinische und biochemische Parameter.....	38
3.2.3. lineare Regression.....	38
3.2.4. Komorbiditäten .....	39
3.3. Follow-up Charakteristika der beiden Subgruppen.....	40
3.3.1. adrenaletomierte Patienten.....	40
3.3.2. medikamentös behandelte Patienten.....	42
3.4. Vergleich Baseline vs. Follow-up beider Subgruppen je nach Therapieart .....	44
3.4.1. Vergleich zwischen Baseline und Follow-up bei adrenaletomierten Patienten .....	44
3.4.2. Vergleich der Komorbiditäten von adrenaletomierten Patienten zwischen Baseline und Follow-up in den Subgruppen 1 und 2 .....	47
3.4.3. Vergleich zwischen Baseline und Follow-up bei medikamentös behandelten Patienten.....	48
3.4.4. Vergleich der Komorbiditäten von medikamentös behandelten Patienten zwischen Baseline und Follow-up in den Subgruppen 1 und 2.....	50
3.4.5. Vergleich der Komorbiditäten zwischen Baseline und Follow up in den beiden Subgruppen ohne Berücksichtigung der Therapieart.....	51
3.5. Mutationsstatus der beiden Subgruppen.....	52

3.5.1. Prävalenz von Mutationen .....	52
3.5.2. Mutationsprävalenz in den Subgruppen.....	52
3.6. Outcome der beiden Subgruppen je nach Therapieart.....	53
3.6.1. Outcome der adrenaletomierten Patienten.....	55
3.6.1.1. Einteilung nach Outcome-Definition .....	55
3.6.1.2. Aldosteronoma resolution score nach Zarnegar et al .....	56
3.6.2. Outcome der medikamentös behandelten Patienten .....	57
3.7. Parameter des Kochsalzinfusionstestes und Subtypisierung.....	58
3.7.1. Veränderung der Parameter während des Kochsalzinfusionstestes .....	58
3.7.1.1. Parameter des Kochsalzinfusionstestes von 126 Patienten .....	58
3.7.1.2. Kortisol während des Kochsalzinfusionstestes von 53 Patienten aufgeteilt in 2 Subgruppen .....	61
3.7.2. Parameter des Kochsalzinfusionstestes und die Subdifferenzierung .....	63
3.8. Parameter des Kochsalzinfusionstestes und das Outcome.....	64
<b>IV. Diskussion.....</b>	<b>67</b>
4.1. Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen.....	67
4.1.1. Baseline und Follow-up .....	67
4.1.2. Kochsalzinfusionstest und weitere Diagnostik .....	73
4.1.3. Subtypisierung und Schwere der Erkrankung .....	74
4.1.4. Outcome.....	75
4.1.5. Vergleich der Heilungsrate mit anderen Studien.....	76
4.1.6. mögliche Einflussfaktoren auf das Outcome .....	77
4.2. Veränderung der Parameter während des Kochsalzinfusionstestes.....	79
4.2.1. Kochsalzinfusionstest und der Subtyp .....	79
4.2.2. Kochsalzinfusionstest und das Outcome .....	80
4.3. Klinische Implikation .....	81
4.4. Limitationen der Studie .....	81
<b>V. Zusammenfassung .....</b>	<b>84</b>
<b>VI. Literaturverzeichnis .....</b>	<b>87</b>
<b>VII. Eidesstattliche Versicherung .....</b>	<b>93</b>
<b>VIII. Publikationsliste.....</b>	<b>94</b>
<b>IX. Danksagung .....</b>	<b>95</b>

## Tabellenverzeichnis

<b>Tabelle 1:</b> Baseline Merkmale der 126 prospektiven PA Patienten abhängig von Aldosteronspiegeln nach KIT. ....	37
<b>Tabelle 2:</b> klinische und biochemische Parameter der 126 prospektiven PA Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.....	38
<b>Tabelle 3:</b> Komorbiditäten der 126 prospektiven PA Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	40
<b>Tabelle 4:</b> klinische und biochemische Parameter von 80 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre (Follow-up) nach Adrenalectomie, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	41
<b>Tabelle 5:</b> Komorbiditäten der 80 adrenalectomierten Patienten zum Zeitpunkt Follow-up; aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	42
<b>Tabelle 6:</b> klinische und biochemische Parameter von 46 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre (Follow-up) nach Therapiebeginn mit MR-Antagonisten, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	43
<b>Tabelle 7:</b> Komorbiditäten der 46 mit MR-Antagonisten behandelten Patienten zum Zeitpunkt Follow-up; aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	44
<b>Tabelle 8:</b> klinische und biochemische Parameter von 80 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre nach Adrenalectomie im Vergleich Baseline vs. Follow-up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	46
<b>Tabelle 9:</b> Komorbiditäten der 80 prospektiven PA Patienten nach Adx zum Zeitpunkt Follow-up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	47
<b>Tabelle 10:</b> klinische und biochemische Parameter von 46 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre nach Therapiebeginn mit MR-Antagonisten im Vergleich zwischen Baseline und Follow-up; aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. ....	49
<b>Tabelle 11:</b> Komorbiditäten der 46 prospektiven, medikamentös behandelten PA Patienten zum Zeitpunkt Follow-up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.....	50
<b>Tabelle 12:</b> Vergleich der Komorbiditätenprävalenz von 126 prospektiven PA Patienten zwischen Baseline and Follow up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post KIT Aldosteronspiegeln und der Gesamtgruppe.....	51
<b>Tabelle 13:</b> Outcome Daten der 80 adrenalectomierten Patienten. ....	55
<b>Tabelle 14:</b> Heilungswahrscheinlichkeit nach dem Aldosteronoma resolution score (ARS) von 66 adrenalectomierten Patienten (getrennt nach Subgruppen) verglichen mit dem tatsächlichen Outcome Status.....	57
<b>Tabelle 15:</b> Outcome-Daten der 46 mit MR-Antagonisten behandelten Patienten. ....	58
<b>Tabelle 16:</b> Kortisol, Kortisolabfall, AKQ prä- und post-KIT und AKQ-Veränderung bei 53 prospektiven PA Patienten.....	61

<b>Tabelle 17:</b> Kortisol, Kortisolabfall, AKQ prä- und post-KIT und AKQ-Veränderung bei 53 prospektiven PA Patienten, aufgeteilt nach Aldosteronspiegeln post-KIT.....	62
<b>Tabelle 18:</b> KIT-Parameter der beiden Subtypen "Bilateraler" und "unilateraler" PA.....	63
<b>Tabelle 19:</b> KIT-Parameter in den einzelnen Outcomestufen. ....	65
<b>Tabelle 20:</b> KIT-Parameter und ihre Veränderung während des KIT abhängig vom Besserungsstatus. A: nach Adrenalectomie; B: nach medikamentöser Behandlung. ....	66

## **Abbildungsverzeichnis**

<b>Abbildung 1:</b> Studiendesign und Subgruppenbildung. ....	32
<b>Abbildung 2 A:</b> Zusammenhang zwischen Aldosteron post-KIT und Kalium zum Zeitpunkt Baseline. ...	39
<b>Abbildung 3:</b> Mutationsprävalenz der 46 untersuchten PA Patienten nach Adrenalektomie .....	52
<b>Abbildung 4:</b> Mutationsprävalenz abhängig von post-KIT Aldosteronspiegeln zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Subgruppe 1(blaue Balken)= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2 (grüne Balken)= post-KIT Aldosteron >100 ng/l. ....	53
<b>Abbildung 5:</b> vorliegende Mutationen in den beiden Subgruppen abhängig von post-KIT Aldosteronspiegeln zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Subgruppe 1(blaue Balken)= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2 (grüne Balken)= post-KIT Aldosteron >100 ng/l.....	53
<b>Abbildung 6:</b> Outcome Status der 126 PA Patienten nach Adrenalektomie(A) oder medikamentöser Therapie (B) abhängig von Aldosteronspiegeln post-KIT zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.....	54
<b>Abbildung 7:</b> Aldosteron prä- (blau) und post- (grün) KIT und Aldosteronabfall (beige) in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l).....	59
<b>Abbildung 8:</b> Renin prä- (blau) und post- (grün) KIT in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l). ....	60
<b>Abbildung 9:</b> ARQ prä- (blau) und post-(grün) KIT und ARQ-Abfall (beige) in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l). ....	60
<b>Abbildung 10:</b> Aldosteron-Kortisol-Quotient (AKQ) prä- (blau) und post-(grün) KIT und AKQ-Abfall (beige) in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l). ....	62
<b>Abbildung 11:</b> Aldosteron-Renin-Quotient prä- und post-KIT je nach Subtyppufferenzierung.....	63
<b>Abbildung 12:</b> Verteilung des AKQ mit dem Cut-off Wert 30 bei den Patienten mit unilateraler und bilateraler Mehrsekretion.....	64

## Abkürzungsverzeichnis

ACE	Angiotensin-converting-enzyme
ACTH	Adrenocotrikotropes Hormon
Adx	Adrenalektomie
AKQ	Aldosteron/Kortisol-Quotient
ANP	Atriales natriuretisches Peptid
APA	Aldosteron-produzierendes Adenom
ARQ	Aldosteron/Renin-Quotient
ARS	Aldosteronoma resolution score
ATPase	Adenosintriphosphatase
AUC	area under the curve
AVP	Arginin-Vasopressin
BMI	body mass index
Ca	Kalzium
CLIA	Chemiluminescent immunoassay
CT	Computertomographie
DGE	Deutsche Gesellschaft für Endokrinologie
DNS	Desoxyribonukleinsäure
EH	essentielle Hypertonie
EKG	Elektrokardiogramm
ENaC	Epithelialer Natrium-Kanal
FST	Fludrokortison-Suppressionstest
GFR (MDRD)	Glomeruläre Filtrationsrate (berechnet nach: Modification of Diet in Renal Disease)
HDL	high density lipoproteine
IHA	Idiopathischer Hyperaldosteronismus
IL-6	Interleukin-6
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
KHK	Koronare Herzerkrankung
KI	Konfidenzintervall
KIT	Kochsalzinfusionstest



LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
MCP-1	macrophage-chemoattractant protein 1
MR	Mineralkortikoid-Rezeptor
MRT	Magnetresonanztomographie
MS	Metabolisches Syndrom
MW	Mittelwert
n	Patientenanzahl
Na	Natrium
Na-K-ATPase	Natrium-Kalium-ATPase
Nedd4-2	neural precursor cell expressed developmentally down-regulated protein 4-2
NNR	Nebennierenrinde
NNVK	Nebennierenvenenkatheter
OR	Odds ratio
PA	primärer Hyperaldosteronismus
PAI-1	Plasminogen-Aktivator-Inhibitor 1
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PRA	Plasma-Renin-Aktivität
PRK	Plasma-Renin-Konzentration
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RIA	Radioimmunoassay
ROC	receiver of operating characteristic
SD	standard deviation
SGK-1	Serum-Glukokortikoid induzierte Kinase 1
TVT	tiefe Venenthrombose

## **Abstract in Deutsch**

**Einleitung und Fragestellung:** Der Kochsalzinfusionstest (KIT) ist der am häufigsten eingesetzte Bestätigungstest für den primären Hyperaldosteronismus (PA) an den Zentren, die an das Deutsche Conn-Register angeschlossen sind. Die KIT-Ergebnisse werden in diesen Zentren wie folgt beurteilt: post-KIT Aldosteronwerte  $>50$  ng/l bestätigen die Diagnose „primärer Hyperaldosteronismus“ und Werte  $<50$  ng/l schließen diese aus. Unsere Arbeitshypothese ist, dass die post-KIT Aldosteronkonzentrationen den Schweregrad des PA anzeigen und das Outcome voraussagen könnten.

**Methodik:** 256 neu diagnostizierte PA Patienten aus dem deutschen Conn-Register erhielten den KIT und wurden 6 und 12 Monate nach Therapiebeginn wieder evaluiert. Daten von 126 Patienten mit kompletierter Follow-up-Untersuchung ( $1,2 \pm 0,3$  Jahre nach Therapiebeginn) wurden analysiert. Die Patienten wurden gemäß der KIT-Ergebnisse in 2 Subgruppen aufgeteilt: Subgruppe 1 mit Aldosteronspiegeln zwischen 50 und 100 ng/l post-KIT ( $n=38$ ) und Subgruppe 2 mit Aldosteronwerten  $>100$  ng/l post-KIT ( $n=88$ ). Bei 46 von 80 adrenaletomierten Patienten lagen Ergebnisse der genetischen Testung auf Mutationen vor.

**Ergebnisse:** Die Patientengruppe mit post-KIT Aldosteronspiegeln  $>100$  ng/l hatte eine signifikant kürzere Hypertoniedauer ( $7,5$  vs.  $11,7$  Jahre (Median),  $p=0,014$ ), höhere systolische Blutdruckwerte ( $151 \pm 16$  vs.  $143 \pm 17$  mmHg,  $p=0,036$ ), niedrigere Kaliumspiegel im Serum ( $3,3 \pm 0,6$  vs.  $3,5 \pm 0,4$  mmol/l,  $p=0,006$ ), höhere Proteinausscheidung im 24 h Urin ( $7,4$  vs.  $5,4$  mg/dl (Median),  $p=0,012$ ) und wies einen höheren Frauenanteil auf ( $p=0,038$ ). Diese Patientengruppe war öfter von einer unilateralen Erkrankung ( $p<0,005$ ) mit größeren Tumoren ( $14 \pm 10$  vs.  $7 \pm 10$  mm,  $p=0,021$ ) betroffen, unterzog sich öfter einer Adrenaletomie (Adx) ( $75\%$  vs.  $37\%$ ,  $p<0,005$ ), benötigte eine kleinere Anzahl an Antihypertensiva nach Adx ( $1,2 \pm 1,2$  vs.  $2,5 \pm 1,4$ ,  $p=0,001$ ), zeigte eine schnellere Besserung der Proteinurie (mit medikamentöser Therapie  $p=0,049$ ; nach Adx  $p<0,005$ ) und eine höhere Mutationsrate ( $p=0,047$ ). Es wurden keine Unterschiede in den Prävalenzen von Komorbiditäten zu Zeitpunkten Baseline und Follow-up festgestellt. Die Patienten mit post-KIT Aldosteronspiegeln  $>100$  ng/l hatten einen signifikant höheren Aldosteron-Renin-Quotienten (ARQ) prä- und post-KIT. Die Analyse der unilateralen Fälle zeigte einen

signifikant höheren ARQ prä- und post-KIT im Vergleich zu bilateralen Fällen. Die ARQ prä- und post-KIT nahmen kontinuierlich vom Outcome-Status „geheilt“ in Richtung „keine Besserung“ ab ( $p=0,048$  und  $0,041$ ). Gegensätzlich verhielten sich die Reninspiegel prä-KIT: diese stiegen in Richtung „keine Besserung“ an ( $p=0,007$ ).

**Diskussion:** Wir zeigten, dass Patienten mit post-KIT Aldosteron Werten  $>100$  ng/l eine schnellere und progressivere Form von PA zu haben scheinen, häufiger verursacht durch unilaterale Erkrankung mit größeren Tumoren. Trotzdem scheinen diese Patienten verglichen mit der Subgruppe 1 mit post-KIT Aldosteronwerten 50-100 ng/l ein besseres Outcome zu haben: Verbesserung nach Adx in 77% vs. 50% der Patienten ( $p=0,038$ ) und tendenzielle Verbesserung nach medikamentöser Therapie in 82% vs. 71% der Patienten ( $p$ -Wert nicht signifikant).

## **Abstract in English**

**Objective:** The most widely used confirmatory test for primary aldosteronism (PA) in Germany is the saline infusion test (SIT). SIT results are judged as follows: post-test aldosterone levels  $<50\text{ng/l}$  exclude whereas levels  $>50\text{ng/l}$  confirm PA. We hypothesized that post SIT aldosterone concentrations indicate the severity of PA and might predict outcome.

**Methods:** 256 PA patients of the German Conn Registry prospectively underwent SIT and were re-evaluated every 6 to 12 months following treatment. The data of 126 patients with complete follow up of  $1.2\pm 0.3$  years after diagnosis were analyzed. Patients were divided into two groups with post-SIT aldosterone levels of  $50\text{-}100\text{ng/l}$  ( $n=38$ ) and of  $>100\text{ng/l}$  ( $n=88$ ). In 46 of 80 patients who underwent adrenalectomy adrenal tissue was available for genetic testing.

**Results:** Patients with post-SIT aldosterone levels of  $>100\text{ng/l}$  had a significantly shorter duration of hypertension ( $7.5$  vs.  $11.7$  years (median),  $p=0.014$ ), higher systolic blood pressure ( $151\pm 16$  vs.  $143\pm 17$  mmHg,  $p=0.036$ ), lower serum potassium ( $3.3\pm 0.6$  vs.  $3.5\pm 0.4$  mmol/l,  $p=0.006$ ), higher 24h urine protein excretion ( $7.4$  vs.  $5.4$  mg/dl (median),  $p=0.012$ ), and were more often female ( $p=0.038$ ). They showed more often unilateral disease ( $p<0.005$ ) with larger tumors ( $14\pm 10$  vs  $7\pm 10$  mm,  $p=0.021$ ), underwent more often adrenalectomy ( $75\%$  vs.  $37\%$ ,  $p<0.005$ ), required a lower number of antihypertensive drugs after adrenalectomy ( $1.2\pm 1.2$  vs.  $2.5\pm 1.4$ ,  $p=0.001$ ), had a faster normalization of urinary protein excretion (with medical treatment  $p=0.049$ ; with Adx  $p<0.005$ ) at follow-up, and more frequently underlying well characterized mutation ( $p=0.047$ ). No difference was seen in frequency of comorbidities at baseline and follow up. The patients with post-SIT aldosterone levels of  $>100\text{ng/l}$  had significantly higher aldosterone-renin-ratio (ARR) pre and post SIT. Analysis of unilateral PA showed also a significantly higher ARR pre and post SIT compared with bilateral PA. ARR pre and post SIT decreased continuously from the outcome status "cured" towards the outcome status "no improvement" ( $p=0.048$  and  $0.041$ ). In contrast renin concentrations pre SIT increased continuously towards the outcome status "no improvement" ( $p=0.007$ ).

**Conclusions:** PA patients with post-SIT aldosterone levels of  $>100\text{ng/l}$  have a more rapid development of PA caused more frequently by unilateral disease with larger

APAs. However, this group of patients may have a significantly better outcome following specific treatment: outcome improvement after adrenalectomy in 77% vs. 50% ( $p=0.038$ ) and a trend to improvement after medical therapy in 82% vs. 71% (p-value not significant).

## **I. Einleitung**

### **1.1. Ätiologie**

Beim primären Hyperaldosteronismus (PA) produzieren die Zellen, die der Zona glomerulosa der Nebennierenrinde (NNR) entstammen, vermehrt Aldosteron ohne Aktivierung durch das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) [1]. Der Grund für diese autonome Mehrsekretion ist entweder eine bilaterale NNR-Hyperplasie oder ein Aldosteron-produzierendes Adenom (APA) (37,5% bzw. 62,5% der PA Fälle [2]). Seltener Ursachen sind der genetisch bedingte Glukokortikoid-supprimierbare Hyperaldosteronismus [3] mit einer Prävalenz von ca. 1% [4] oder ein Aldosteron-produzierendes Karzinom [5].

Auch eine chronische Aktivierung des RAAS kann zur Überproduktion von Aldosteron führen; dies wird als sekundärer Hyperaldosteronismus bezeichnet. Die Ursache dafür ist eine Abnahme des zirkulierenden Blutvolumens infolge von chronischen Nierenerkrankungen, Herzinsuffizienz und Leberzirrhose. Weitere Ursachen sind chronischer Natriumverlust und Nierenarterienstenose [1].

### **1.2. Pathophysiologie**

Durch den Aldosteronüberschuss werden vermehrt epitheliale Na-Kanäle (ENaC) in die apikale Zellmembran im distalen Tubulus und im Sammelrohr der Niere eingebaut, wodurch der Na (Natrium)-Einstrom in die Zelle steigt [1], und damit auch die Wasserrückresorption. Infolge des elektrochemischen Gradienten wird der passive Kalium-Transfer aus den Tubuluszellen ins Lumen des Tubulus begünstigt. Somit hängt der Kaliumverlust zu einem großen Teil von der Natriumrückresorption im distalen Tubulus ab [6]. Auch die Wasserstoffionensekretion ins Tubuluslumen wird stimuliert [1]. Vor diesem Hintergrund entstehen folgende Symptome beim Hyperaldosteronismus: Hypertonie und ggf. deren Folgeschäden, Hypokaliämie mit den klinischen Zeichen wie Muskelschwäche und proximale Myopathie und metabolische Alkalose [5].

#### **1.2.1. ENaC**

Der epitheliale Na-Kanal ist ein Membranprotein, welches aus 3 Untereinheiten ( $\alpha, \beta, \gamma$ ) besteht. Außer im distalen Tubulus ist dieser noch im distalen Kolon, in den Atemwegen

und im Gangsystem diverser Drüsen zu finden [7]. Mutationen der einzelnen Untereinheiten können zu Funktionsverlust oder Funktionszugewinn führen und Pathologien auslösen. Das Liddle-Syndrom, auch Pseudohyperaldosteronismus genannt, beruht auf einer Mutation der  $\beta$ - und  $\gamma$ -Untereinheit und dem daraus resultierenden länger aktivierten ENaC [7]. Ein Funktionsverlust aufgrund einer Mutation der  $\alpha$ - und  $\beta$ -Untereinheit liegt beim Pseudohypoaldosteronismus 1 vor: hier ist eine Mineralkortikoidresistenz mit Natriumverlust und gestörter Kaliumsekretion vorzufinden [8].

Der Na-Transport über den ENaC wird durch mehrere Faktoren reguliert:

- (1) Hormonell: Der durch Aldosteron aktivierte Mineralrezeptor (MR) verstärkt die Transkription des ENaC und der Serum-Glukokortikoid induzierten Kinase (SGK-1) [9, 10]. SGK-1 phosphoryliert Serinreste in Nedd-4-2, einer E3 ubiquitin-protein Ligase. Nedd-4-2 wird somit inaktiviert. Folglich wird die von Nedd4-2 verursachte Endozytose des ENaC aus der Zellmembran ins Zytosol verhindert. Dadurch bleibt der ENaC länger in der Membran aktiv, was eine stärkere Na-Retention mit sich bringt [11]. Ein weiteres Hormon Arginin-Vasopressin (AVP) erhöht die Konzentration aller ENaC-Untereinheiten, was zu seiner antidiuretischen und antinatriuretischen Wirkung beiträgt [12]. Das atriale natriuretische Peptid (ANP) wirkt dem Aldosteron und dem AVP entgegen. Es inhibiert die Na-Reabsorption im distalen Nephron [13, 14].
- (2) Nedd4-2 und Ubiquitierung von ENaC: Nedd4-2 katalysiert die Ubiquitierung des ENaC und induziert somit den Abbau des membranständigen ENaC [11]. Bei einer Mutation des ENaC wird die Interaktion zu Nedd4-2 gestört und dadurch die Internalisierung und Degradation des Rezeptors reduziert. Das klinische Bild ist das o.g. Liddle-Syndrom [7].
- (3) Phosphorylierung: ausser der SGK-1 gibt es zahlreiche weitere Kinasen, die den ENaC direkt oder indirekt regulieren [15].

### **1.2.2. Na-K-ATPase**

Während der apikale Transport von Natrium durch den ENaC vermittelt wird, wird die Ausschleusung des Natriums auf der basolateralen Seite durch die Na-K-ATPase katalysiert. Na-K-ATPase erfährt eine kontinuierliche Endozytose und einen

lysosomalen Abbau in den Sammelrohrzellen [16]. Die Aktivität der Na-K-ATPase wird einerseits hormonell durch Aldosteron reguliert [17], andererseits wird auch eine enzymatische Regulierung durch die p38 Kinase angenommen [16]. Na-Einstrom inhibiert die p38Kinase-vermittelte Endozytose von Na-K-ATPase, was zu deren höheren Expression und Aktivität auch ohne hormonellen Einfluss führt und dadurch zu schnellerem Na-Austritt aus der Zelle auf der basolateralen Seite[16]. Die beschriebenen Hypothesen implizieren, dass bei Aldosteronexzess und hohem Na-Influx die Aktivität und Expression der Na-K-ATPase sich erhöht. Dies führt zu Na-Aufnahme und Kaliumverlust und letztendlich zu Hypertonie und Hypokaliämie.

### **1.2.3. Mutationen**

Außer des familiären Glukokortikoid-supprimierbaren Hyperaldosteronismus wurden in den letzten Jahren auch somatische Mutationen entdeckt, die mit der PA-Entstehung in Verbindung gebracht werden. Demnach beeinflussen Mutationen folgender Gene die Selektivitätsfilter in der Zelle: KCNJ5 [18], ATP1A1 [19], ATP2B3 [19] und CACNA1D [20]. Die durch die Mutation erhöhte Leitfähigkeit für Natrium führt zu Zelldepolarisation, Aktivierung der spannungsabhängigen Ca-Kanäle, Aldosteronsekretion und zur möglichen Zellproliferation [21].

#### **1.2.3.1. Kaliumkanalmutationen**

Das KCNJ5-Gen kodiert den Kir3.4. Kanal für Kalium und ist in 30-40 % der APAs mutiert [18]. Diese Mutation führt zum Selektivitätsverlust des Kir 3.4. Kanals und dadurch zum vermehrten Na-Einstrom mit konsekutiver Membrandepolarisation [18] [22-24]. Es folgt konstitutive CYP 11B2 (Aldosteron-Synthase) Expression, letztes Enzym der Aldosteronsynthese, welche dann durch Überexpression einen Aldosteronexzess verursacht. Von dieser Mutation sind eher jüngere Frauen betroffen [24, 25].

#### **1.2.3.2. ATPase Mutationen**

Beuschlein et al fanden 2012 zwei weitere ATPase-Mutationen, die zum APA und sekundärer Hypertonie führen. Mutationspositive Fälle in insgesamt 308 APA wiesen mehr männliche Fälle auf, höhere Aldosteronwerte und niedrigere Kaliumwerte im Vergleich zu mutationsnegativen Fällen.



Das Gen ATP1A1 kodiert für die  $\alpha$ -Untereinheit der Na-K-ATPase. Die untersuchte Mutation zeigte eine Prävalenz von 5,2% der APA [19]. Die Na-K-ATPase ist für Ruhe- und Aktionsmembranpotential einer Zelle verantwortlich. Beim Vorliegen einer Mutation zeigte sich in vitro eine reduzierte ATPase-Aktivität und eine reduzierte Affinität für Kalium. Ex vivo Untersuchung zeigte signifikante Depolarisierung im Vergleich zu Gewebezellen ohne Mutation.

Das Gen ATP2B3 kodiert für Calcium-ATPase, welche für Ca(Kalzium)-Homöostase in der Zelle zuständig ist, indem es Calcium aus der Zelle transportiert. Die Prävalenz dieser Genmutation lag hier bei 1,6%. In ex vivo Untersuchungen zeigte sich auch hier eine signifikante Depolarisierung im Vergleich zu Gewebezellen ohne diese Mutation [19].

#### **1.2.3.3. Calciumkanalmutation**

Das Gen CACNA1d kodiert für den Ca-Kanal vom L-Typ: Ca<sub>v</sub> 1.3 . Bei der Mutation der  $\alpha$ 1D-Einheit dieses Ca-Kanals handelt es sich um eine "gain of function"-Mutation. Hier kommt es zu einem erhöhtem Ca-Influx und einer erhöhten Ca-vermittelten Aldosteron-Exkretion [20]. Die Prävalenz dieser Mutation in der APA-Population wird in der ersten Untersuchung mit 4,9% angegeben [20].

### **1.3. Epidemiologie**

Frühere Angaben bzgl. der seltenen Prävalenz des PA in der Hypertoniepopulation von ca. 1% wurden vor ca. 15 Jahren in Frage gestellt. Eine große retrospektive Arbeit von Mulatero et al ergab, dass die Prävalenz, seitdem der Aldosteron-Renin-Quotient (ARQ) anstelle des Serumkaliums als Screening Test weitverbreitet angewendet wird, deutlich gestiegen ist [26]. Dies wurde durch die Einführung von Meßverfahren für die Plasma-Reninkonzentration (PRK) möglich. Die direkte Messung der Reninkonzentration hat die sehr aufwendige und deshalb nur selten verfügbare Messung der Plasma-Renin-Aktivität (PRA) ersetzt. Durch das neue Screening mittels der PRK und des ARQ wurden nun viele PA Patienten mit einem noch normalen Kalium entdeckt. Diese neue Form wurde normokaliämischer PA genannt. Der Anteil der klassischen hypokaliämischen PA-Patienten an allen PA-Patienten liegt zwischen 9 und 37% [26]. Daher wurde das bis dahin verwendete Screeningkriterium „Hypokaliämie“ aufgegeben, welches vor allem nur die hypokaliämischen „klassischen“ PA Patienten entdeckte. Die

Prävalenz des PA wurde inzwischen an mehreren Zentren auf allen fünf Kontinenten untersucht und ergab eine Spanne zwischen 3,2 und 21,7%. Rossi et al gab 2006 eine Prävalenz für den klassischen hypokaliämischen PA, meist verursacht durch ein APA, bei neu diagnostizierten Hypertoniepatienten mit 4,8% an [2]. Auch Gordon et al vermutete 1994 in seiner Arbeit eine höhere Prävalenz des PA auf Grund der doch häufigeren normokaliämen Form von PA [27]

#### **1.4. Morbidität und Mortalität**

Es gibt deutliche Evidenz für ein höheres vaskuläres und kardiovaskuläres Risiko und für eine Nierenschädigung beim PA.

##### **1.4.1. Wirkung des Aldosterons am Herzgewebe**

In der Vergangenheit zeigten klinische und experimentelle Studien, dass der Aldosteronexzess bei PA Patienten viel schneller zu einer linksventrikulären Hypertrophie mit diastolischer Dysfunktion führt als bei den vergleichbaren Patienten mit essentieller Hypertonie (EH) [28, 29]. Dies scheint über die vermehrte Produktion von Entzündungsmediatoren (z.B. PAI-1 [30], MCP-1 [31], IL-6 [32] etc) und eine vermehrte Produktion von Kollagenen und einer Fibrose zu erfolgen. Milliez et al zeigten 2005 als erste Arbeitsgruppe, dass der PA, verglichen mit der essentiellen Hypertonie, mit signifikant höherer kardiovaskulärer Komplikationsrate assoziiert ist: Vorhofflimmern (7,3% vs. 0,6%), linksventrikuläre Hypertrophie diagnostiziert in der Echokardiographie (34% vs. 24%) und Myokardinfarkt (4,0% vs. 0,6%). Die höhere Rate an Arrhythmien führen die Autoren auf die angenommene Hypertrophie und Fibrose zurück [33]. Dass Aldosteron unabhängig vom Blutdruck pathogenetisch beim Entstehen von Herzinsuffizienz eine Rolle spielt, wurde schon in der RALES-Studie bei Patienten mit Herzinsuffizienz diskutiert [34]. Durch eine Blockierung des MR-Rezeptors sank in dieser Studie die Mortalität bei herzinsuffizienten Patienten nach Spironolactonbehandlung. Außerdem war eine Verbesserung der Symptome zu verzeichnen. Der Pathomechanismus der kardialen Fibrose bei PA Patienten wird durch die mikrovaskuläre Inflammation im Myokard [35], eine vermehrte arterielle Steifigkeit [36] sowie Aortensteifigkeit [37] erklärt.

In der retrospektiven Untersuchung von Born-Frontsberg wurden 553 Patienten des Deutschen Conn-Registers auf kardio-und zerebrovaskuläre Komorbiditäten untersucht

[38]. Hier wurde ein Unterschied in der Ereignisrate von Herzinsuffizienz und Angina pectoris zwischen normo- und hypokaliämien Gruppe festgestellt, und zwar zu Gunsten der normokaliämien Form. Die Autoren erklären dies durch die höheren Aldosteronwerte in der hypokaliämien Kohorte und der Hypokaliämie per se. Aber auch das metabolische Syndrom, dessen höhere Rate bei PA Patienten vermutet wird, würde ein Risikofaktor für das Herz-Kreislauf-System darstellen [38, 39].

#### **1.4.2. Wirkung des Aldosterons am Nierengewebe**

Ein Aldosteronüberschuss ist ein Risikofaktor für chronische Nierenschädigung [40, 41]. Tierexperimentelle Untersuchungen zeigten, dass Aldosteron in Kombination mit einer Salzbelastung auf das Nierengewebe entzündungsfördernd wirkt, oxidativen Stress auslöst und somit auch zur Schädigung der Podozyten führt [42-44]. Außerdem scheint Aldosteron eine DNS-Schädigung und Zellalterung am Nierenparenchym zu bewirken [45].

Die Untersuchungen von Sato et al und von Rachmani et al bzgl. der Proteinurie ergaben, dass diese durch die Therapie mit ACE-Inhibitoren und Spironolacton reduziert werden kann [46, 47]. Spätere zahlreiche Untersuchungen haben den Rückgang der Proteinurie je nach Studienintervention (Spironolacton, ACE-Hemmer, Angiotensinrezeptor-Blocker) bestätigt [48-51]. Die Untersuchung von Quinkler et al im Jahr 2005 zeigte, dass die MR-Dichte in der Population mit schwerer Proteinurie hochreguliert ist [52]. Diese Hochregulation korreliert mit Entzündungsmarkern, die vermutlich für eine Entzündungsreaktion, spätere Vernarbung und somit für die Funktionsstörung des Nierenparenchyms verantwortlich sind. An zahlreichen Tierexperimenten konnte gezeigt werden, dass der Aldosteronexzess zusammen mit einem hohen Salzkonsum zur Schädigung des Nierenparenchyms über eine vermehrte Inflammation (Osteopontin, MCP-1, IL-8 etc.) und Fibrosierung führt [53-56].

Auch die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) verändert sich unter dem Aldosteronüberschuss [57]. Es wird angenommen, dass der Aldosteronüberschuss an der Niere eine glomeruläre Hyperfiltration bewirkt [58]. Dadurch wird aber die wirkliche renale Funktion maskiert. Hierzu ergaben die Analysen des Deutschen Conn-Registers, dass nach dem Therapiebeginn des PA die GFR sinkt [59, 60]. Dies ist keine nephrotoxische Nebenwirkung eines MR-Antagonisten oder einer Operation, sondern

eine Demaskierung der bereits verringerten Nierenfunktion. Entgegengesetzt der Theorie der Hyperfiltration vermuten andere Untersucher, dass die Ursache für die erhöhte GFR der erhöhte arterielle Druck sei [57, 61]. In der großen PAPY-Studie konnte kein Unterschied in der GFR zwischen der essentiellen Hypertonie und APA festgestellt werden [61, 62]. Den Rückgang der GFR nach Therapie wird auf die PA induzierte Angiosklerose der Glomeruli, also eine bleibende strukturelle Nierenschädigung, zurückgeführt [61].

Zusätzlich fand man eine höhere Prävalenz und Anzahl von Zysten bei Patienten mit PA als bei Patienten mit EH [63]. Vermehrte Zysten gehen wiederum mit einer schlechten Nierenfunktionsprognose einher [64].

Interessanterweise konnte bei erfolgreicher Therapie mit MR-Antagonisten und/oder ACE-Hemmern ein Sistieren und sogar Rückbildung der jeweiligen Funktionsstörung (linksventrikuläre Hypertrophie, Proteinurie) beobachtet werden [37, 46, 47].

#### **1.4.3. Wirkung des Aldosterons am Gefäßsystem**

Mehrere Untersuchungen zeigten signifikante Gefäßwandveränderungen bei PA Patienten im Vergleich zu EH Patienten: höheres Media/Lumen-Ratio der subkutanen Arterien [65], eine erhöhte Intima/Media-Dicke [66] und höhere Steifigkeit der Arterienwand [67]. Mehrere Untersuchungen gaben auch höhere Schlaganfallraten in der PA Gruppe verglichen mit EH Gruppe [33, 68].

#### **1.4.4. weitere Komorbiditäten**

Außerdem birgt PA weitere Komorbiditäten in sich wie Schlafapnoe und metabolisches Syndrom. Eine höhere Prävalenz von Schlafapnoe bei PA Patienten im Vergleich zu EH zeigte die Untersuchung von Prejbisz et al (59,4 v. 42,4%,  $p = 0,058$ ) [69]. Eine Assoziation zwischen Diabetes mellitus oder Glukoseintoleranz und PA wurde schon 1965 von Conn beschrieben [70]. Der Pathomechanismus des Aldosterons auf die Glukosehomöostase bleibt unklar, es werden aber signifikant höhere Prävalenzen des metabolischen Syndroms bei PA Patienten im Vergleich zu EH Patienten beobachtet [39, 71]. Die Framingham-Offspring-Studie zeigte, dass hohe Aldosteronspiegel mit der Entwicklung des metabolischen Syndroms assoziiert sind [72]. Weitere Untersuchung gibt an, dass bei EH Patienten hohe Aldosteronspiegel mit Insulinresistenz und

Hyperinsulinämie signifikant korrelieren [73]. Die höhere Prävalenz des metabolischen Syndroms wird in der Untersuchung von Matrozoza et al nicht bestätigt [74]. Auch sind die Ergebnisse bzgl. der protektiven Wirkung der MR-Antagonisten auf Insulinresistenz und Adipositas kontrovers [75-77].

#### **1.4.5. Mortalität**

Eine retrospektive Analyse von Reincke et al untersuchte zum ersten Mal die Mortalität der PA Patienten, die in das Deutsche Conn-Register aufgenommen waren [78]. Die Untersuchung zeigte keinen Unterschied in der Gesamtmortalität zwischen der PA Gruppe und der hypertensiven Kontrollgruppe über einen Zeitraum von 10 Jahren. Jedoch war die kardiovaskuläre Mortalität die Haupttodesursache in der PA-Gruppe verglichen mit der hypertensiven Kontrollgruppe (50 vs. 34%,  $p < 0,05$ ). Aufgrund des deutlich höheren Risikos für kardiovaskuläre Mortalität ist es eine vorrangige Aufgabe, die Patienten mit PA zu identifizieren und rechtzeitig zu therapieren.

### **1.5. Diagnostik**

#### **1.5.1. Screening**

Die Bestimmung des Aldosteron-Renin-Quotienten (ARQ) wird als Screening Test bei folgenden Patienten empfohlen:

- Patienten jünger als 40 Jahre mit einer Hypertonie
- bei Nichtansprechen auf Antihypertensiva (resistente Hypertonie =  $\geq 3$  Antihypertensiva und weiterhin hypertensive Werte)
- bei einer spontanen oder Diuretika-induzierten Hypokaliämie und Hypertonie
- beim Vorhandensein eines Inzidentaloms und einer Hypertonie
- bei positiver Familienanamnese bzgl. PA
- bei Hypertonie-Organschäden, die nicht der Dauer der Hypertonie entsprechen [26, 79]

Im Vorwege sind folgende Faktoren zu beachten, die von der Sektion „Nebenniere, Steroide und Hypertonie“ der Deutschen Gesellschaft für Endokrinologie (DGE) empfohlen werden:

- (1) Medikamente, die entweder ein falsch positives oder falsch negatives ARQ hervorrufen können, müssen mindestens 4 bzw. 2 Wochen vor dem Test abgesetzt werden und ARQ-neutrale Antihypertensiva angesetzt werden [5, 79]. Folgende Medikation kann zu falsch positiven Ergebnissen führen: Betablocker, Imidazolinrezeptor-Agonisten, Renin-Inhibitoren (für Plasma-Renin-Aktivitäts-Messung). Zu falsch negativen ARQ führen: MR-Antagonisten, ACE-Hemmer, AT1-Rezeptor-Antagonisten, Renin-Inhibitoren (für Plasma-Renin-Konzentration-Messung), Schleifendiuretika, Kalium-sparende Diuretika. Die MR-Antagonisten sollten für 4 Wochen, Renin-Inhibitoren für 2 Wochen, die anderen Medikamente für eine Woche pausiert werden[5]. Wenn orale östrogenhaltige Kontrazeptiva eingenommen werden, sollte für die Berechnung des ARQ die Plasmareninaktivität (PRA) präferiert werden, da bei Plasmareninkonzentration (PRK) dieser falsch positiv ausfallen könnte [80].
- (2) Eine Hypokaliämie kann falsch negative Ergebnisse mitbringen, so dass im hypokaliämischen Zustand ein normaler ARQ kein Ausschluss der Diagnose bedeutet; daher sollte eine Kaliumkorrektur vor dem Test erfolgen [80].
- (3) Bei der Interpretation der Werte sollten folgende Einflußfaktoren einbezogen werden: Alter, Position während der Blutentnahme, Tageszeit, Kalium- und Kreatininspiegel [80].
- (4) Die Cut-off Werte sind von den Einheiten der gemessenen Werte und vom verwendeten Assay abhängig. Es gibt daher innerhalb Deutschlands große Unterschiede zwischen den Laboren. Für die Assays Aldosteron (RIA; DPC, Siemens) und PRK (CLIA; Liaison, DiaSorin) gilt ein ARQ >20 (ng/l/ ng/l) als abklärungswürdig [5]. Liegt der ARQ niedriger, so ist ein PA sehr unwahrscheinlich; ist er höher, sollte ein Bestätigungstest durchgeführt werden.

### **1.5.2. Bestätigungstests**

Bei einem positiven ARQ empfiehlt die amerikanische Endocrine Society einen Bestätigungstest, um die Diagnose definitiv zu bestätigen oder auszuschließen. Die bisher durchgeführten Untersuchungen und Studien konnten keinen Bestätigungstest

als Goldstandard identifizieren [79]. Die Endocrine Society führt 4 gängigen Tests auf: oraler Kochsalzbelastungstest, Kochsalzinfusionstest (KIT), Fludrocortison-suppressionstest (FST) und Captopriltest.

Folgende Bedingungen sollten beim KIT und anderen Bestätigungstests beachtet werden: der Test sollte unter dergleichen Medikation durchgeführt werden, unter der auch der ARQ beim Screening bestimmt wurde. Das Material zur Reninbestimmung soll entweder eingefroren werden oder noch am gleichen Tag ins Labor gesendet werden. Zwei Messmethoden für Renin, die PRK mittels Radioimmunoassay und PRA mittels Enzymkinetikassay, bestimmen unterschiedliche präanalytischen Vorgehensweisen. Die Sektion „Nebenniere, Steroide und Hypertonie“ der DGE empfiehlt, die PRK aufgrund von einfacherer Handhabung der PRA vorzuziehen [5]. Der Transport zum Labor für PRA-Bestimmung soll auf Eis erfolgen. Der Enzymkinetikassay erfolgt durch Plasmakubation bei 37°C, bis genug Angiotensin I produziert ist und gemessen werden kann. Die Reninaktivität wird in ng/ml/h für Angiotensin I angegeben. Die Bestimmung der PRK bedarf keiner Kühlung, wenn die Bestimmung zeitnah erfolgt. Bei Temperaturen unter 25°C kann es zu einer Kryoaktivierung von Prorenin zu Renin kommen, was zu falsch hohen Reninwerten und somit falsch niedrigen ARQ führen kann. Das impliziert, dass wenn PRK bestimmt werden soll und die Proben eingefroren werden sollen z.B. für den Versand, dann muss das Einfrieren rasch geschehen. Denn es erfolgt keine Kryoaktivierung im gefrorenem Plasma oder beim schnellen Einfrieren und Auftauen [81].

#### **1.5.2.1 Intravenöser Kochsalzbelastungstest**

Vor Beginn des Testes werden morgens Aldosteron, PRK (oder PRA) und das Kortisol im Blut bestimmt. Danach werden 2 Liter isotonomischer Kochsalzlösung über 4 Stunden in liegender Position intravenös infundiert und nach 4 Stunden die o.g. Parameter im Blut erneut gemessen [79, 82, 83]. Kortisol dient zur Testvalidierung: erfolgt ein Kortisolabfall während des Testes, so lag kein signifikanter Stressor vor, der die Aldosteronmehrsekretion hätte stimulieren können.

Physiologische und pathophysiologische Regulation: Durch die Kochsalzinfusion und folglich durch die Volumenexpansion wird beim Gesunden das RAAS abgeschaltet und das Aldosteron fällt physiologisch ab. Bei einer autonomen Mehrsekretion kommt es

nicht zu diesem negativen Feedbackmechanismus bzw. das Aldosteron fällt nicht ausreichend ab.

Cut-off Werte: Aldosteronwerte >100 ng/l bestätigen sicher die Diagnose, Werte <50 ng/l schließen diese aus. Aldosteronwerte post-KIT zwischen 50 und 100 sind nach Meinung einiger Forschungsgruppen nicht sicher interpretierbar [82-85] oder stellen eine leichte Form des PA dar.

Kontraindikationen: der Test sollte bei Patienten mit schwerer Hypertonie, Nieren- oder Herzinsuffizienz, Arrhythmie oder schwerer Hypokaliämie nicht durchgeführt werden.

#### **1.5.2.2 Captopril-Test**

Der Test wird wie folgt durchgeführt [86, 87]: Die erste Bestimmung von Aldosteron, Kortisol und PRA erfolgt morgens nach mindestens einer Stunde in sitzender Position. Danach werden 25 [86] bzw. 50 [87] mg Captopril per os verabreicht und der Patient bleibt in sitzender Position. Die zweite Laborbestimmung erfolgt 60 min später.

Physiologische und pathophysiologische Regulation: Captopril hemmt das Angiotensin-Converting-Enzym und senkt damit bei Gesunden die durch Angiotensin-II vermittelte Aldosteronproduktion. Aldosteron wird normalerweise vom Captopril um >30 % vom Ausgangswert supprimiert. Bei PA Patienten bleibt Aldosteron jedoch hoch und PRA supprimiert.

Cut-off Werte: die Diagnose ist bestätigt, wenn der Post-Captopril-Aldosteronspiegel >8,5-15 ng/dl beträgt [88, 89].

Vor- und Nachteile: Ein Vorteil des Captopril-Testes ist der mögliche Einsatz bei Patienten mit reduzierter kardialer und renaler Funktion. Der Test ist einfach durchführbar und günstig. Es werden aber auch sowohl falsch-positive als auch falsch negative Ergebnisse berichtet [87, 88].

#### **1.5.2.3. Fludrocortison-Suppressionstest**

Der Test wird wie folgt durchgeführt [90, 91]: während eines stationären Aufenthaltes nimmt der Patient in den ersten 4 Tagen alle 6 Stunden 0,1 mg Fludrocortison, ein Mineralokortikoid, per os ein. Am 5. Tag werden die Spiegel von Aldosteron, Kortisol und PRA bestimmt.



Physiologische und pathophysiologische Regulation: Durch den exogenen Mineralkortikoid-Exzess kommt es zu Volumenexpansion und folglich zur Suppression von Renin und Angiotensin II und als Endeffekt zur Suppression von Aldosteron.

Cut-off Werte: Es sollte eine Suppression des Aldosterons unter 50 ng/l [90] bzw. unter 60 ng/l [91] erfolgen.

Vor- und Nachteile: Der Test ist wegen der Gefahr einer Hypokaliämie, der daher notwendigen Kaliumgaben und -Kontrollen und wegen der möglichen Blutdruckentgleisung schwer ambulant durchführbar, und sollte eher stationär durchgeführt werden. Auch soll eine kontrollierte Kochsalzaufnahme erfolgen (20-30 mmol 3 mal täglich) [90, 91].

#### **1.5.2.4. Oraler Kochsalzbelastungstest**

Der Test wird wie folgt durchgeführt: Der Patient nimmt ca. 6 g Natrium pro Tag über 3 Tage zusätzlich mit der Nahrung zu sich. Die ausreichende Natriumeinnahme wird durch dessen Messung im 24 h Urin kontrolliert. Am letzten Tag erfolgt eine Urinsammlung über 24 h auf Aldosteron, 18-oxo-Glucuronid. Während des Testes ist eine Kaliumchloridsubstitution durchzuführen [92].

Physiologische und pathophysiologische Regulation: auch bei oraler Kochsalzbelastung sollten beim Gesunden das RAAS abgeschaltet werden und das Aldosteron abfallen. Bei einer autonomen Mehrsekretion kommt es aber nicht zu diesem negativen Feedbackmechanismus bzw. zu einem adäquaten Aldosteronabfall.

Cut-off Werte: Ein PA wird bei Aldosteronkonzentrationen im Urin unter 27,7 nmol/d ohne Vorliegen einer renalen Erkrankung ausgeschlossen. Aldosteronwerte > 33,3 nmol/d [93] bzw. >38,8 nmol/d [94] bestätigen die Diagnose.

Kontraindikationen für den Test sind eine schwer einstellbare Hypertonie sowie Nieren- und Herzinsuffizienz [79].

Vor- und Nachteile: da das Sammeln von 24h Urin für diesen Test notwendig ist, kann die mangelnde Compliance beim Sammeln die Testgenauigkeit negativ beeinflussen. Da Aldosteron 18-oxo-Glucuronid ein renaler Metabolit ist, würden sich bei ggf.

eingeschränkter Nierenfunktion zu niedrige Konzentrationen im Urin zeigen und der Test wäre somit falsch negativ [95].

### **1.5.3. Vergleich der Bestätigungstests**

In der Vergangenheit wurden nur wenige Vergleiche zwischen den einzelnen Tests durchgeführt. Im Folgenden werden vor allem die Ergebnisse der Vergleichsuntersuchungen zwischen dem KIT und Captopril-Test bzw. FST dargestellt.

#### **1.5.3.1. Vergleich des Kochsalzinfusionstestes mit dem Captopril-Test**

Die Untersuchungen von Thibonnier [96], Giacchetti [82], Rossi [87], Mulatero [88] vergleichen die beiden Teste miteinander. Die Studien sind bzgl. der Patientenzahl, ARQ für Screening, Laborassay und Cut-off Werte unterschiedlich konzipiert und weisen teilweise differente Ergebnisse auf.

Bisher konnte in keiner Studie die Überlegenheit eines Bestätigungstests nachgewiesen werden. In allen Untersuchungen werden aber niedrigere Aldosteron-Cut-off-Werte für den KIT in Vergleich zu Captopril angegeben, d. h. die Aldosteronproduktion wird nach KIT am besten supprimiert. Die Untersuchung von Giacchetti et al hat keinen direkten Vergleich zwischen den beiden Tests gemacht, sondern die Validität des ARQ ohne Medikation und nach Captopril bzw. Losartan als Screening Test und den Aldosteron-Cut-off-Wert beim KIT sowie dessen Sensitivität und Spezifität untersucht.

In den vorliegenden Studien lagen die Cut-off Werte für den KIT zwischen 5 ng/dl und 12,96 ng/dl. Thibonnier und Rossi sprachen sich eher für den Captopril Test aus, da dieser ein schneller, gut verträglicher Test sei und dabei keine Volumenexpansion nötig wäre. Die Nachanalyse von 11 Patienten von Mulatero zeigte, dass der Captopril Test teilweise irreführende Ergebnisse zeigt und somit zur falschen Therapieentscheidung leiten könnte. Giacchetti schlussfolgert, dass der KIT ein nützlicher Bestätigungstest mit einem Cut-off von 7 ng/dl sei, bei Werten <5ng/dl sei ein PA ausgeschlossen und dass Aldosteronwerte im Bereich zwischen 5 und 10 ng/dl nicht eindeutig interpretierbar seien. Desweiteren könne der Aldosteron-Kortisol-Quotient (AKQ) >3 zur Differenzierung zwischen APA und dem idiopathischen Hyperaldosteronismus (IHA) und/oder EH eingesetzt werden.

Rossi, Mulatero und Giacchetti geben unterschiedliche Cut-off-Grenzen für Aldosteron post KIT an (5-7 ng/dl); somit ergeben sich auch unterschiedliche Sensitivität- bzw. Spezifitätswerte, von 82,6-100% bzw. 75,1-100% [82, 87, 88, 96].

### **1.5.3.2. Vergleich des Kochsalzinfusionstestes mit dem Fludrocortison-Suppressionstest**

Bisher liegen drei Vergleichsstudien vor, die einen niedrigen Cut-off-Aldosteronwert (von 31,5 bis 50 ng/l) beim KIT vorschlagen, um zum einen den IHA zu erfassen [84] und zum anderen die beste Testgenauigkeit zu erreichen. Bei der Untersuchung von Mulatero et al weist der Cut-off Wert von 5 ng/dl nach dem KIT die beste Sensitivität (90%) und Spezifität (84%) auf [97]. Willenberg et al geben beim KIT einen Cut-off Wert von 31,5 ng/l an, mit einer Sensitivität von 82,5% und Spezifität von 91,8% [98]. Holland und Mulatero berichten, dass beim APA die Suppression nach dem KIT weniger deutlich ausfällt als beim IHA. Holland et al empfehlen, bei Aldosteronwerten im Graubereich zusätzliche Tests durchzuführen. Mulatero et al empfehlen den KIT, da der FST zu teuer und zu aufwendig sei. Willenberg et al berichten von einer höheren Sensitivität des FST, von 87% (vs. Sensitivität von KIT von 82,5 %). KIT führte hier in 8,2 % der Fälle zur adäquaten Suppression des Aldosterons, obwohl ein APA vorlag.

Bei dieser Gegenüberstellung ist anzumerken, dass die Patientenkollektive sich in der Patientenzahl, dem untersuchten Subtyp, den unterschiedlichen Assays und in dem Cut-off des ARQ als Screeningtest deutlich unterscheiden.

### **1.5.3.3. Vergleich des Kochsalzinfusionstestes mit Aldosteronmetaboliten im Urin**

Die Gruppe Schirpenbach et al verglichen den KIT mit den Aldosteronmetaboliten im 24h Urin [99]. KIT sollte ihrer Meinung nach nur bei hypokaliämischen Fällen als Bestätigungstest eingesetzt werden. Denn sowohl der KIT als auch Bestimmung von Aldosteronmetaboliten im 24 h Urin zeigen bei Normokaliämie schwache Sensitivität (KIT: 57%, Tetrahydroaldosteron: 36%, Aldosteron-18-Glucuronid: 43%). Außerdem besteht bei der Bestimmung von Aldosteronmetaboliten im Urin eine starke Überschneidung beim Vergleich von PA und EH.

### **1.5.3.4. Cut-off Wert des Aldosterons für den Kochsalzinfusionstest**

2 Arbeitsgruppen haben den so genannten „grauen Bereich“ beim Aldosteronwert nach Test definiert: Aldosteronspiegel zwischen 50 und 100 ng/l [82, 84, 95]. Der „graue

Bereich" bzw. kein Konsens darüber birgt die Gefahr in sich, dass evtl. nicht adäquat diagnostiziert und therapiert wird. Wenn die Cut-off Grenze bei 100 ng/l gesetzt wird, dann „übersieht" der KIT bis zu 40 % der Patienten mit einem lateralisierten PA, welcher im Nebennierenvenenkatheter (NNVK) aber bewiesen wurde [99-101].

Giacchetti et al nennen einen Cut-off-Wert bei >7 ng/dl für die Bestätigung und einen Wert von <5ng/dl für den Ausschluss der Diagnose. Werte, die dazwischen liegen, bezeichnen sie als "nicht eindeutig interpretierbar" [82]. Holland et al vermuteten 1984, dass ein APA selten bei Werten <10ng/dl vorliegt. Um aber auch den nicht tumorösen PA zu erfassen, solle man den Cut-off bei 5ng/dl setzen. Im Falle der „Grauzone"-Werte solle man zusätzliche Tests und Aldosteronmetabolite im Urin bestimmen [84]. 2006 zeigten Schirpenbach et al, dass die Metabolite im Urin zur Diagnostik ungeeignet sind, da diese eine sehr niedrige Sensitivität haben und es eine starke Überschneidung mit EH gibt [99].

Bis heute gibt es keinen Konsens über den Cut-off für den Aldosteronwert nach KIT und keine Kenntnisse über die Prognose der grenzwertigen Aldosteronwerte nach KIT.

#### **1.5.4. Subtypisierung mittels bildgebender Verfahren und Nebennierenvenenkatheter**

Einem positiven Bestätigungstest muss sich die weitere Diagnostik zur Bestimmung des Subtyps des PA anschließen, da ein APA operativ und eine bilaterale Mehrsekretion medikamentös therapiert wird. Die Bestimmung der Subtypisierung können bildgebende Verfahren wie Magnetresonanztomographie (MRT) oder Computertomographie (CT) nicht suffizient erbringen, da sie im besten Fall nur die Morphologie, aber nicht die hormonelle Funktion zeigen können. Daher ist die selektive Nebennierenvenenkatheterisierung heute die Standarduntersuchung, um einen unilateralen von einem bilateralen PA zu unterscheiden, so die Empfehlung der Endocrine Society aus dem Jahr 2008 [79].

Laut des systematischen Reviews aus dem Jahr 2009 von Kempers et al [102] zeigten bildgebende Verfahren wie MRT und CT keinen Vorteil gegenüber NNVK im Bezug auf Subtypisierung; im Gegenteil führten diese in 38,8% zur Fehldiagnose bzgl. der Ursache des PA. Dieses Review untersuchte 38 Studien mit insgesamt 950 Patienten.

Bei der Interpretation der NNVK-Ergebnisse sah man aber auch große Unterschiede in den Lateralisierungskriterien zwischen den einzelnen Zentren. Die Autoren schlagen vor, bildgebende Verfahren erst beim nicht erfolgreichen NNVK als Alternative zur Diagnostik anzuwenden.

Jedoch gibt es auch beim NNVK Kontroversen zu diskutieren. So ist dies ein invasives Vorgehen und die anatomischen Verhältnisse der rechten Nebennierenvene stellen eine anatomische Herausforderung an den Untersucher dar [100]. Ferner gibt es bis heute keinen Konsens bzgl. der Selektivitäts- und Lateralisierungsindices [100]. Der Selektivitätsindex (SI) stellt das Konzentrationsgefälle des Kortisols zwischen der Nebennierenvene und der Vena cava inferior (bzw Peripherie) dar, und urteilt über die erfolgreiche Katheterisierung der Nebennierenvene. Der Lateralisationsindex (LI) ist der Unterschied im Aldosteron-Kortisol-Quotienten (AKQ) zwischen linker und rechter Nebennierenvene [100], und entscheidet darüber, ob eine bilaterale oder unilaterale Mehrsekretion vorliegt. Auch besteht kein Konsens darüber, ob die Untersuchung ohne oder unter Stimulation mit ACTH erfolgen sollte [100].

Vor kurzem untersuchten Rossi et al in der AVIS-Studie die NNVK-Komplikationsrate, anhand von 2604 NNVK-Untersuchungen an 20 Zentren weltweit [103]. Die Rupturrate der Nebennierenvene beträgt nach den Berechnungen der Untersucher 0,61%. Alle Komplikationsfälle wurden konservativ behandelt, und es gab keine Todesfälle. Die höhere Komplikationsrate korreliert mit einer kleineren Eingriffsanzahl pro Untersucher. Auch bei dieser Untersuchung hat man enorme Unterschiede zwischen den Zentren bei der Durchführung vom NNVK und der Interpretation der Indices festgestellt. Das Fazit dieser Studie war, dass der NNVK eine sichere Prozedur sei, wenn diese von erfahrenen Untersuchern durchgeführt werde.

## **1.6. Fragestellung**

Der Kochsalzinfusionstest hat zwar laut o.g. Studien eine suboptimale Sensitivität und Spezifität, die den anderen Bestätigungstests nicht überlegen sind, jedoch wird dieser Test wegen der Praktikabilität, der Kosten und der Compliance der Patienten oft

eingesetzt. Der KIT wird als diagnostischer Bestätigungstest an allen Zentren, die an das Deutsche Conn-Register angeschlossen sind, verwendet.

In den o.g. Untersuchungen [82, 84, 87, 88, 96-98] variiert der Cut-off Wert für Aldosteron im KIT sehr. In einigen Studien wurde der Bereich des Aldosteronspiegels 50-100ng/l post-KIT als „Graubereich“ bezeichnet. Im Verbund des Deutschen Conn-Registers gilt ein Aldosteronwert von unter 50 ng/l beweisend für den Ausschluss eines PA. Bei einem Aldosteron >50ng/l nach 4h Natriumchlorid-Infusion ist ein PA bewiesen [82]. Aus der bisherigen Praxis ergeben sich aber mehrere Fragen, die im Rahmen dieser Arbeit mit Hilfe der Daten des Deutschen Conn-Registers bearbeitet werden sollen.

**Frage 1:** Wie unterscheidet sich die Gruppe der Patienten mit niedrigeren Aldosteronwerten (50-100ng/l) gegenüber der Gruppe der Patienten mit Werten post-KIT >100ng/l bzgl.

- klinischer Parameter,
- Subtypisierung,
- Schwere der Erkrankung
- und bzgl. des Outcomes (Blutdrucknormalisierung, Korrektur der Hypokaliämie, Anzahl der Antihypertensiva) nach 1 Jahr der Therapie?

**Frage 2:** Kann die Stärke/Höhe folgender Parameter während des KIT

- Aldosteronabfall
- Aldosteron-Renin-Quotient
- Aldosteron-Kortisol-Quotient

eine Aussage machen über die Subtyp-Differenzierung und/oder über den Therapieerfolg nach 1 Jahr der Therapie?

## **II. Methodik**

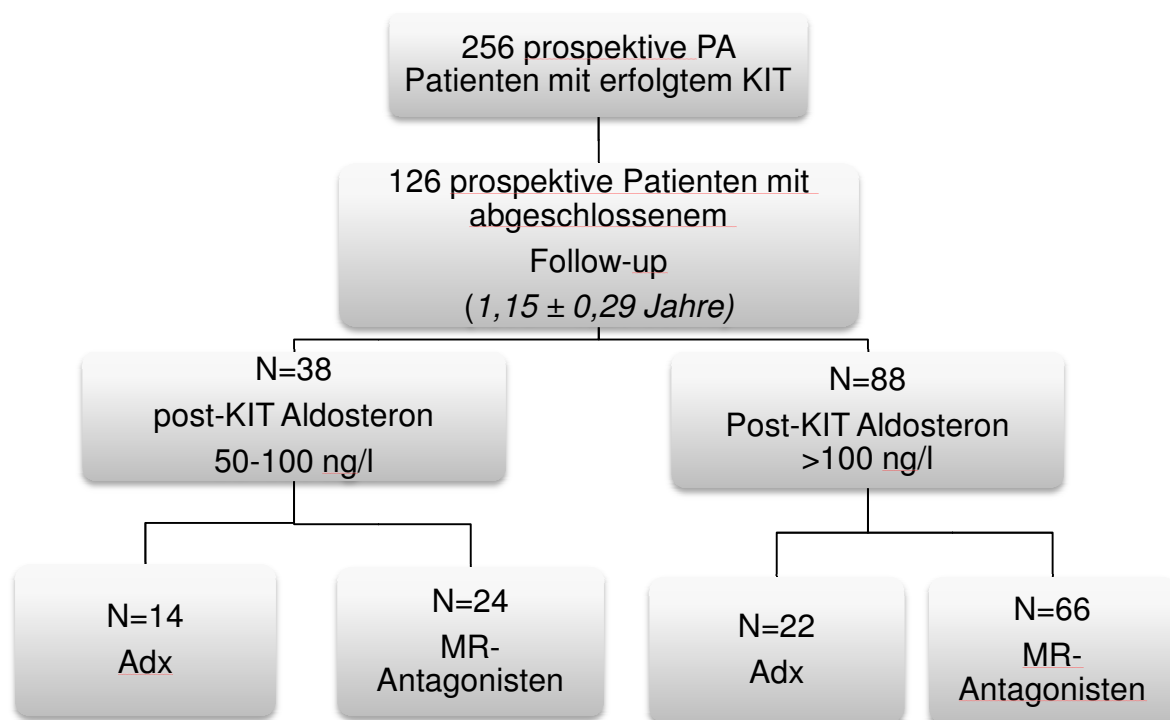
### **2.1. Studiendesign**

Die Patientendaten für die vorliegende Untersuchung des KIT wurden aus dem Deutschen Conn-Register extrahiert und analysiert. Das Deutsche Conn-Register ([www.conn-register.de](http://www.conn-register.de)) wurde 2006 von der Sektion für Nebenniere, Hypertonie und Steroide der DGE gegründet, um das Krankheitsbild PA bzgl. der Diagnostik, Subdifferenzierung, Therapie, Outcome und Genetik zu untersuchen [38, 60, 78, 104, 105]. An das Register sind 8 deutsche Zentren angeschlossen. Die Patientendaten wurden nach erfolgter Patientenaufklärung und deren Einverständniserklärung sowie nach Anonymisierung über eine Identifikationsnummer in eine elektronische Datenbank eingegeben. Positive Voten der Ethikkommissionen der jeweiligen Zentren liegen vor. Die Diagnostikkriterien für PA in dieser Studie wurden nach den empfohlenen Kriterien der Endocrine Society [79] eingehalten. Alle eingeschlossenen Patienten hatten einen pathologischen KIT. Die Anpassung der Antihypertensiva vor dem KIT erfolgte wie empfohlen: Pausieren von Beta-Blockern, Alpha2-Agonisten, ACE-Hemmern und Angiotensin II-Blockern und Diuretika eine Woche vor KIT.

Bis 2007 erfolgte die Datenerfassung im Deutschen Conn-Register retrospektiv. 2008 wurde die prospektive Datenerfassung eingeleitet. Im Rahmen der MEPHISTO-Studie (Multicenter evaluation of primary hyperaldosteronism, diagnostic testing, subdifferentiation, therapy, outcome and genetics), die im Jahr 2008 startete, wurden neu diagnostizierte Patienten prospektiv in die Studie aufgenommen und nach erfolgter Diagnostik therapiert. Die Patienten erschienen alle 6 und 12 Monate zur ambulanten Vorstellung. Dabei wurde die Anamnese erhoben, körperliche Untersuchung durchgeführt, aktuelle Medikation dokumentiert, Gewicht, Größe, Hüft- und Taillenumfang erhoben. Weiterhin wurde der Blutdruck beidseits (mit Abständen zwischen den Messungen von ca. 5 Minuten) dreimal gemessen. Danach erfolgte eine Blutentnahme auf allgemeine und endokrinologische Parameter und die Patienten gaben Urinproben ab, sowohl Spontanurin als auch 24 h Urin. Bei Patienten mit negativer Diabetesanamnese erfolgte zudem der orale Glukosetoleranztest. Das Studienprotokoll beinhaltete als kardiovaskuläre Diagnostik ein 12-Kanal-EKG, 24h EKG, 24 h Blutdruckmessung, Echokardiographie und Karotis-Dopplersonographie.

## 2.2. Gesamtstudienpopulation und Subgruppenaufteilung

Bis Mai 2013 wurden Daten von 256 prospektiven Patienten mit einem erfolgten KIT als Bestätigungstest für PA in das Deutsche Conn-Register aufgenommen. Die Parameter des KIT und die Charakteristika zum Zeitpunkt der Diagnosestellung wurden analysiert. 130 Patienten wurden aufgrund einer nicht abgeschlossenen Follow-up-Untersuchung von der weiteren Analyse ausgeschlossen. Die Daten von 126 (München: n=77, Düsseldorf: n=28; Berlin: n=16; Würzburg: n=5) prospektiven Patienten wurden zum Zeitpunkt der Diagnosestellung und zum Zeitpunkt des Follow-up ( $1,15 \pm 0,19$  Jahre nach Diagnosestellung) analysiert. Davor erfolgte eine Aufteilung der Patienten in 2 Subgruppen: Subgruppe 1 mit post-KIT Aldosteronwerten zwischen 50 und 100 ng/l und Subgruppe 2 mit post-KIT Aldosteronwerten über 100 ng/l. Bei der Follow-up-Analyse wurden die jeweiligen Therapiearten miteinander verglichen (Abbildung 1).



**Abbildung 1:** Studiendesign und Subgruppenbildung.

PA=primärer Hyperaldosteronismus, KIT= Kochsalzinfusionstest, Adx=Adrenalektomie, MR=Mineralkortikoid-Rezeptor



### **2.3. Definitionen der einzelnen Outcome-Stufen**

Bei der Outcome-Analyse wurden folgende Definitionen festgelegt: Normotonie bei systolischen Werten  $<140$  mmHg und bei diastolischen Werten  $<90$  mmHg sowie Normokaliämie beim Kaliumserumspiegel  $>3,4$  mmol/l.

Die Definition „geheilt“ schloss folgende Kriterien ein: Normotonie, Normokaliämie und Fehlen von antihypertensiver Therapie nach erfolgter Adrenalektomie (Adx).

Die Patienten unter medikamentöser Therapie mit MR-Antagonisten wurden als „kontrolliert“ definiert, wenn Normotonie, Normokaliämie und keine weitere antihypertensive Therapie vorlagen.

Der Status „signifikant verbessert“ wurde durch folgende Veränderungen definiert: Abfall der systolischen Blutdruckwerte um  $\geq 10$  mmHg UND Reduktion der Antihypertensiva um  $\geq 1$ .

Der Status „leicht verbessert“ wurde durch folgende Veränderungen definiert: Abfall der systolischen Blutdruckwerte um  $\geq 10$  mmHg ODER Reduktion der Antihypertensiva um  $\geq 1$ .

Der Status „keine Besserung“ wird durch folgende Merkmale definiert: persistierende Hypokaliämie oder keine Besserung der Blutdruckwerte.

80 Patienten der Gesamtgruppe wurden adrenaletomiert. 46 Tumorproben aus 2 Zentren (Berlin und München) wurden isoliert und sequenziert. Tumor-DNS wurde im Rahmen der kürzlich publizierten Studien von Beuschlein et al [19] und von Fenrandes-Rosa et al [25] extrahiert und analysiert. Der aldosteronoma resolution score (ARS) nach Zarnegar et al [106] wurde bei 66 adrenaletomierten Patienten erhoben; bei den restlichen 14 Patienten waren die Score-Parameter nicht komplett vorhanden.

### **2.4. Analyse des Kortisols während des Kochsalzinfusionstestes**

Die Kortisolspiegel während des KITs wurden bis Ende 2013 nicht in der zentralen Datenbank dokumentiert. Daher erstellten wir eine gesonderte Gruppe von Patienten, die bereits im Conn-Register registriert waren, eine bestätigte Diagnose PA mittels KIT erhielten und demnach auch eine Messung der Kortisolspiegel während des KIT

aufwiesen. Die Kortisol- und andere KIT-Parameter wurden aus den Akten extrahiert. Wir analysierten die Kortisolspiegel, die AKQ und deren Veränderung während des KIT sowie eine mögliche Beziehung zwischen diesen Parametern und der Subtypdifferenzierung und dem Outcome.

Die Gesamtgruppe enthielt 27 Patienten aus Berlin und 26 Patienten aus München. Die Kortisolspiegel zum Zeitpunkt prä-KIT lagen bei 53 Patienten vor und 49 erhielten auch eine Kortisolmessung zum Zeitpunkt post-KIT. Bei 51 Patienten waren die Angaben bzgl. Kaliumspiegels im Serum und endgültiger Diagnose vorhanden. Der Outcome-Status war bei 36 Patienten verfügbar.

## **2.5. Recherche der aktuellen Datenlage zum Thema Vergleich der Bestätigungstests bei PA**

Über die Suchmaschine Pubmed wurde die Datenbank MEDLINE nach folgenden Suchbegriffen für den Zeitraum von 1950 bis 2012 durchgesucht:

- saline infusion test OR salt loading test OR saline infusion AND captopril AND primary aldosteronism. Diese Suche ergab 16 Ergebnisse, aus denen 3 Studien ausgesucht wurden, die sich direkt mit dem Vergleich der beiden Bestätigungstests auseinandersetzten.
- saline infusion AND primary aldosteronism AND captopril. Die Suche ergab 14 Treffer. Keine Studie wurde ausgesucht.
- saline infusion test OR salt loading test AND primary aldosteronism AND fludrocortisone. Die Suche ergab 16 Treffer, von denen 2 Studien eine direkte Gegenüberstellung der Tests darstellten.
- saline infusion AND primary aldosteronism AND fludrocortisone. Die Suche ergab 17 Treffer. Daraus wurde 1 Studie von 1984 zusätzlich in die Recherche aufgenommen.

Bei der Recherche wurden noch eine Nachanalyse von Mulatero mit in den Vergleich von KIT und Captopril und eine Analyse mit dem Vergleich von KIT mit Aldosteronmetaboliten im 24 h Urin von Schirpenbach in die Beurteilung aufgenommen.

## **2.6. statistische Methoden**

Vor der statistischen Analyse wurde die Verteilung der Daten mittels graphischer Methoden und der Bestimmung der Schiefe geprüft. Die Charakteristika der normal verteilten Daten wurden als  $MW \pm SD$  und die der nicht normal verteilten Daten als Median angegeben. Die Charakteristika der beiden Subgruppen wurden je nach Verteilung mit dem ungepaarten t-Test bzw. Mann-Whitney-U-Test verglichen. Chi<sup>2</sup>Test bzw. exakter Fisher Test wurden für den Vergleich der kategorialen Variablen benutzt. Für den Vergleich Baseline vs. Follow-up wurden der gepaarte t-Test bzw. Wilcoxon-Test und für die kategorialen Variablen der McNemar-Test benutzt.

Für den Vergleich der KIT-Parameter in den einzelnen Outcomegruppen wurde die Testung mit ANOVA für normal verteilte Daten und der Kruskal-Wallis-Test für nicht normal verteilte Daten benutzt. Der p-Wert von  $<0,05$  wurde als Signifikanzgrenze festgelegt.

Der Einfluss von Alter, Hypertoniedauer, Proteinausscheidung im 24 h Urin, Kalium im Serum sowie systolische und diastolische Blutdruckwerte in der 24 h Messung auf den Aldosteronwert post-KIT wurde mit multivariater Regression analysiert. Bei Bedarf wurde eine logarithmische Transformation für die nicht normal verteilten Variablen durchgeführt. Die Analyse wurde mit dem Programmpaket IBM SPSS Statistics 20 durchgeführt.

### **III. Ergebnisse**

#### **3.1. Baseline Charakteristika aller Patienten**

##### **3.1.1. Charakteristika der 256 Patienten**

Von den 256 prospektiven Patienten, die den KIT als Bestätigungstest erhielten, waren 158 (61,7%) Männer und 98 (38,3%) Frauen. Die Subtypisierung erfolgte bei 228 Patienten (88%) mittels NNVK. Bei 71 (27,7%) Patienten wurde eine bilaterale Mehrsekretion und bei 154 (60,2%) Patienten eine unilaterale Mehrsekretion festgestellt. Bei 31 Patienten blieb die Klassifikation unbekannt. 199 (77,7%) Patienten wurden als hypokaliäm und 50 (19,5%) als normokaliäm eingestuft, bei 7 Patienten fehlte diese Angabe. 111 (43,4%) Patienten wurden adrenaletomiert, 99 (38,7%) Patienten erhielten keine Operation und bei 46 (18%) Patienten gab es keine Angabe zum Operationsstatus.

Das mittlere Alter betrug  $51,6 \pm 12,1$  Jahre, die mittlere Dauer der Hypertonie  $11,5 \pm 14,5$  Jahre, der mittlere systolische Blutdruck  $146,4 \pm 16,6$  mmHg und der diastolische mittlere Wert  $92,3 \pm 12,1$  mmHg in der 24 h Messung. Die mittlere GFR lag bei  $88,9 \pm 22,6$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, der mittlere Kreatininspiegel im Serum lag bei  $1,03 \pm 0,17$  mg/dl, der mittlere Kaliumspiegel im Serum bei  $3,44 \pm 0,53$  mmol/l, die mittlere Proteinausscheidung im 24 h Urin bei  $21,5 \pm 60,8$  mg/dl. Die mittlere Anzahl der Antihypertensiva lag bei  $2,26 \pm 1,31$ .

##### **3.1.2. Charakteristika der 126 Patienten**

Von den 126 Patienten, die den KIT erhielten und den Follow-up abschlossen, waren 79 (62,7%) Männer und 47 (37,3%) Frauen. Die Subtypisierung erfolgte bei 119 (94,4%) Patienten mittels NNVK. Hier wurde bei 41 (32,5%) Patienten eine bilaterale Mehrsekretion und bei 85 (67,5%) Patienten eine unilaterale Mehrsekretion diagnostiziert. 106 (84,1%) Patienten waren hypokaliäm und 20 (15,9%) Patienten waren normokaläm. 80 (63,5%) Patienten wurden adrenaletomiert, 46 (36,5%) Patienten erhielten eine medikamentöse Therapie. Das mittlere Alter betrug  $51,5 \pm 12,2$  Jahre, die mittlere Dauer der Hypertonie  $12,8 \pm 11,9$  Jahre, der mittlere systolische Blutdruck  $148,3 \pm 16,7$  mmHg und der diastolische mittlere Wert  $92,8 \pm 12,7$  mmHg in der 24 h Messung. Die mittlere GFR lag bei  $88,3 \pm 23,5$  ml/min/1,73m<sup>2</sup>, der mittlere

Kreatininspiegel im Serum bei  $0,91 \pm 0,30$  mg/dl, der mittlere Kaliumspiegel im Serum bei  $3,36 \pm 0,53$  mmol/l, die mittlere Proteinausscheidung im 24 h Urin bei  $31,8 \pm 83,1$  mg/dl. Die mittlere Anzahl der Antihypertensiva lag bei  $1,89 \pm 1,10$ .

### 3.2. Charakteristika der beiden Subgruppen

#### 3.2.1. Diagnoseparameter

Die Subgruppe 1 enthielt 38 Patienten und die Subgruppe 2 88 Patienten. Die beiden Subgruppen unterschieden sich signifikant in der Geschlechterverteilung, in den NNVK-Ergebnissen, welche in unilaterale und bilaterale Mehrsekretion eingeteilt werden, in der finalen Subtypisierung in unilaterale oder bilaterale Erkrankung und in der Adrenalektomierate (Tabelle 1). Die Subgruppe 2 hatte einen signifikant höheren Frauenanteil, beinhaltete mehr unilateralen und hypokaliämischen PA und wies dementsprechend auch eine höhere Adrenalektomierate auf. Die NNVK-Untersuchung wurde bei 37 bzw. 81 Patienten durchgeführt und deren Erfolgsrate lag bei 92,1% bzw. 86,4% (Gruppe 1 bzw. Gruppe 2).

Baseline Merkmale	Subgruppe 1	Subgruppe 2	p-Wert*
	(post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l)	(post-KIT Aldosteron >100 ng/l)	
Patientenanzahl	38	88	
Männlich/weiblich	29/9 (76,3/23,7%)	50/38 (56,8/43,2%)	<b>0,038</b>
NNVK	n/38 (% innerhalb der Subgruppe)	n/88 (% innerhalb der Subgruppe)	
Bilateraler Exzess	19 (50%)	18 (20,5%)	<b>0,001</b>
Unilateraler Exzess	16 (42,1%)	58 (65,9%)	
Nicht erfolgreich	2 (5,3%)	5 (5,7%)	
unbekannt	1 (2,6%)	7 (8,0%)	
<b>Finale Klassifikation</b>			
bilateral	22 (52,6%)	19 (18,2%)	<b>&lt;0,005</b>
unilateral	16 (42,1%)	69 (77,3%)	
hypokaläm	28 (73,7%)	78 (88,6%)	<b>0,035</b>
normokaläm	10 (26,3%)	10 (11,4%)	
Adrenalektomie	14 (36,8%)	66 (75%)	<b>&lt;0,005</b>
Medikamentöse Behandlung	24 (63,2%)	22 (25%)	

**Tabelle 1:** Baseline Merkmale der 126 prospektiven PA Patienten abhängig von Aldosteronspiegeln nach KIT. NNVK=Nebennierenvenenkatheter, KIT=Kochsalzinfusionstest.

\*Chi<sup>2</sup>Test.

### 3.2.2. klinische und biochemische Parameter

Auch in Bezug auf klinische und biochemische Parameter zeigen sich bei den beiden Subgruppen signifikante Unterschiede (Tabelle 2). In der Subgruppe 2 ist die durchschnittliche Hypertoniedauer kürzer, der mittlere systolische Blutdruckwert in der 24 h Messung höher, das Serumkalium niedriger und die Proteinausscheidung im 24 h Urin höher als in der Subgruppe 1. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Gruppen in Alter, diastolischem Blutdruck in 24 h Messung, in GFR, in Serum-Kreatinin, in der Anzahl der Antihypertensiva und in BMI.

Klinische und biochemische Parameter	Subgruppe 1	Subgruppe 2	p-Wert*
	(post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)	(post KIT Aldosteron >100 ng/l)	
Hypertoniedauer (Jahre)	16,4 ± 12,5 (11,7)	11,3 ± 11,4 (7,54)	<b>0,014**</b>
Alter bei der Diagnose (Jahre)	53,9 ± 11,3	50,4 ± 12,4	0,142
24 h Blutdruck (mmHg)			
systolisch	143,4 ± 16,8	151,0 ± 16,1	<b>0,036/</b> 0,345
diastolisch	91,0 ± 11,1	93,7 ± 13,5	
GFR (MDRD) (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	91,5 ± 24,4	87,0 ± 23,2	0,335
Serum-Kreatinin (mg/dl)	0,91 ± 0,27 (0,90)	0,91 ± 0,31 (0,80)	0,587**
Serum-Kalium (mmol/l)	3,53 ± 0,39	3,28 ± 0,56	<b>0,006</b>
Protein in 24h Sammelurin (mg/dl)	18,7 ± 63,1 (5,40)	38,0 ± 90,9 (7,40)	<b>0,012**</b>
Anzahl der Antihypertensiva	1,73 ± 1,22	1,96 ± 1,05	0,299
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	29,0 ± 5,01	28,5 ± 5,16	0,648

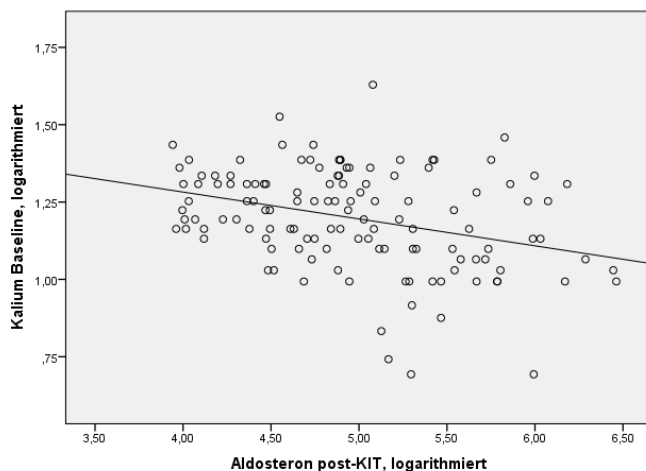
**Tabelle 2:** klinische und biochemische Parameter der 126 prospektiven PA Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

BMI =body mass index, GFR (MDRD)= glomeruläre Filtrationsrate (Modification of Diet in Renal Disease), KIT=Kochsalzinfusionstest. Werte angegeben in Mittelwerten ± Standardabweichung (Median). \*Student's Test. \*\*Mann-Whitney-Test.

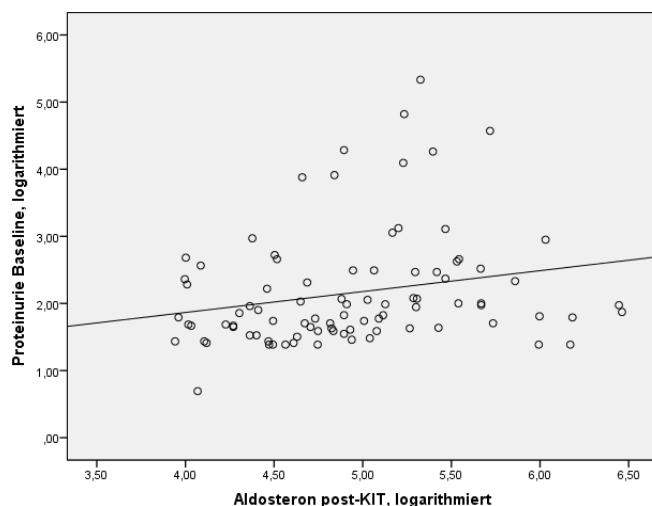
### 3.2.3. lineare Regression

Es wurde eine schrittweise lineare Regressionsanalyse durchgeführt, um den Einfluss von Alter, systolischen und diastolischen 24 h Blutdruckwerten, Kaliumspiegel,

Proteinausscheidung im 24 h Urin und Hypertoniedauer auf den Aldosteronspiegel post-KIT zu untersuchen. Vorher erfolgte eine Logarithmierung der nicht normal verteilten Daten. Parameter wie Kaliumspiegel im Serum ( $R=-0,357$   $p<0,001$ ) und Proteinausscheidung im 24 h Urin ( $R=0,308$   $p<0,004$ ) konnten als Vorhersagegrößen identifiziert werden. Der Zusammenhang zwischen Aldosteron post-KIT und Proteinurie ist nicht reziprok, der zwischen Aldosteron post-KIT und Kalium reziprok.



**Abbildung 2 A:** Zusammenhang zwischen Aldosteron post-KIT und Kalium zum Zeitpunkt Baseline.



**B:** Zusammenhang zwischen Aldosteron post-KIT und Proteinurie zum Zeitpunkt Baseline. KIT=Kochsalzinfusionstest.

### 3.2.4. Komorbiditäten

Es wurde die Anzahl von Ereignissen von Vorhofflimmern, koronarer Herzerkrankung, Herzinfarkt, Herzinsuffizienz, linksventrikuläre Hypertrophie, pAVK, tiefer Venenthrombose, zerebrovaskulärer Stenose, Schlaganfall, chronischer

Niereninsuffizienz, Hyperparathyroidismus, Vitamin D Mangel, Hyperlipidämie und Schlafapnoe analysiert und ein Subgruppenvergleich durchgeführt. Es zeigte sich kein signifikanter Unterschied zwischen den beiden Subgruppen zum Zeitpunkt Baseline (Tabelle 3).

Komorbidität zum Zeitpunkt Baseline	Subgruppe 1	Subgruppe 2	p-Wert**
	n/38 (%)	n/88 (%)	
Schlafapnoe	5 (13,2)	9 (10,2)	0,631*
Vitamin D-Mangel	3 (7,9)	9 (10,2)	1,000
Hyperlipidämie	10 (26,3)	25 (28,4)	0,810*
Hyperparathyroidismus	2 (5,3)	4 (4,5)	1,000
Depression	4 (10,5)	12 (13,6)	0,775
Vorhofflimmern	2 (5,3)	3 (3,4)	0,637
Koronare Herzkrankheit	5 (13,2)	13 (14,8)	0,812*
Myokardinfarkt	0	1 (1,1)	1,000
Herzinsuffizienz	2 (5,3)	6 (6,8)	1,000
Linksventrikuläre Hypertrophie	12 (31,6)	30 (34,1)	0,784*
pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit)	0	1 (1,1)	1,000
TVT(tiefe Venenthrombose)	1 (2,6)	1 (1,1)	0,514
Zerebrovaskuläre Stenose	1 (2,6)	3 (3,4)	1,000
Schlaganfall	1 (2,6)	0	0,302
Chronische Nierenerkrankung	7 (18,4)	13 (14,8)	0,607*

**Tabelle 3:** Komorbiditäten der 126 prospektiven PA Patienten zum Zeitpunkt der Diagnosestellung, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

\*\*Fisher's exact Test; \*=Chi<sup>2</sup>-Test

### 3.3. Follow-up Charakteristika der beiden Subgruppen

Da die Intervention bei beiden Subtypen sich unterscheidet, wurde die Analyse der Follow-up Daten der beiden Gruppen getrennt nach Therapieart durchgeführt.

#### 3.3.1. adrenaletomierte Patienten

Die Patienten in der Subgruppe 2 hatten  $1,15 \pm 0,29$  Jahre nach der Adrenaletomie signifikant höhere Kaliumspiegel ( $p=0,027$ ), wobei beide Subgruppen im Durchschnitt eine Normokaliämie erreichten. Auch nahm diese Patientengruppe weniger Antihypertensiva ein ( $2,5 \pm 1,4$  vs.  $1,21 \pm 1,23$ ,  $p=0,001$ ) und war signifikant jünger



(p=0,032). In der bildgebenden Untersuchung waren die Tumore signifikant größer in der Subgruppe 2 mit einem mittleren Wert von  $14,0 \pm 9,97$  mm (p=0,021). Es gab keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen in Bezug auf Geschlechterverteilung, Aldosteron- und Reninspiegel, systolische und diastolische Blutdruckwerte, GFR, Kreatinin im Serum, Proteinurie, BMI und Tumorgöße in der histopathologischen Beurteilung (Tabelle 4). Es konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen in den Prävalenzen von Komorbiditäten festgestellt werden (Tabelle 5).

Nach Adx	Subgruppe 1	Subgruppe 2	p-Wert**
<b>Klinische und biochemische Parameter</b>	<b>(post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)</b>	<b>(post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l)</b>	
N (männlich/weiblich)	14 (10/4)	66 (37/29)	0,289*
Alter beim Follow-up Besuch	$58,0 \pm 11,6$	$50,2 \pm 12,2$	<b>0,032</b>
Aldosteron (ng/l)	$90,2 \pm 73,0$ (68)	$71,4 \pm 46,3$ (54,5)	0,536***
Renin (ng/l)	$39,0 \pm 77,4$ (10,0)	$19,5 \pm 23,8$ (9,93)	0,438***
ARQ	$35,4 \pm 74,9$ (12,2)	$9,92 \pm 14,8$ (5,48)	0,244***
24h Blutdruck (mmHg) systolisch/diastolisch	$133/84 \pm 17/10$	$134/83 \pm 12/9$	0,873/ 0,763
Einzelmessung vom Blutdruck (mmHg)systolisch/ diastolisch	$132/84 \pm 17/9$	$132/83 \pm 12/9$	1,000/0,667
GFR (MDRD) (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	$77,2 \pm 24,3$	$75,4 \pm 23,0$	0,800
Serum-Kreatinin (mg/dl)	$1,08 \pm 0,37$	$1,05 \pm 0,32$	0,720
Serum-Kalium (mmol/l)	$4,0 \pm 0,43$	$4,32 \pm 0,50$	<b>0,027</b>
Protein in 24h Sammelurin (mg/dl)	$4,97 \pm 2,14$ (4,95)	$5,62 \pm 3,23$ (5,0)	0,788
Anzahl der Antihypertensiva	$2,50 \pm 1,40$	$1,21 \pm 1,23$	<b>0,001</b>
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	$27,9 \pm 5,23$	$27,9 \pm 6,17$	0,971
Tumorgöße (Histopathologie (mm))	n=10 $15,7 \pm 10,5$	n=49 $24,7 \pm 18,1$	0,135
	n=1 noduläre Hyperplasie	n=1 noduläre Hyperplasie	
	n= 3 Daten nicht verfügbar	n= 16 Daten nicht verfügbar	
Tumorgöße (bildgebende Verfahren (mm))	n=12 $6,58 \pm 9,85$	n=64 $14,0 \pm 9,97$	<b>0,021</b>
	n=2 Daten nicht verfügbar	n=2 Daten nicht verfügbar	

**Tabelle 4:** klinische und biochemische Parameter von 80 prospektiven PA Patienten  $1,15 \pm 0,29$  Jahre (Follow-up) nach Adrenalektomie, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. Werte angegeben in Mittelwerten  $\pm$  Standardabweichung (Median).

BMI=body mass index, GFR (MDRD)= glomeruläre Filtrationsrate (Modification of Diet in Renal Disease). \*Chi<sup>2</sup>Test. \*\*Student's Test. \*\*\*Mann-Whitney-Test

<b>Komorbidität (nach Adrenalectomie)</b>	<b>Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50- 100 ng/l) n=14 n(%innerhalb der Subgruppe)</b>	<b>Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l) n=66 n(%innerhalb der Subgruppe)</b>	<b>p-Wert Fisher's exact Test</b>
Schlafapnoe	2(14,3)	7(10,6)	0,653
Vitamin D-Mangel	3(21,4)	19(28,8)	0,747
Lipidämie	5(35,7)	20(30,3)	0,755
Hyperparathyroidismus	1(7,1)	8(12,1)	1,000
Depression	1(7,1)	8(12,1)	1,000
Vorhofflimmern	2(14,3)	2(3)	0,139
Koronare Herzkrankheit	1(7,1)	10(15,2)	0,790
Myokardinfarkt	1(7,1)	1(1,5)	0,321
Herzinsuffizienz	0	4(6,1)	1,000
Linksventrikuläre Hypertrophie	7(50)	23(34,8)	0,287*
pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit)	0	2(3)	1,000
TVT(tiefe Venenthrombose)	1(1,7)	2(3)	0,443
Zerebrovaskuläre Stenose	0	2(3)	1,000
Schlaganfall	0	0	-
Chronische Nierenerkrankung	4(28,6)	18(27,3)	1,000

**Tabelle 5:** Komorbiditäten der 80 adrenalectomierten Patienten zum Zeitpunkt Follow-up; aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

KIT=Kochsalzinfusionstest; \*Chi<sup>2</sup>Test

### 3.3.2. medikamentös behandelte Patienten

Bei den medikamentös behandelten Patienten gab es signifikante Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen im Aldosteronspiegel ( $p=0,003$ ) und bei der Proteinasscheidung im 24 h Urin ( $p=0,032$ ) nach  $1,15 \pm 0,29$  Jahren nach Therapiebeginn. Beide Parameter waren signifikant höher in der Subgruppe 2. Keine signifikanten Unterschiede gab es im Hinblick auf Geschlechterverteilung, Alter beim Follow-up, Reninspiegel, GFR, Kreatininspiegel im Serum, Anzahl der Antihypertensiva, Dosierung der MR-Antagonisten und BMI. Systolische und diastolische Blutdruckwerte

waren in beiden Subgruppen vergleichbar. Der ARQ war in der Subgruppe 2 höher, allerdings nicht signifikant. Die Durchschnittswerte der Kaliumspiegel im Serum waren auch vergleichbar und lagen in beiden Subgruppen im Referenzbereich (Tabelle 6). Es konnten keine Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen in den Prävalenzen von Komorbiditäten festgestellt werden (Tabelle 7).

MR-Antagonisten Therapie	Subgruppe 1	Subgruppe 2	p-Wert**
<b>Klinische und biochemische Parameter</b>	<b>(post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)</b>	<b>(post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l)</b>	
N (männlich/weiblich)	24(19/5)	22 (13/9)	0,139*
Alter beim Follow-up Besuch	53,4 ± 11,2	55,8 ± 12,5	0,490
Aldosteron (ng/l)	194,4 ± 119,1 (151)	434,3 ± 348,4 (354)	<b>0,003***</b>
Renin (ng/l)	21,2 ± 26,8 (10,4)	40,6 ± 70,7 (13,4)	0,425***
ARQ	33,9 ± 42,6 (13,0)	34,9 ± 36,1 (25,4)	0,620***
24h Blutdruck (mmHg) systolisch/diastolisch	138/84 ± 15/6 (136/83)	138/86 ± 26/16 (134/83)	0,562/ 0,615***
Einzelmessung vom Blutdruck (mmHg)systolisch/ diastolisch	136/83 ± 13/5	137/86 ± 25/15	0,829/ 0,385
GFR (MDRD) (ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	80,4 ± 21,7	72,6 ± 26,6	0,277
Serum-Kreatinin (mg/dl)	1,05 ± 0,42 (1,0)	1,14 ± 0,53 (0,9)	0,938***
Serum-Kalium (mmol/l)	4,08 ± 0,48	4,10 ± 0,53	0,867
Protein in 24h Sammelurin (mg/dl)	5,64 ± 2,69 (5,10)	11,7 ± 12,9 (6,95)	<b>0,032***</b>
Anzahl der Antihypertensiva	1,71 ± 0,96	1,86 ± 1,36	0,653
BMI (kg/m <sup>2</sup> )	27,5 ± 7,31 (28)	27,1 ± 7,59 (28)	0,816***
MR-Antagonisten (tägliche Dosis in mg)			
Spironolacton	43,1 ± 18,8 (n=18)	49,4 ± 22,4 (n=20)	0,355
Eplerenon	80,0 ± 44,7 (n=5)	(n=0)	-
Dosis unbekannt	n=1	n=2	

**Tabelle 6:** klinische und biochemische Parameter von 46 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre (Follow-up) nach Therapiebeginn mit MR-Antagonisten, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

MR=Mineralkortikoid-Rezeptor; BMI =body mass index; GFR (MDRD)= glomeruläre Filtrationsrate (Modification of Diet in Renal Disease ); ARQ= Aldosteron/Renin-Quotient. Werte angegeben in Mittelwerten ± Standardabweichung (Median). \*Chi<sup>2</sup>Test. \*\*Student's Test. \*\*\*Mann-Whitney-Test

<b>Komorbidität nach Therapie mit MR- Antagonisten)</b>	<b>Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50- 100 ng/l) n=24 n(%innerhalb der Subgruppe)</b>	<b>Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l) n=22 n(%innerhalb der Subgruppe)</b>	<b>p-Wert Fisher's exact Test</b>
Schlafapnoe	4(16,7)	4(18,2)	1,000
Vitamin D-Mangel	6(25)	6(27,3)	0,861*
Lipidämie	11(45,8)	6(27,3)	0,193*
Hyperparathyroidismus	2(8,3)	3(13,6)	0,659
Depression	4(16,7)	2(9,1)	0,667
Vorhofflimmern	1(4,2)	1(4,5)	1,000
Koronare Herzkrankheit	4(16,7)	3(13,6)	1,000
Myokardinfarkt	1(4,2)	0	1,000
Herzinsuffizienz	3(12,5)	3(13,6)	1,000
Linksventrikuläre Hypertrophie	11(45,8)	7(31,8)	0,331*
pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit)	1(4,2)	0	1,000
TVT(tiefe Venenthrombose)	1(4,2)	1(4,5)	1,000
Zerebrovaskuläre Stenose	2(8,3)	0	0,490
Schlaganfall	1(4,2)	0	1,000
Chronische Nierenerkrankung	6(25)	7(31,8)	0,608*

**Tabelle 7:** Komorbiditäten der 46 mit MR-Antagonisten behandelten Patienten zum Zeitpunkt Follow-up; aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

MR=Mineralkortikoid-Rezeptor, KIT=Kochsalzinfusionstest. \*Chi<sup>2</sup>Test

### **3.4. Vergleich Baseline vs. Follow-up beider Subgruppen je nach Therapieart**

#### **3.4.1. Vergleich zwischen Baseline und Follow-up bei adrenaletomierten Patienten**

Adrenaletomierte Patienten erfuhren in beiden Subgruppen,  $1,15 \pm 0,29$  Jahre nach Therapiebeginn, eine Erhöhung der Kaliumspiegel im Serum und dadurch im Durchschnitt eine Normokaliämie, einen Abfall der systolischen und diastolischen Blutdrücke bis zu mittleren normotonen Werten, eine Abnahme der GFR sowie der Proteinurie, einen Anstieg des Kreatinins im Serum und einen Aldosteron- und ARQ-Abfall. Für alle genannten Parameter lag der p-Wert  $<0,05$ . Der BMI blieb bei beiden Subgruppen unverändert. Desweiteren nahm die Anzahl der Antihypertensiva in der

Subgruppe 2 ab, diese stieg aber in der Subgruppe 1, allerdings nicht signifikant. Die Reninspiegel nahmen in beiden Subgruppen zu, einen signifikanten Anstieg zeigte aber nur die Subgruppe 2 (Tabelle 8).

Parameter	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l) baseline vs follow-up n=14		Paar-anzahl	p-Wert	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l) baseline vs follow-up n=66		Paar-anzahl	p-Wert
	Adrenalektomie				Adrenalektomie			
BMI (body mass index) (kg/m <sup>2</sup> )	28,1 ± 4,92	27,9 ± 5,43	13*	0,585	28,4 ± 5,23	28,3 ± 5,14	65*	0,678
Serum-Kalium(mmol/l)	3,52 ± 0,36	4,00 ± 0,43	14*	<b>0,006</b>	3,24 ± 0,52	4,32 ± 0,50	64*	<b>&lt;0,005</b>
Kreatinin (mg/dl)	0,92 ± 0,26	1,08 ± 0,37	13*	<b>0,009</b>	0,90 ± 0,25	1,05 ± 0,32	61*	<b>&lt;0,005</b>
GFR (MDRD)(ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	88,8 ± 25,7	77,2 ± 24,3	14*	<b>0,002</b>	86,5 ± 19,3	74,5 ± 22,2	59*	<b>&lt;0,005</b>
Blutdruck systolisch/diastolisch	145/90 ± 18/10	132/84 ± 17/9	14*	<b>0,041/0,051</b>	149/91 ± 17/11	132/83 ± 13/10	64*	<b>&lt;0,005/ &lt;0,005</b>
Protein in 24h Urin (mg/dl)	7,79 ± 3,94	4,97 ± 2,14	10*	<b>0,041</b>	39,1 ± 101,3 (7,35)	5,6 ± 3,23 (5,00)	46/40**	<b>&lt;0,005</b>
Anzahl der Antihypertensiva	1,87 ± 1,03	2,5 ± 1,40	14*	0,189	1,94 ± 1,04	1,21 ± 1,23	66*	<b>&lt;0,005</b>
Aldosteron (ng/l)	188,3 ± 69,3 (183,5)	90,2 ± 73,0 (68,0)	14/13**	<b>0,011</b>	314,8 ± 193,1 (249,0)	71,4 ± 46,3 (54,5)	66/56**	<b>&lt;0,005</b>
Renin (ng/l)	4,46 ± 3,85 (3,4)	39,0 ± 77,4 (10,0)	14/13**	0,091	3,69 ± 4,38 (2,18)	19,5 ± 23,8 (9,96)	58/56**	<b>&lt;0,005</b>
ARQ	76,9 ± 52,6 (51,2)	35,4 ± 74,9 (12,2)	14/13**	<b>0,039</b>	217,7 ± 351,2 (108,9)	10,1 ± 14,9 (5,64)	58/55**	<b>&lt;0,005</b>

**Tabelle 8:** klinische und biochemische Parameter von 80 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre nach Adrenalektomie im Vergleich Baseline vs. Follow-up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

BMI =body mass index, GFR (MDRD) = glomeruläre Filtrationsrate (Modification of Diet in Renal Disease); ARQ=Aldosteron/Renin-Quotient. Werte angegeben in Mittelwerten ± Standardabweichung (Median). \*T students T test. \*\*Wilcoxon test.

### 3.4.2. Vergleich der Komorbiditäten von adrenaletomierten Patienten zwischen Baseline und Follow-up in den Subgruppen 1 und 2

In der Subgruppe 2 wurde eine signifikante Zunahme des Vitamin D-Mangels und der chronischen Nierenerkrankung beobachtet. Die Veränderungen anderer Komorbiditäten zwischen Baseline und Follow-up waren in beiden Subgruppen nicht signifikant (Tabelle 9).

Komorbidität (nach Adrenaletomie)	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50- 100 ng/l)  n=14 Baseline/Follow- up	p-Wert McNemar	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l)  n=66 Baseline/Follow- up	p-Wert McNemar
Schlafapnoe	1/2	1,000	6/7	1,000
Vitamin D-Mangel	0/3	0,250	6/19	<b>0,001</b>
Lipidämie	4/5	1,000	19/20	1,000
Hyperparathyroidismus	0/1	1,000	3/8	0,125
Depression	1/1	1,000	8/8	1,000
Vorhofflimmern	1/2	1,000	1/2	1,000
Koronare Herzkrankheit	1/1	1,000	10/10	1,000
Myokardinfarkt	0/1	1,000	1/1	1,000
Herzinsuffizienz	0/0	1,000	1/4	0,250
Linksventrikuläre Hypertrophie	3/7	0,125	23/23	1,000
pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit)	0/0	1,000	1/2	1,000
TVT(tiefe Venenthrombose)	0/1	1,000	0/2	0,500
Zerebrovaskuläre Stenose	0/0	1,000	3/2	1,000
Schlaganfall	0/0	1,000	0/0	1,000
Chronische Nierenerkrankung	2/4	0,500	9/18	<b>0,004</b>

**Tabelle 9:** Komorbiditäten der 80 prospektiven PA Patienten nach Adx zum Zeitpunkt Follow-up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

Adx=Adrenaletomie.

### **3.4.3. Vergleich zwischen Baseline und Follow-up bei medikamentös behandelten Patienten**

Die mit MR-Antagonisten behandelte Patienten zeigten in beiden Subgruppen,  $1,15 \pm 0,29$  Jahre nach Therapiestart, eine Erhöhung des Kaliumspiegels im Serum und dadurch im Durchschnitt eine Normokaliämie, einen Anstieg des Kreatininspiegels im Serum, eine Abnahme der GFR, Senkung des diastolischen Blutdruckes in beiden Gruppen und Senkung des systolischen Blutdruckes in der Subgruppe 2. In beiden Subgruppen kam es zum Anstieg des Renins. Für alle genannten Parameter lag der P-Wert  $<0,05$ . Keine signifikante Veränderung zeigte sich in BMI und in der Anzahl der Antihypertensiva.

In der Subgruppe 2 kam es zum signifikanten Aldosteronanstieg, in der Subgruppe 1 zum nicht signifikanten Aldosteronabfall der Medianwerte. Der ARQ nahm in der Subgruppe 1 signifikant ab, in der Subgruppe 2 zeigte sich kein signifikanter Abfall. Die Proteinurie nahm in der Subgruppe 2 signifikant ab, in der Vergleichsgruppe zeigten sich diesbezüglich konstante Medianwerte (Tabelle 10).



Parameter	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l) baseline vs follow-up n=24		Paaranzahl	p-Wert	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l) baseline vs follow-up n=22		Paaranzahl	p-Wert
	Medikamentöse Therapie				Medikamentöse Therapie			
BMI (body mass index) (kg/m <sup>2</sup> )	29,2 ± 5,11	28,7 ± 4,49	23*	0,174	29,0 ± 5,09	27,1 ± 7,59	22*	0,263
Serum-Kalium(mmol/l)	3,52 ± 0,42	4,08 ± 0,48	24*	<0,005	3,40 ± 0,66	4,1 ± 0,53	22*	<0,005
Kreatinin (mg/dl)	0,92 ± 0,28	1,05 ± 0,42	24*	0,008	1,00 ± 0,45	1,14 ± 0,53	22*	0,012
GFR (MDRD)(ml/min/1.73m <sup>2</sup> )	91,9 ± 24,1	80,4 ± 21,7	24*	0,001	84,9 ± 30,6	72,6 ± 26,6	22*	0,009
Blutdruck systolisch/diastolisch	144/91 ± 17/12	136/84 ± 14/6	24*	0,118/ 0,021	156/98 ± 19/16	137/86 ± 25/15	22*	0,004/0,008
Protein in 24h Urin (mg/dl)	24,1 ± 77,3 (5,25)	5,6 ± 2,69 (5,10)	20/23**	0,381	35,1 ± 56,2 (10,10)	11,7 ± 12,9 (6,95)	17/18**	0,049
Anzahl der Antihypertensiva	1,71 ± 1,33	1,71 ± 0,96	24*	1.000	1,95 ± 1,13	1,86 ± 1,36	22*	0,809
Aldosteron (ng/l)	179,9 ± 69,0 (166,4)	194,4 ± 119,1 (151,0)	24/21**	0,715	272,7 ± 176,2 (210)	434,3 ± 348,4 (354)	22/20**	0,005
Renin (ng/l)	4,63 ± 3,55 (3,9)	21,2 ± 26,8 (10,4)	23/22**	<0,005	6,77 ± 6,38 (4,20)	40,6 ± 70,7 (13,4)	19**	0,001
ARQ	84,6 ± 84,9 (36,0)	33,9 ± 42,6 (13,0)	23/21**	<0,005	79,0 ± 79,1 (42,7)	36,7 ± 36,2 (29,0)	19**	0,093

**Tabelle 10:** klinische und biochemische Parameter von 46 prospektiven PA Patienten 1,15 ± 0,29 Jahre nach Therapiebeginn mit MR-Antagonisten im Vergleich zwischen Baseline und Follow-up; aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln. BMI =body mass index, GFR (MDRD) = glomeruläre Filtrationsrate (Modification of Diet in Renal Disease); ARQ=Aldosteron/Renin-Quotient. Werte angegeben in Mittelwerten ± Standardabweichung (Median). \*T students T test, \*\*Wilcoxon test.

### 3.4.4. Vergleich der Komorbiditäten von medikamentös behandelten Patienten zwischen Baseline und Follow-up in den Subgruppen 1 und 2

Es gab keine signifikanten Unterschiede der Komorbiditätsraten zwischen Baseline und Follow-up in beiden Subgruppen (Tabelle 11).

Komorbidität (mit MR-Antagonisten-Therapie)	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l) n=24 Baseline/Follow-up	p-Wert McNemar	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l) n=22 Baseline/Follow-up	p-Wert McNemar
Schlafapnoe	4/4	1,000	3/4	1,000
Vitamin D-Mangel	3/6	0,453	3/6	0,375
Lipidämie	6/11	0,063	6/6	1,000
Hyperparathyroidismus	2/2	1,000	1/3	0,500
Depression	3/4	1,000	4/2	0,500
Vorhofflimmern	1/1	1,000	1/1	1,000
Koronare Herzkrankheit	4/4	1,000	3/3	1,000
Myokardinfarkt	0/1	1,000	0/0	1,000
Herzinsuffizienz	2/3	1,000	5/3	0,500
Linksventrikuläre Hypertrophie	9/11	0,687	7/7	1,000
pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankheit)	0/1	1,000	0/0	1,000
TVT(tiefe Venenthrombose)	1/1	1,000	1/1	1,000
Zerebrovaskuläre Stenose	1/2	1,000	0/0	1,000
Schlaganfall	0/0	1,000	0/0	1,000
Chronische Nierenerkrankung	5/6	1,000	4/7	0,375

**Tabelle 11:** Komorbiditäten der 46 prospektiven, medikamentös behandelten PA Patienten zum Zeitpunkt Follow-up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post-KIT Aldosteronspiegeln.

KIT=Kochsalzinfusionstest, MR=Mineralkortikoid-Rezeptor.

### 3.4.5. Vergleich der Komorbiditäten zwischen Baseline und Follow up in den beiden Subgruppen ohne Berücksichtigung der Therapieart

Komorbidität	Prävalenz Baseline/Follow up (Patientenanzahl) Subgruppe 1		Prävalenz Baseline/Follow up (Patientenanzahl) Subgruppe 2		Prävalenz Baseline/Follow up gesamt	
		p-Wert*		p-Wert*		p-Wert*
Schlafapnoe	5/6	1,000	9/11	0,625	14/17	0,375
Vitamin D Mangel	3/9	0,109	9/25	<b>&lt;0,005</b>	12/34	<b>&lt;0,005</b>
Hyperlipidämie	10/16	<b>0,031</b>	25/26	1,000	35/42	0,189
Hyperparathyreoidismus	2/3	1,000	4/11	<b>0,039</b>	6/14	<b>0,021</b>
Depression	4/5	1,000	12/10	0,625	16/15	1,000
Vorhofflimmern	2/3	1,000	3/3	1,000	5/6	1,000
Koronare Herzkrankheit	5/5	1,000	13/13	1,000	18/18	1,000
Myokardinfarkt	0/2	0,500	1/1	1,000	1/3	0,500
Herzinsuffizienz	2/3	1,000	6/7	1,000	8/10	0,687
Linksventrikuläre Hypertrophie	12/18	0,109	30/30	1,000	42/48	0,307
pAVK (periphere arterielle Verschlusskrankung)	0/1	1,000	1/1	1,000	1/3	0,500
TVT (tiefe Venenthrombose)	1/2	1,000	1/3	0,500	2/5	0,25
Zerebrovaskuläre Stenose	1/2	1,000	3/2	1,000	4/4	1,000
Schlaganfall	1/1	1,000	0/0	1,000	1/1	1,000
Chronische Nierenerkrankung	7/10	0,453	13/25	<b>0,002</b>	20/35	<b>0,001</b>

**Tabelle 12:** Vergleich der Komorbiditätenprävalenz von 126 prospektiven PA Patienten zwischen Baseline and Follow up, aufgeteilt in 2 Subgruppen in Abhängigkeit von post KIT Aldosteronspiegeln und der Gesamtgruppe. \*McNemar Test.

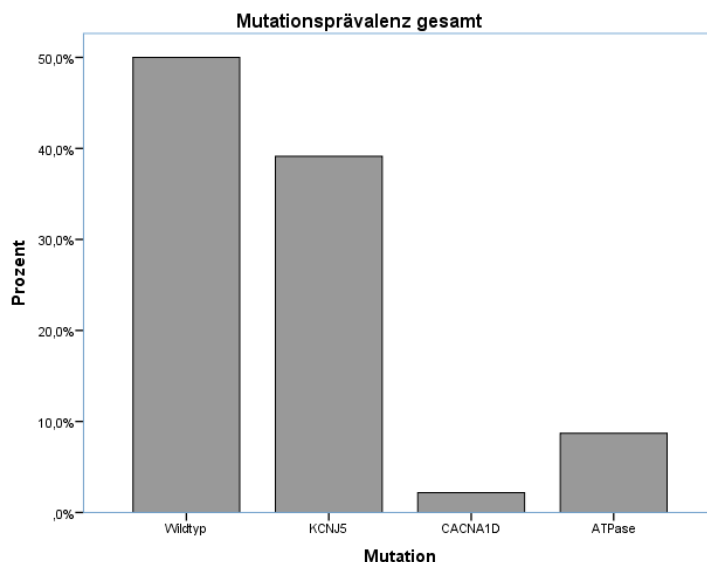
Beim Vergleich der Komorbiditäten zwischen Baseline und Follow up in den beiden Subgruppen, ohne Berücksichtigung der Therapieart, erscheint in der Subgruppe 2 zusätzlich zur signifikant erhöhten Prävalenz von Vitamin D-Mangel und chronischer Nierenerkrankung eine erhöhte Prävalenz von Hyperparathyreoidismus. In der Subgruppe 1 wird eine signifikante Zunahme von Hyperlipidämie sichtbar. Eine Veränderung der Prävalenz bei allen 126 Patienten ist bei Vitamin D-Mangel,

Hyperparathyreoidismus und chronischer Nierenerkrankung zu verzeichnen (Tabelle12).

### 3.5. Mutationsstatus der beiden Subgruppen

#### 3.5.1. Prävalenz von Mutationen

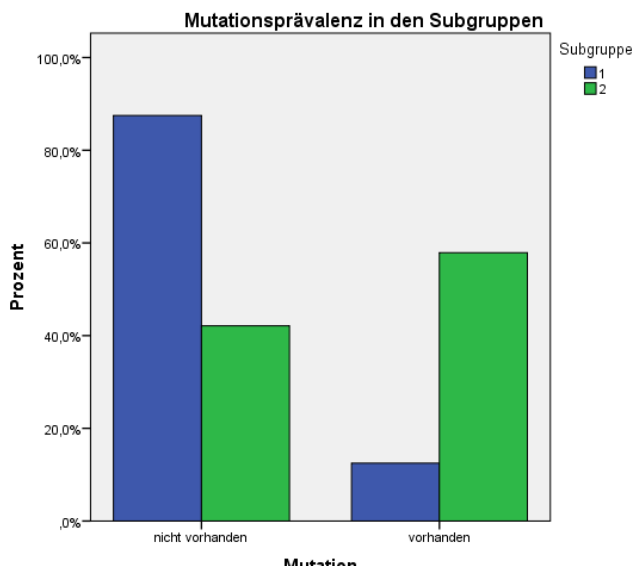
Bei 46 adrenalektomierten Patienten wurde der Mutationsstatus nach der Genotypisierung des Tumorgewebes bestimmt. Es lag folgende Mutationsprävalenz vor: bei 50% der untersuchten Patienten wurde keine Mutation festgestellt, bei 39,1% eine Mutation des Gens KCNJ5, bei 2,2% eine Mutation des CACNA1D-Gens und bei 8,7% der ATPase-Gene. (Abbildung 3).



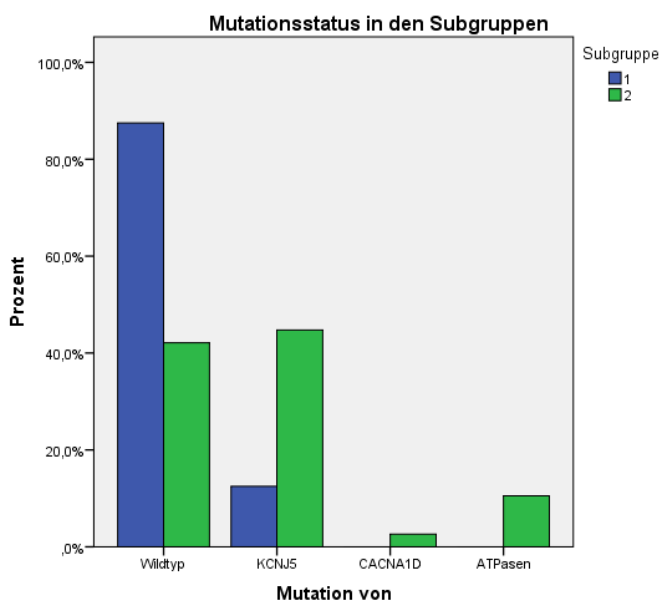
**Abbildung 3:** Mutationsprävalenz der 46 untersuchten PA Patienten nach Adrenalektomie

#### 3.5.2. Mutationsprävalenz in den Subgruppen

In der Subgruppe 2 kamen Mutationen signifikant häufiger vor (57,9% vs.12,5%,  $p=0,047$ ) (Abbildung 4). Die detaillierte Betrachtung der vorliegenden Mutationen zeigen höhere Mutationsraten des KCNJ5-Gens in der Subgruppe 2. Außerdem liegen die Mutationen der CACNA1D- und ATPase-Gene nur in der Subgruppe 2 vor (Abbildung 5).



**Abbildung 4:** Mutationsprävalenz abhängig von post-KIT Aldosteronspiegeln zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Subgruppe 1 (blaue Balken) = post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2 (grüne Balken) = post-KIT Aldosteron >100 ng/l.

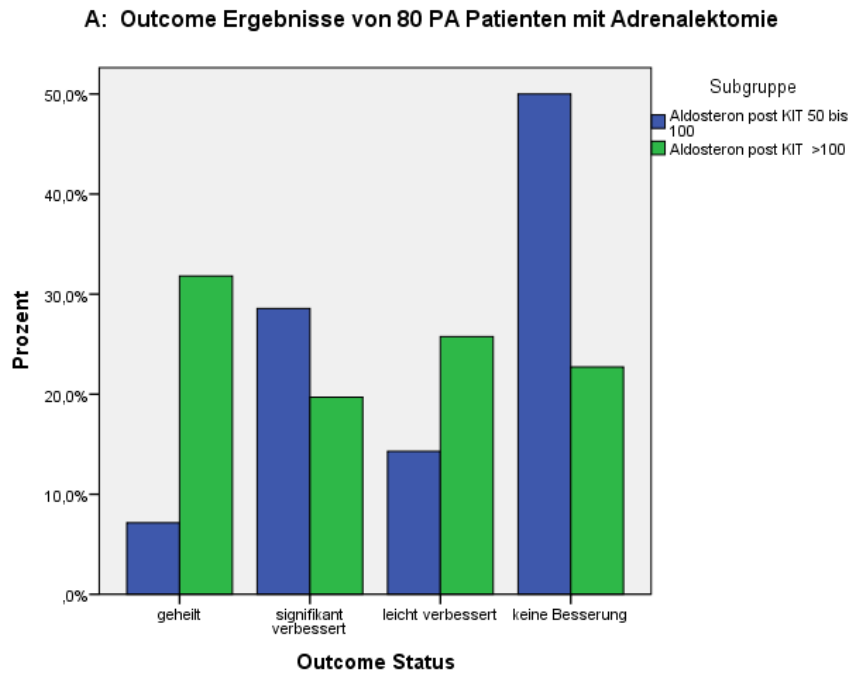


**Abbildung 5:** vorliegende Mutationen in den beiden Subgruppen abhängig von post-KIT Aldosteronspiegeln zum Zeitpunkt der Diagnosestellung. Subgruppe 1 (blaue Balken) = post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2 (grüne Balken) = post-KIT Aldosteron >100 ng/l.

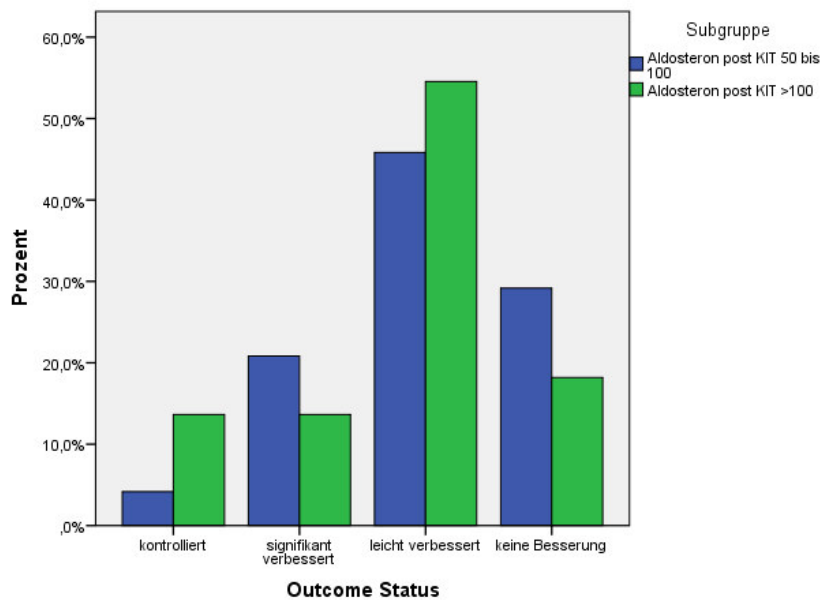
### 3.6. Outcome der beiden Subgruppen je nach Therapieart

Das Outcome der beiden Gruppen wurde je nach Therapie getrennt analysiert. Da die medikamentös behandelten Patienten eine unter Umständen lebenslange Einnahme von MR-Antagonisten benötigen, wurde bei diesen Patienten das beste Outcome als „kontrolliert“ bezeichnet. Bei den adrenaletomierten Patienten war das bestmögliche Outcome „geheilt“. Um das Outcome detaillierter beurteilen zu können, wurde das Outcome in 4 Gruppen eingeteilt. Eine detaillierte Definition ist im Kapitel Methoden beschrieben. Der Outcome-Status mit Abfall des Blutdruckes, Normokaliämie und einer

Reduktion der Antihypertensivaanzahl wurde häufiger in Subgruppe 2 erreicht (Abbildung 6).



**B: Outcome Ergebnisse von 46 PA Patienten mit MR-Antagonisten-Therapie**



**Abbildung 6:** Outcome Status der 126 PA Patienten nach Adrenalektomie(A) oder medikamentöser Therapie (B) abhängig von Aldosteronspiegeln post-KIT zum Zeitpunkt der Diagnosestellung.

KIT=Kochsalzinfusionstest; MR=Mineralrezeptor; PA=primärer Hyperaldosteronismus.

### 3.6.1. Outcome der adrenalektomierten Patienten

#### 3.6.1.1. Einteilung nach Outcome-Definition

Von den 80 adrenalektomierten Patienten erreichten 21 (31,8%) Patienten aus der Subgruppe 2 und 1 (7,1%) Patient aus der Subgruppe 1 den Status "geheilt" (p-Wert nicht signifikant). Von den 80 adrenalektomierten Patienten erreichten 5 (35,7%) Patienten aus der Subgruppe 1 und 34 (51,5%) aus der Subgruppe 2 den Status „geheilt“ oder „signifikant verbessert“(p-Wert nicht signifikant). Von den 80 adrenalektomierten Patienten erreichten 7 (50%) Patienten aus der Subgruppe 1 und 15 (22,7%) aus der Subgruppe 2 keine Verbesserung trotz der Therapie. Der Unterschied zwischen den beiden Gruppen war statistisch signifikant (p=0,038) (Tabelle 13).

A: Adx Patienten	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l)	p-Wert (Fisher's exact Test)
geheilt	1 (7,1%)	21 (31,8%)	0,097
nicht geheilt	13 (92,9%)	45 (68,2%)	

B: Adx Patienten	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l)	p-Wert (Chi <sup>2</sup> Test)
geheilt, signifikant verbessert	5 (35,7%)	34 (51,5%)	0,283
nicht geheilt	9 (64,3%)	32 (48,5%)	

C: Adx Patienten	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l)	p-Wert (Chi <sup>2</sup> Test)
geheilt, signifikant verbessert, leicht verbessert	7 (50%)	51 (77,3%)	0,038
Keine Besserung	7 (50%)	15 (22,7%)	

**Tabelle 13:** Outcome Daten der 80 adrenalektomierten Patienten.

A: geheilt vs. nicht geheilt

B: geheilt, signifikant verbessert vs. nicht geheilt

C: geheilt, signifikant verbessert, leicht verbessert vs. keine Besserung

KIT=Kochsalzinfusionstest, Adx= Adrenalektomie. Werte angegeben in Anzahl der Patienten (Prozent innerhalb der Subgruppe).

### **3.6.1.2. Aldosteronoma resolution score nach Zarnegar et al**

Von 66 adrenaletomierten Patienten, bei denen die Berechnung des ARS möglich war, erreichten 30% die hohe, 53% die mittlere und 17% die niedrige Heilungswahrscheinlichkeit nach Adx.

Wir haben die Heilungswahrscheinlichkeit nach dem ARS von Zarnegar et al in den Subgruppen getrennt untersucht.

In der Subgruppe 1 hatte ein Patient die hohe, 9 Patienten die mittlere und 2 Patienten die niedrige Heilungswahrscheinlichkeit erreicht (Tabelle 14). Der Patient, der die hohe Heilungswahrscheinlichkeit erreichte, zeigte nach der Adx eine nur leichte Verbesserung nach unserer Definition (siehe Kapitel 2.3.). Der tatsächlich geheilte Patient hatte die mittlere Wahrscheinlichkeitsstufe für komplette Heilung nach ARS erreicht. Von den 9 Patienten, eingeteilt in mittlere Heilungswahrscheinlichkeit, haben nur 3 eine tatsächliche Besserung erreicht und bei 6 Patienten blieb jegliche Besserung aus. Bei der Heilungswahrscheinlichkeit „niedrig“ erreichten die 2 Patienten eine leichte und eine signifikante Besserung.

In der Subgruppe 2 haben 19 Patienten die hohe, 26 Patienten die mittlere und 9 Patienten die niedrige Heilungswahrscheinlichkeit erreicht. In dieser Patientensubgruppe hatten 12 Patienten von 21 geheilten Patienten (unsere Definition siehe Kapitel 2.3.) im ARS die Stufe „hoch“ erreicht, 5 Patienten die Stufe „mittel“ und ein Patient hatte eine nur niedrige Heilungswahrscheinlichkeit. Unter den Patienten mit einem verbesserten Outcome erreichten 4 den hohen, 16 Patienten den mittleren und 3 den niedrigen ARS. Bei therapieresistenten Patienten erreichten 3 den hohen und jeweils 5 Patienten den mittleren und den niedrigen ARS.



Heilungswahrscheinlichkeit nach dem ARS	geheilt	Signifikante und leichte Besserung	Keine Besserung
<b>Subgruppe1</b>			
hoch	0	1	0
mittel	1	2	6
niedrig	0	2	0
ARS nicht berechenbar	-	1	1
<b>Subgruppe 2</b>			
hoch	12	4	3
mittel	5	16	5
niedrig	1	3	5
ARS nicht berechenbar	3	7	2

**Tabelle 14:** Heilungswahrscheinlichkeit nach dem Aldosteronoma resolution score (ARS) von 66 adrenaletomierten Patienten (getrennt nach Subgruppen) verglichen mit dem tatsächlichen Outcome Status.

### 3.6.2. Outcome der medikamentös behandelten Patienten

Von den 46 mit MR-Antagonisten behandelten Patienten erreichten nur 4,2% bzw. 13,6% (Subgruppe 1 bzw. 2) die Outcome-Stufe „kontrolliert“. Den Status „kontrolliert“ oder „signifikant verbessert“ erreichten nur 25% bzw. 27,3% der Patienten (Subgruppe 1 bzw. 2). Auch bei den medikamentös behandelten Patienten zeigten mehr Patienten in der Subgruppe 1 keine Besserung nach 1 Jahr der Therapie. Die Unterschiede zwischen den Subgruppen bei den medikamentös behandelten Patienten waren statistisch nicht signifikant (Tabelle 15).

<b>A: Therapie mit MR-Antagonisten</b>	<b>Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)</b>	<b>Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l)</b>	<b>p-Wert (Fisher's exact Test)</b>
kontrolliert	1 (4,2%)	3 (13,6%)	0,336
Nicht kontrolliert	23 (95,8%)	19 (86,4%)	

<b>B: Therapie mit MR-Antagonisten</b>	<b>Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)</b>	<b>Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l)</b>	<b>p-Wert (Chi<sup>2</sup> Test)</b>
Kontrolliert und signifikant verbessert	6 (25%)	6 (27,3%)	0,861
Keine Besserung	18 (75%)	16 (72,7%)	

<b>C: Therapie mit MR-Antagonisten</b>	<b>Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l)</b>	<b>Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron &gt;100 ng/l)</b>	<b>p-Wert (Chi<sup>2</sup> Test)</b>
Kontrolliert, signifikant verbessert, leicht verbessert	17 (70,8%)	18 (81,8%)	0,383
Keine Besserung	7 (29,2%)	4 (18,2%)	

**Tabelle 15:** Outcome-Daten der 46 mit MR-Antagonisten behandelten Patienten.

A: kontrolliert vs. nicht kontrolliert

B: kontrolliert, signifikant verbessert vs. nicht kontrolliert

C: kontrolliert, signifikant verbessert, leicht verbessert vs. keine Besserung

KIT=Kochsalzinfusionstest, MR=Mineralkortikoidrezeptor. Werte angegeben in Anzahl der Patienten (Prozent innerhalb der Subgruppe).

### 3.7. Parameter des Kochsalzinfusionstestes und Subtypisierung

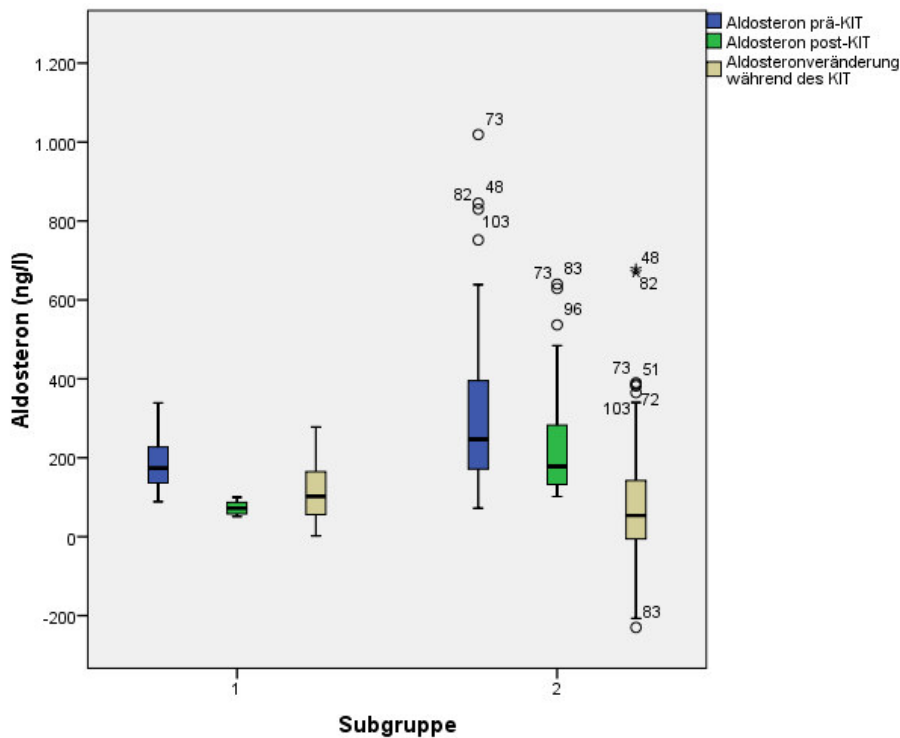
#### 3.7.1. Veränderung der Parameter während des Kochsalzinfusionstestes

##### 3.7.1.1. Parameter des Kochsalzinfusionstestes von 126 Patienten

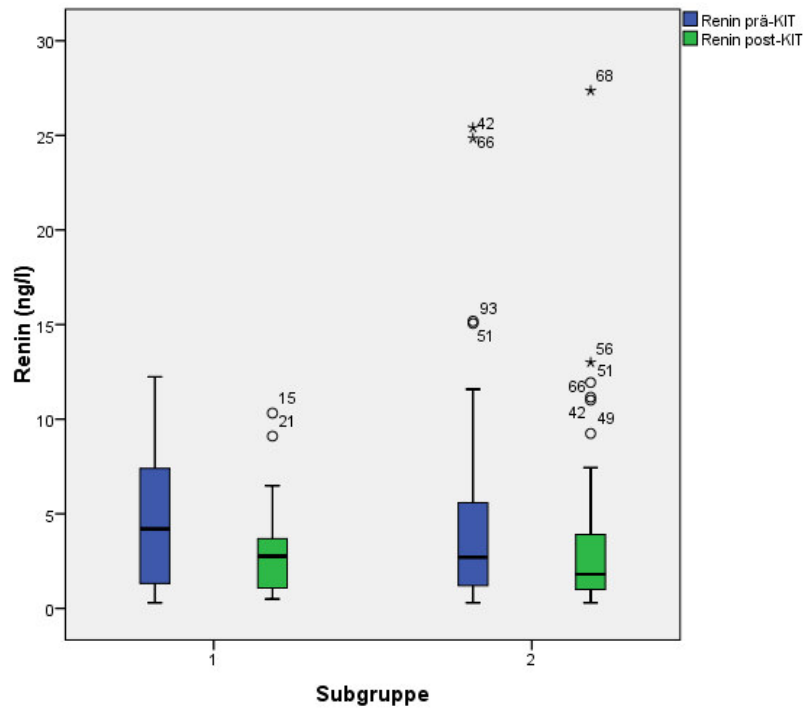
Die Analyse des KIT zeigte, dass die Subgruppe 2 im Vergleich zur Subgruppe 1 signifikant höhere Aldosteronspiegel vor (304,3 vs. 183,0 p<0,005) und nach (220,2 vs. 72,5 p< 0,005) dem KIT aufwies. Der Aldosteronabfall während des KIT ist signifikant schwächer in der Gruppe 2 (84,2 vs. 110,5 p=0,024) (Abbildung 7).

Es zeigten sich keine signifikanten Unterschiede der Reninspiegel vor und nach KIT (Abbildung 8).

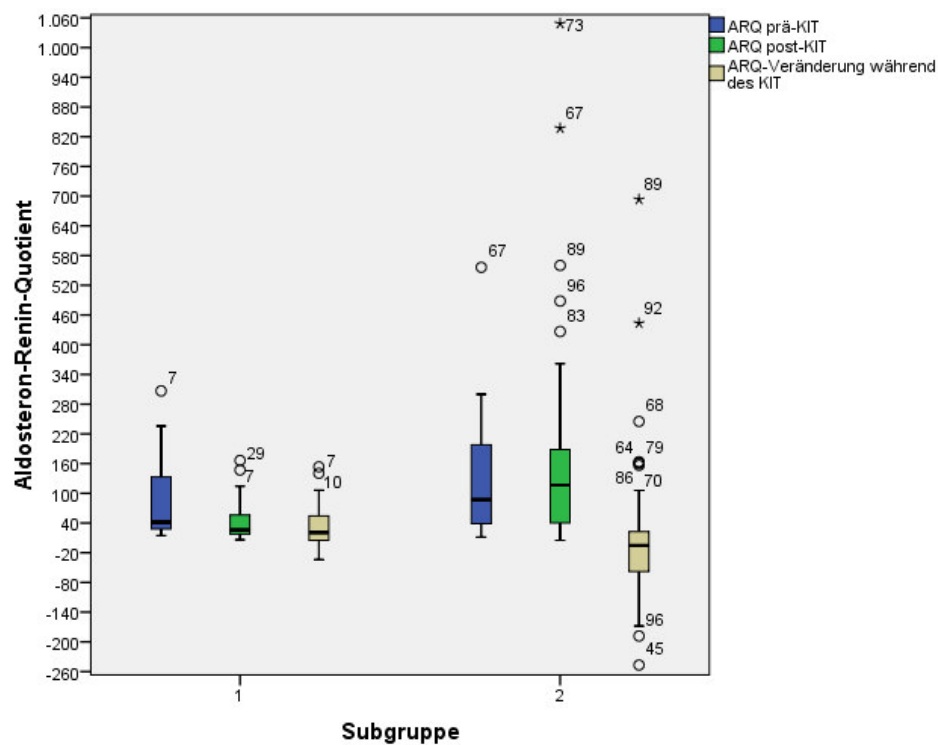
In beiden Subgruppen präsentierte sich ein hoch pathologischer ARQ vor und nach dem KIT, wobei dieser in der Subgruppe 2 signifikant höher war als in der Subgruppe 1 (prä-KIT median: 87,8 vs. 41,9  $p=0,009$ ; post-KIT median: 116,7 vs. 26,1  $p<0,005$ ). Die Veränderung des ARQ fällt in der Gruppe 2 negativ aus, d.h. die Medianwerte des ARQ nehmen post-KIT sogar zu, während der ARQ in der Subgruppe 1 post-KIT abnimmt (Medianwerte Subgruppe 2 vs. Subgruppe 1: -5,10 vs. 20,8,  $p=0,001$ ) (Abbildung 9).



**Abbildung 7:** Aldosteron prä- (blau) und post- (grün) KIT und Aldosteronabfall (beige) in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l).



**Abbildung 8:** Renin prä- (blau) und post- (grün) KIT in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l).



**Abbildung 9:** ARQ prä- (blau) und post-(grün) KIT und ARQ-Abfall (beige) in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l).

### 3.7.1.2. Kortisol während des Kochsalzinfusionstestes von 53 Patienten aufgeteilt in 2 Subgruppen

Die Kortisolspiegel im Serum lagen in der Gesamtgruppe im Durchschnitt bei 14,5 µg/dl und bei 6,5 µg/dl (prä- und post-KIT). Der Kortisolspiegel fiel im Durchschnitt um 7,55 µg/dl während des Testes ab. Der AKQ lag in der Gesamtgruppe im Durchschnitt bei 15,4 ng/l / µg/dl vor bzw. bei 18,8 ng/l / µg/dl nach dem KIT. Dies entspricht einer Zunahme des AKQ um 1,83 ng/l / µg/dl (Tabelle 16).

Kortisol während des KIT	Beide Subgruppen
	Median n=53
Kortisol (µg/dl) prä-test	14,5
Kortisol (µg/dl) post-test	6,50
Kortisolabfall (µg/dl)	7,55
AKQ (ng/l per µg/dl) prä-KIT	15,4
AKQ (ng/l per µg/dl) post-KIT	18,8
AKQ $\Delta$ (ng/l per µg/dl)	-1,83

**Tabelle 16:** Kortisol, Kortisolabfall, AKQ prä- und post-KIT und AKQ-Veränderung bei 53 prospektiven PA Patienten.

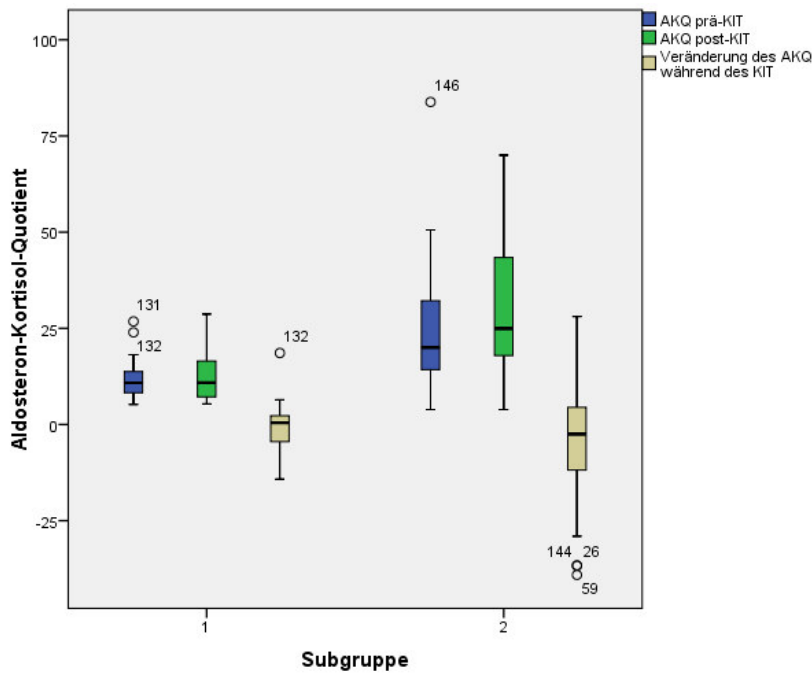
AKQ=Aldosteron/Kortisol-Quotient, KIT=Kochsalzinfusionstest.

Beim Subgruppenvergleich zeigten sich in der Subgruppe 2 signifikant höhere AKQ prä-KIT(20,0 vs. 10,8 p<0,005) und post-KIT (25,0 vs. 10,9 p<0,005) (Abbildung 10). Es konnten keine signifikanten Unterschiede in Kortisolspiegeln vor und nach KIT sowie im Kortisol- und im AKQ-Abfall festgestellt werden (Tabelle 17).

KIT Parameter	Subgruppe 1 (post KIT Aldosteron 50-100 ng/l) (median) n=16	Subgruppe 2 (post KIT Aldosteron >100 ng/l) (median) n=37	p-Wert (Mann-WhitneyTest)
Kortisol (µg/dl) prä-test	15,1	14,1	0,421
Kortisol (µg/dl) post-test	7,1	6,50	0,543
Kortisolabfall (µg/dl)	8,9	7,20	0,641
AKQ (ng/l per µg/dl) prä-test	10,8	20,0	<0,005
AKQ (ng/l per µg/dl) post-test	10,9	25,0	<0,005
AKQΔ (ng/l per µg/dl)	0,43	-2,51	0,208

**Tabelle 17:** Kortisol, Kortisolabfall, AKQ prä- und post-KIT und AKQ-Veränderung bei 53 prospektiven PA Patienten, aufgeteilt nach Aldosteronspiegeln post-KIT.

AKQ=Aldosteron/Kortisol-Quotient, KIT=Kochsalzinsusionstest.



**Abbildung 10:** Aldosteron-Kortisol-Quotient (AKQ) prä- (blau) und post-(grün) KIT und AKQ-Abfall (beige) in beiden Subgruppen (Subgruppe 1= post-KIT Aldosteron 50-100 ng/l; Subgruppe 2= post-KIT Aldosteron >100 ng/l).

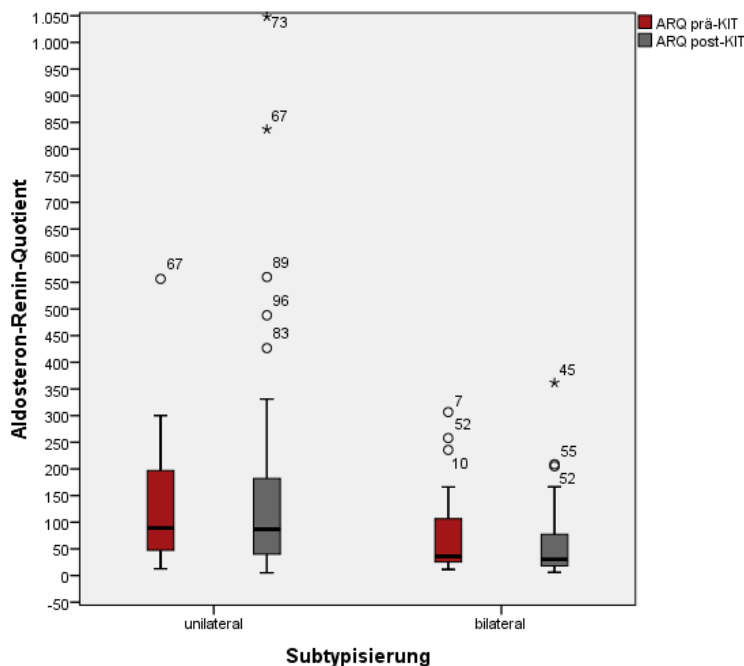
### 3.7.2. Parameter des Kochsalzinfusionstestes und die Subdifferenzierung

Die KIT-Parameter wie Aldosteronveränderung, ARQ und AKQ vor und nach dem Test in den beiden Subgruppen wurden in Bezug auf den Subtyp miteinander verglichen. Die Patienten mit einer unilateralen Erkrankung haben signifikant höhere ARQ prä- und post-KIT ( $p < 0,005$ ) (Abbildung 11). Es konnte kein signifikanter Unterschied in Aldosteronänderung und AKQ prä- und post-KIT festgestellt werden (Tabelle 18).

KIT Parameter/ Anzahl der Patienten	Bilateral mean $\pm$ SD (median)	Unilateral mean $\pm$ SD (median)	p-Wert (Mann-Whitney-Test)
$\Delta$ Aldosteron/ n=126	107,7 $\pm$ 135,1 (68,0)	84,5 $\pm$ 141,6 (65,0)	0,362
ARQ prä-KIT/ n=114	81,8 $\pm$ 78,8 (41,9)	183,4 $\pm$ 311,9 (88,0)	<b>0,005</b>
ARQ post/ n=100	63,5 $\pm$ 78,3 (30,4)	167,4 $\pm$ 250,7 (87,0)	<b>0,005</b>
AKQ prä-KIT/ n=51	17,4 $\pm$ 11,1 (13,3)	23,3 $\pm$ 16,1 (18,2)	0,104
AKQ post/ n=47	20,6 $\pm$ 16,7 (16,5)	28,2 $\pm$ 17,6 (22,5)	0,080

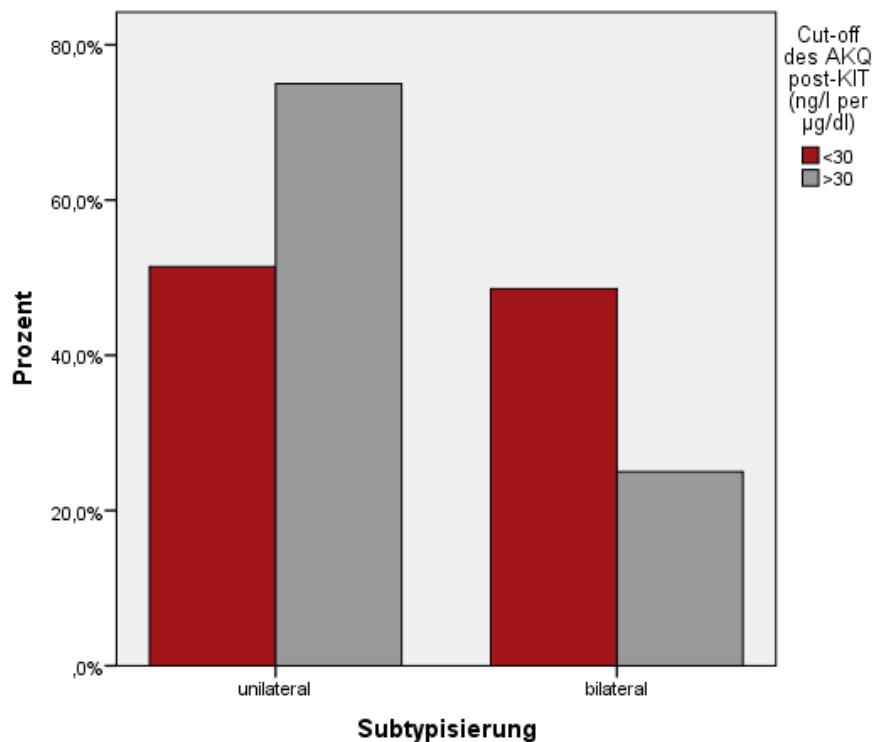
**Tabelle 18:** KIT-Parameter der beiden Subtypen "Bilateraler" und "unilateraler" PA.

AKQ=Aldosteron/Kortisol-Quotient; KIT=Kochsalzinsusionstest.



**Abbildung 11:** Aldosteron-Renin-Quotient prä- und post-KIT je nach Subtyppdifferenzierung.

Wir untersuchten den AKQ auf seine Möglichkeit den Subtyp vorherzusagen. Es wurden mehrere Cut-offs getestet. Sowohl die graphische Darstellung der Punktdiagramme als auch die Angabe in der o.g. Studie [82] führten beim AKQ zum Cut-off Wert 30. Der AKQ post-KIT kann mit dem Cut-off Wert von 30 die beiden Subtypen von PA nicht eindeutig differenzieren (p-Wert=0,154) (Abbildung 12).



**Abbildung 12:** Verteilung des AKQ mit dem Cut-off Wert 30 bei den Patienten mit unilateraler und bilateraler Mehrsekretion.

AKQ=Aldosteron/Kortisol-Quotient, KIT=Kochsalzinfusionstest; AKQ <30= braune Balken, AKQ >30=graue Balken.

### 3.8. Parameter des Kochsalzinfusionstestes und das Outcome

Die Analyse der prä- und post-KIT Parameter wie Aldosteron, Aldosteronveränderung, ARQ und seine Veränderung, AKQ und seine Veränderung wurden in Bezug auf die Outcomestufen analysiert. Die Definitionen für die Outcomestufen wurden in Kapitel 2.3. dargelegt. Die ARQ prä- und post-KIT nahmen kontinuierlich vom Status „geheilt“ in Richtung „keine Verbesserung“ ab. Es bestand ein signifikanter Unterschied von ARQ prä- und post-KIT zwischen den Outcomestufen (Tabelle 19). Im Gegensatz dazu



nimmt der Reninspiegel prä-KIT in dem selbigen Verlauf signifikant zu. Bei einer genaueren Analyse zwischen den einzelnen Outcomestufen konnte zwischen der Gruppe „geheilt“ und „keine Verbesserung“ beim ARQ prä-KIT ein signifikanter Unterschied festgestellt werden. Beim ARQ post-KIT sah man zwischen der Gruppe „geheilt“ und „leicht verbessert“ und „geheilt“ und „keine Verbesserung“ einen signifikanten Unterschied. Zwischen den zuletzt genannten Outcomestufen besteht auch beim Reninspiegel prä-KIT ein signifikanter Unterschied. Bei der Subanalyse von 36 Patienten bzgl. AKQ und AKQ-Veränderung während des KIT konnte kein Unterschied zwischen den Outcomestufen festgestellt werden.

KIT-Parameter	geheilt N=26	Signifikant verbessert N=25	Leicht verbessert N=42	Keine Besserung N=33	p- Wert*
N=126	median	median	median	median	
Aldosteron prä-KIT	205,0	206,0	231,8	231,0	0,681
Aldosteron Post-KIT	163,5	133,0	139,5	113,0	0,135
Delta Aldosteron	27,5	87,0	72,7	102,2	0,108
Renin prä-KIT	1,98	1,60 (Vs. geheilt p=,860)***	3,28 (Vs. geheilt p=,045)***	4,95 (Vs. geheilt p=,001)***	0,007
Renin post- KIT	1,00	1,80	3,30	2,57	0,104
ARQ prä-KIT	136,0	122,5 (vs. geheilt p=,742)***	69,6 (vs. geheilt p=,084)***	53,6 (vs. geheilt p=,006)***	0,048
ARQ post-KIT	141,3	119,0 (vs. geheilt p=,202)***	52,5 (vs. geheilt p=,004)***	41,4 (vs. geheilt p=,002)***	0,041
Δ ARQ	-8,27	10,2	0,57	13,9	0,203
<b>N=36</b>	<b>MW ±SD</b>	<b>MW ±SD</b>	<b>MW ±SD</b>	<b>MW±SD</b>	<b>p- Wert**</b>
	N=5	N=5	N=13	N=13	
AKQ prä-KIT	27,3 ± 14,6	22,5 ± 18,5	17,6 ± 8,48	19,4 ± 11,3	0,467
AKQ post-KIT	26,0 ± 10,7	25,9 ± 17,2	21,4 ± 12,6	26,5 ± 19,4	0,868
Δ AKQ	1,32 ± 7,17	-3,45 ± 6,90	-4,53 ± 15,7	-6,95 ± 15,6	0,741

**Tabelle 19:** KIT-Parameter in den einzelnen Outcomestufen.

\*Kruskal-Wallis-Test, \*\*ANOVA; \*\*\*Mann-Whitney-Test. n=Patientenzahl, AKQ=Aldosteron/Kortisol-Quotient, KIT=Kochsalzinfusionstest, ARQ=Aldosteron/Renin-Quotient, MW±SD=Mittelwert ±Standardabweichung.

Bei der Untersuchung der medianen KIT-Parameter und des Outcomes, aufgeteilt in „jede Besserung“ und „keine Besserung“ sowie in beide Therapiearten, zeigte sich ein ähnliches Bild wie in der Tabelle 16 beschrieben. Auch bei den operierten Patienten gibt es signifikante Unterschiede je nach Outcome beim Renin prä-KIT und bei ARQ prä- und post-KIT (Tabelle 20 A). Beim besseren Outcome sind die Reninspiegel niedriger und die ARQ prä- und post-KIT höher. Bei den medikamentös behandelten Patienten sieht man diesen Trend nicht (Tabelle 20 B).

<b>A: KIT-Parameter nach Adx</b>	<b>Jede Besserung (median) n=58</b>	<b>Keine Besserung (median) n=22</b>	<b>p-Wert (Mann-Whitney-Test)</b>
Aldosteron prä-KIT	236,3	234,5	0,813
Aldosterone post-KIT	169,5	130,5	0,063
Δ Aldosteron	53,5	103,6	0,130
Renin prä-KIT	1,50	4,95	<b>0,003</b>
Renin post-KIT	1,35	2,45	0,080
ARQ prä-KIT	139,4	53,6	<b>0,005</b>
ARQ post-KIT	140,5	45,8	<b>0,011</b>
Δ ARQ	-3,96	10,1	0,378

<b>B: KIT-Parameter nach MR-Antagonisten</b>	<b>Jede Besserung (median) N=35</b>	<b>Keine Besserung (median) N=11</b>	<b>p-Wert (Mann-Whitney-Test)</b>
Aldosteron prä-KIT	177,0	187,8	0,471
Aldosterone post-KIT	112,0	88,9	0,537
Δ Aldosteron	83,0	63,0	0,652
Renin prä-KIT	4,05	5,08	0,673
Renin post-KIT	3,33	2,90	0,837
ARQ prä-KIT	36,5	49,3	0,965
ARQ post-KIT	28,7	34,5	0,955
Δ ARQ	8,75	22,6	0,320

**Tabelle 20:** KIT-Parameter und ihre Veränderung während des KIT abhängig vom Besserungsstatus. A: nach Adrenalectomie; B: nach medikamentöser Behandlung.

ARQ=Aldosteron-Renin-Quotient; MR= Mineralkortikoidrezeptor.

## **IV. Diskussion**

### **4.1. Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen**

#### **4.1.1. Baseline und Follow-up**

Kalium:

Zum Zeitpunkt Baseline zeigte die Subgruppe 2 eine signifikant stärkere Hypokaliämie als die Subgruppe 1 ( $p=0,027$ ). Die Untersuchung von Catena [107] wies nach, dass Aldosteronspiegel  $> 225$  ng/l mit niedrigeren Kaliumwerten, einer Albuminurie und höherer Kreatininclearance assoziiert waren. Unsere Ergebnisse bestätigen die Assoziation der höheren Aldosteronwerte mit der Hypokaliämie und der stärkeren Proteinurie zum Zeitpunkt Baseline. Zum Zeitpunkt Follow-up führten beide Therapiearten in beiden Subgruppen zur Normokaliämie.

Blutdruck:

Die vor der Therapie bestehenden Unterschiede ( $p=0,036$ ) bei den systolischen Blutdrücken glichen sich zum Zeitpunkt Follow-up an. Ein Abfall der systolischen und diastolischen Blutdrücke ist bei den adrenaletomierten Patienten in beiden Subgruppen und bei den medikamentös behandelten Patienten in der Subgruppe 2 zu verzeichnen. Bei der Therapie mit MR-Antagonisten zeigte sich in der Subgruppe 1 ein Blutdruckabfall nur in der Diastole. Eventuell war hier die mittlere Spironolacton-Dosis von  $43,1 \pm 18,8$  mg am Tag im Vergleich zu der Subgruppe 2 ( $49,4 \pm 22,4$  mg am Tag,  $p=0,355$ ) zu gering. Eine Studie zum Outcome nach Adx [108] zeigte, dass präoperative höhere Blutdruckspiegel stärkeren Abfall nach Adx erfuhren. Auch in unserer Studie waren, unabhängig von der Therapieart, in der Gruppe 2 zum Zeitpunkt Baseline höhere Blutdruckwerte und beim Follow-up ein signifikanter Blutdruckabfall zu verzeichnen.

Anzahl der Antihypertensiva:

Die Anzahl der Antihypertensiva war Baseline nicht signifikant unterschiedlich und nahm nur in der Subgruppe 2 nach Adx signifikant ( $p<0,005$ ) ab. Lim et al untersuchten

mit MR-Antagonisten behandelte PA Patienten und zeigten eine Abnahme der Antihypertensiva [109]. Unsere Daten konnten keine signifikante Minderung der Antihypertensivanzahl in den beiden Subgruppen bei den medikamentös behandelten Patienten bestätigen.

Nierenfunktion:

Die Reduzierung der GFR im Verlauf, wurde von Reincke et al [59] auf die Risikofaktoren untersucht. Prädiktoren für die Abnahme der GFR waren Alter, männliches Geschlecht, niedrigere Kaliumwerte und hohe Aldosteronkonzentrationen vor der Behandlung. Adrenalektomie reduzierte dort den systolischen Blutdruck, führte aber auch zu Zunahme des Kreatinins im Serum und Abnahme der GFR. Auch in unserer Untersuchung zeigte sich die beschriebene Veränderung des Kreatinins im Serum und der GFR, es zeigten sich jedoch keine Unterschiede in den mittleren Werten zwischen den beiden Subgruppen sowohl Baseline als auch beim Follow-up getrennt je nach Therapie.

Ein Rückgang der Proteinurie im 24 h Urin ist bei beiden Subgruppen nach Adx und bei Subgruppe 2 mit MR-Antagonisten-Therapie zu verzeichnen. Die positive Wirkung der medikamentösen [60, 107, 110, 111] und operativen [58, 107, 111, 112] Therapie auf die Albuminausscheidung zeigten bereits zahlreiche Studien. Die Arbeit von Wu et al [111] untersuchte die Nierenfunktion bei PA und EH Patienten. Sie verglich die GFR, Proteinurie und die Resistance Indices der Niere. Beim Vergleich der beiden PA-Therapieregime (operative und medikamentöse Therapie) fanden die Untersucher einen Abfall der GFR in den beiden Therapieregimen und eine signifikante regrediente Proteinausscheidung nur bei den adrenalektomierten Patienten ( $p < 0,001$ ). Eine schnellere Verbesserung der Proteinurie zeigte in unserer Arbeit die Subgruppe 2, die auch eine höhere Adx-Rate hatte. Keine Besserung zeigte dagegen die medikamentös behandelte Subgruppe 1. Dies wäre durch mehrere Faktoren zu erklären: zum einen durch die überwiegend medikamentöse Therapie in dieser Subgruppe, zum anderen durch die generell niedrigere Proteinausscheidung schon zum Zeitpunkt Baseline, aber auch durch den fehlenden systolischen Blutdruckabfall und damit einhergehend mögliche persistierende Nierenschädigung.

#### Hormonelle Parameter:

Zum Zeitpunkt Baseline waren die Aldosteronspiegel, bedingt durch die Subgruppeneinteilung, und die ARQ signifikant höher in der Subgruppe 2. Hier sahen wir auch häufiger eine unilaterale Erkrankung. Diese Tatsache wird durch die Untersuchung von Milliez et al [33] bestätigt. In der genannten Studie zeigten APA-Patienten signifikant höhere Aldosteronspiegel und ARQ als die Patienten mit bilateraler Hyperplasie (für beide Parameter  $p=0,001$ ). In unserer Studie konnten die mittleren Aldosteronspiegel durch die Adx in beiden Subgruppen gesenkt werden. Die Aldosteronspiegel nach der medikamentösen Therapie veränderten sich in der Subgruppe 1 nicht signifikant, in der Subgruppe 2 stiegen sie nach 1 Jahr der Therapie an; dieser Anstieg ist vermutlich durch die MR-Blockade bedingt. Catena [107] gab in seiner Studie an, dass höhere Reninwerte  $>2,5$  pg/ml vor der Therapie mit höheren Blutdruckwerten, höheren Kaliumwerten und stärkerer Albuminurie und niedrigerer Kreatininclearance assoziiert sind. Diese Faktoren wie höherer Blutdruck, stärkere Proteinurie, nicht signifikant niedrigere GFR sind in unserer Studie in der Subgruppe 2 zu finden. Allerdings waren die prä-KIT Reninwerte in beiden Subgruppen vergleichbar (4,56 ng/l vs. 4,45 ng/l) und unterschieden sich nicht signifikant.

#### Komorbiditäten:

In einer großen Untersuchung von 553 Patienten des Deutschen Conn-Registers bzgl. der kardio- und zerebrovaskulärer Komorbiditäten [38] ist eine dezente Korrelation zwischen Serum-Aldosteron und der Prävalenz von Komorbiditäten, und zwar unabhängig vom Serum-Kalium, aufgefallen. Nach der Aufteilung der Fälle in normokaliämie und hypokaliämie Fälle, sah man dort Unterschiede bei den Komorbiditätsereignissen ( $p<0,001$ ; OR=2,4; 95% KI 1,6-3,6). Trotz der unterschiedlichen mittleren Kaliumspiegel in unseren Subgruppen konnten wir keine Unterschiede zum Zeitpunkt Baseline und Follow-up zwischen unseren Subgruppen feststellen. Die Prävalenz der Schlafapnoe ist in unserer Untersuchung fast doppelt so hoch wie die der o.g. Analyse von Born-Frontsberg et al aber deutlich niedriger als die in der Arbeit von Prejbisz et al [69] mit 59%.

Die häufigste kardiale Komorbidität in unserer Untersuchung war die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) (Subgruppe 1 vs. 2: 31,6 vs. 34,1%), gefolgt von KHK (13,2 vs. 14,8%), Herzinsuffizienz (5,3 vs. 6,8%) und Vorhofflimmern (5,3 vs. 3,4%). Die Untersuchung von Born-Frontsberg zeigte in ihrer Aufteilung in Hypo- und Normokaliämie signifikante Unterschiede bzgl. der Herzinsuffizienz (5,5 vs. 2,1%) und der Angina pectoris (9 vs. 2,1%). Weiterhin sah man in dieser Komorbiditätsstudie einen signifikanten Unterschied in den kardiovaskulären Komorbiditäten zwischen der Subgruppe mit Aldosteronwerten <100 und der Subgruppe mit Werten zwischen 400 und 499 (<0,05) sowie der Subgruppe 500-599 (<0,01). Dies konnte in unserer Untersuchung nicht bestätigt werden. Allerdings ist anzumerken, dass bei der Vergleichsarbeit für die Subgruppenbildung nicht die Aldosteronwerte nach KIT sondern mittlere Aldosteronwerte benutzt wurden und somit möglicherweise eine andere Selektion als in unserer Arbeit vorgenommen wurde. Die LVH zeigte entgegen den Beobachtungen in einigen Studien in unserer Studie keinen Prävalenzzrückgang. Eine Untersuchung der metabolischen und echokardiographischen Veränderungen nach mittlerer Follow-up-Zeit von 2,8 Jahren (25 Adx Patienten vs. 36 medikamentös behandelte Patienten) [113] zeigte, dass die LVH bei den adrenaletomierten Patienten signifikant abnahm, unabhängig vom erreichten Blutdruckniveau. Die LVH bei medikamentös behandelten Patienten erfuhr nach 2,8 Jahren zumindest keine Progression. Diese wichtige Besserung des Outcomes konnten wir nicht festhalten, da vermutlich unsere kürzere Follow-Up-Zeit von  $1,15 \pm 0,29$  Jahren hier eine wichtige Rolle spielt.

Die Prävalenz für zerebrovaskuläre Stenose lag bei 2,6 vs. 0% und für Schlaganfall bei 2,6 vs. 3,4% (Subgruppe 1 vs. 2). Die Gesamtprävalenz für zerebrovaskuläre Komorbiditäten in der o.g. Komorbiditätsstudie war mit 12,8 % deutlich höher, ohne einen Unterschied zwischen der normo- und hypokaliämischen Subgruppe. Dort ist anzumerken, dass die Risikofaktoren wie das mittlere Alter  $61 \pm 13$  Jahre und die Dauer der Hypertonie 12,9 bzw. 11,5 Jahre (hypo- bzw. normokaliäm) betragen. Unsere Patienten waren zum Zeitpunkt der Diagnosestellung deutlich jünger (53,9 und 50,4 in Subgruppen 1 und 2), wobei die Hypertoniedauer (16,4 und 11,3 Jahre in Subgruppen 1 und 2) mit der o.g. Dauer vergleichbar ist.

Die zweithäufigste Komorbidität nach der LVH war die Hyperlipidämie (26 vs. 28% Subgruppe 1 vs. 2). Ähnliche Angaben machen Fallo et al [71], die das signifikant häufigere metabolische Syndrom (MS) bei PA Patienten feststellten (vs. EH Patienten) und die Häufigkeit der Hypertriglyceridämie bei PA mit 32,9% angaben. Bei der Analyse der einzelnen Komponenten des metabolischen Syndroms gab Fallo an, dass nur die Hyperglykämie signifikant häufiger bei PA als bei EH vorkam. Eine weitere Analyse des Deutschen Conn-Registers bzgl. der Diabetesprävalenz gibt einen noch höheren Anteil an Patienten mit Hyperlipidämie mit 39,6% an [39]. Eine Zunahme der Hyperlipidämie zeigte sich in der Subgruppe 1 beim Vergleich zwischen Baseline und Follow up, unabhängig von der Therapieart. Eine Studie von Somloova et al [114] untersuchte die Prävalenz des MS beim APA, IHA und EH. Dabei zeigten Patienten mit IHA höhere body mass Indices, höhere Triglyceridspiegel und niedrigere HDL-Spiegel sowie höhere Prävalenz des MS als die Patienten mit APA. Mögliche Erklärungen für diesen Unterschied zwischen den Subtypen könnten laut den Autoren die längere Hypertoniedauer, das höhere Alter und Diabetes mellitus sein. Es zeigte sich weder bei APA noch bei IHA eine Korrelation zwischen Lipidkonzentrationen und Aldosteronspiegeln im Plasma. Auch unsere Subgruppe 1 beinhaltete mehr Fälle mit bilateraler Erkrankung, allerdings sahen wir zu keinem Zeitpunkt signifikante Unterschiede im BMI; die Prävalenz der Hyperlipidämie war nicht signifikant unterschiedlich zwischen den Subgruppen. Die Zunahme der Hyperlipidämierate in der Subgruppe 1 könnte man mit höherem Alter und längerer Hypertoniedauer in dieser Subgruppe erklären aber auch mit einer evtl. erst späteren Diagnosestellung bei den Verlaufsuntersuchungen.

Die peripheren Gefäßerkrankungen wie TVT und pAVK waren mit Prävalenzen von 2,6 vs. 1,1% (Subgruppe 1 vs. 2) und mit 0 vs. 1,1% vertreten. Ähnliche Häufigkeiten gab die Komorbiditätsstudie von Born-Frontsberg an: für TVT 1,8% und für pAVK 1,27%.

Die Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz bei Baseline lag in unserer Patientenpopulation bei 18,4 vs. 14,8% (Subgruppe 1 vs. 2). Eine weitere Beobachtung der Studie von Born-Frontsberg war, dass die Diagnose Niereninsuffizienz (Prävalenz gesamt 10,6%) signifikant positiv mit der steigenden Aldosteronkonzentration korrelierte. Diese Korrelation konnte sich bei unserer Aufteilung in Aldosteronwerte

post-KIT 50 -100 ng/l und >100 ng/l zum Zeitpunkt Baseline nicht signifikant abgebildet werden.

Wir fanden bei den adrenaletomierten Patienten der Subgruppe 2, die zum Zeitpunkt Baseline signifikant höhere Aldosteronwerte hatte, eine signifikante Zunahme der chronischen Nierenerkrankung (p-Wert=0,004) im Vergleich Baseline vs. Follow-up. Es ist anzumerken, dass in beiden Subgruppen und bei beiden Therapieregimen die GFR signifikant zurückgegangen ist, dabei die Häufigkeit der Diagnose Niereninsuffizienz nur bei der Gruppe 2 bei adrenaletomierten Patienten signifikant zunahm. Eine bereits bekannte Erklärung für den Abfall der GFR ist die angenommene Hyperfiltration der Niere beim nicht behandelten PA [58]. Diese verstärkte Durchblutung der Niere verschleiert die tatsächliche Nierenfunktion und die GFR, die durch die Therapie dann demaskiert wird [58]. Diese Hypothese könnte die höhere Prävalenz chronischer Niereninsuffizienz bei adrenaletomierten Patienten der Subgruppe 2 erklären.

Die chronische Niereninsuffizienz wird anhand der reduzierten GFR und ggf. beim Vorliegen einer Proteinurie diagnostiziert. Per Definition von KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) spricht man auch bei noch höheren GFR-Werten aber bei einer gleichzeitig vorhandenen Proteinurie von chronischer Nierenerkrankung. Die signifikant höhere Prävalenz der Diagnose „chronische Nierenerkrankung“ in der Subgruppe 2 wäre auf die stärkere Proteinausscheidung zurückzuführen.

Auch eine Zunahme des Vitamin D-Mangels und des Hyperparathyreoidismus ist bei der Subgruppe 2 (wenn beide Therapiearten addiert) im Verlauf zu verzeichnen (p-Wert <0,005 und 0,039). Die schlechtere Nierenfunktion im Verlauf könnte eine Erklärung für den Anstieg beider Komorbiditäten sein. Eine weitere mögliche Begründung für die Zunahme der Diagnosen könnte sein, dass die Bestimmung von 25-OH-Vitamin D 3 und von Parathormon im Verlauf häufiger geschehen ist und die Diagnosen häufiger im Verlauf als zum Zeitpunkt Baseline gestellt wurden. Zudem unterliegt der Vitamin D-Spiegel einer Jahreszeit-abhängigen Schwankung, welche den genannten Unterschied zusätzlich beeinflussen könnte.



#### **4.1.2. Kochsalzinfusionstest und weitere Diagnostik**

Es gibt noch keinen Goldstandard für die Bestätigung der Diagnose PA. In der Vergangenheit wurden Untersuchungen durchgeführt, bei denen die einzelnen Bestätigungstests gegeneinander verglichen wurden und nicht gegen eine sicher gestellte Diagnose. Mulatero et al [97] zeigte eine Testgenauigkeit von KIT bei 88%/84% (Sensitivität/ Spezifität) bei einem Cut-off von 50 ng/l. Holland et al [84] sprechen sich beim KIT auch für einen Cut-off von 50 ng/l aus, um auch den „nicht tumorösen PA“ zu erfassen. Willenberg et al [98] schlossen nur APA Patienten in ihre Studie ein, bei denen der Subtyp mit NNVK u/o bildgebenden Verfahren erfolgte. Sie geben an, bei einem Cut-off von 50ng/l evtl. falsch-negative Ergebnisse zu erhalten. Denn KIT führe zu einer stärkeren Suppression und erreiche seine beste Testgenauigkeit (Sensitivität 82,5%, Spezifität 91,8%) erst beim Cut-off von 31,5 ng/l. Rossi et al [87] geben einen optimalen Cut-off post-KIT bei 67,5 ng/l an (120 PA Patienten, davon 46 APA), um einen APA zu identifizieren. Schirpenbach et al [99] gaben einen optimalen Cut-off für KIT auch mit 51 ng/l an. Sie schlagen vor, diesen nur bei der hypokaliämischen Form anzuwenden, da die Sensitivität des KIT bei Normokaliämie von 91% auf 57% sinken würde. In Deutschland ist der KIT am meisten gebräuchlich in der diagnostischen Kaskade.

In unserer Untersuchung erhielten fast alle Patienten einen NNVK, um den Subtyp zu bestimmen. Die hohe Rate an NNVK und dessen Erfolgsrate bestätigt den tatsächlich vorliegenden hormonellen Exzess und bestimmt definitiv den tatsächlichen Subtyp des PA. Auch die Endocrine Guidelines aus dem Jahr 2008 empfehlen den NNVK zur Subtypdifferenzierung durch einen erfahrenen Radiologen [79]. Wie das Review von Kempers [102] et al zeigte, sollte man nur bei nicht erfolgreichen NNVK die bildgebenden Verfahren einsetzen. Die Autoren geben eine Rate von Falschdiagnosen von 37,8% an, wenn man sich nur auf die bildgebenden Verfahren verlassen würde. Kempers setzte den NNVK als Standardtest ein und verglich diesen mit der Subdifferenzierung durch bildgebende Verfahren wie MRT oder CT. Somit wurde in unserer Studie die bestmögliche Subtypdiagnostik, die momentan zur Verfügung steht, durchgeführt.

Unsere Prävalenzen für unilaterale und bilaterale Erkrankung liegen bei 67,5% und 32,5%. Die in der großen PAPY-Studie ermittelte Prävalenz der beiden Subtypen (62,5% bzw. 37,5%) [2] ist unserer sehr ähnlich. Rossi et al unterstreichen, dass diese Prävalenz vorliegt, wenn zur Diagnostik der NNVK eingesetzt wird. Wenn die Subtypisierung nicht mittels NNVK erfolgt, fällt die Prävalenz des APA und die des IHA steigt.

#### **4.1.3. Subtypisierung und Schwere der Erkrankung**

Zum ersten Mal zeigten wir, dass PA Patienten mit Aldosteronwerten post KIT >100 ng/l eine kürzere Hypertoniedauer haben, höhere systolische Blutdruckwerte haben, niedrigere Kaliumspiegel und höhere Proteinausscheidung im 24 h Urin zum Zeitpunkt der Diagnosestellung haben. Diese Parameter zeigen eine schwerere Form des PA. Auch enthält diese Gruppe mehr APA (77% vs. 42%) und es war ein schwächerer Aldosteronabfall als in der Gruppe mit Aldosteron 50-100 ng/l post-KIT zu verzeichnen. Dies stimmt mit der Untersuchung von Mulatero et al [97] überein, bei der gezeigt wurde, dass Patienten mit APA meist Aldosteronwerte > 7,5 ng/dl post-KIT und einen weniger starken Aldosteronabfall zeigen als die Patienten mit bilateraler Hyperplasie. Folglich kann man annehmen, dass der schwächere Aldosteronabfall post-KIT in der Subgruppe 2 auf die höhere Prävalenz von APA zurückzuführen ist.

Auf der anderen Seite sahen wir auch in der Gruppe 1 in 42% der Fälle eine unilaterale Erkrankung. Diese Tatsache bestätigt die Annahme von Holland et al [84] nicht, dass beim Vorliegen von APA der Aldosteronspiegel während des KITs selten < 100 ng/l fällt. Die Anzahl an APA-Patienten war in der Studie von Holland et al mit 5 niedrig. Aufgrund der höheren APA-Rate in der Subgruppe 2 ist es nicht überraschend, dass die untersuchten Nebennierenresektaten häufiger eine Mutation in der Gruppe 2 als in der Gruppe 1 aufwiesen. Kürzlich publizierte Studie [25] zeigte, dass die Patienten mit KCNJ5 Mutation bei PA häufiger weiblich waren, häufiger jünger und eine höhere minimale Kaliumkonzentration aufwiesen. Diese Ergebnisse entsprechen auch unserer Beobachtung. Die Patienten in der Gruppe 2 waren häufiger weiblich, hatten mehr KCNJ5 Mutationen, aber auch niedrigere Kaliumwerte Baseline. Bei der Analyse des Kaliums von KCNJ5-mutierten Fällen (n=18) vs. Wildtyp (n=23) zeigte sich kein Unterschied (3,2 vs. 3,2 mmol/l). Auch die Studie von Akerström et al [24] zeigte, dass

KCNJ5-Mutation in APA unter den weiblichen Patienten im Vergleich zu männlichen überrepräsentiert war. Männer mit KCNJ5 Mutationen waren signifikant jünger als die ohne Mutation.

#### **4.1.4. Outcome**

Die vorliegende Studie zeigte zum ersten Mal, dass Subgruppe 2 mit post-KIT Aldosteronwerten >100 ng/l nach Adx trotz der schwereren Form ein besseres Ansprechen auf die Therapie zeigte. Nach einem Jahr der Therapie hatte diese Gruppe eine niedrigere Anzahl an Antihypertensiva, schnellere Abnahme der Proteinausscheidung im 24 h Urin und insgesamt ein besseres Outcome. Wenn man alle Patienten in den Outcomegruppen, die mit einer Besserung einhergehen, addiert, dann erreichten bei den adrenaletomierten Patienten 77,3% der Gruppe 2 vs. 50% der Gruppe 1 eine signifikante Verbesserung des Outcomes. Bei der mit MR-Antagonisten behandelten Gruppe führte die Therapie in 81,1% der Fälle (Gruppe 2) vs. 70,8 % (Gruppe 1) zum besseren Outcome ohne einen signifikanten Unterschied.

Die gesamte Heilungsrate bei den adrenaletomierten Patienten lag bei nur 27,5%. In den Subgruppen 2 und 1 haben 31,8% und 7,1% der Patienten die Heilung erreicht. Den kontrollierten Status, d.h. Normokaliämie, Blutdruckwerte <140/90 mmHg, Therapie mit MR-Antagonisten aber ohne Antihypertensiva, erreichten nur 13,6% und 4,2% (Subgruppe 2 und 1). Der signifikant höhere Anteil an unilateraler Erkrankung in der Subgruppe mit post-KIT Aldosteron >100 ng/l könnte ursächlich für das bessere Outcome sein. Diese Vermutung unterstützt eine kürzlich durchgeführte Studie [115], die das Vorliegen eines APA als eines der Hauptdeterminanten für ein erfolgreiches Outcome konstatiert.

In unserer Studie zeigte sich bei den mit MR-Antagonisten behandelten Patienten eine sehr niedrige Heilungsrate von 8,7%. Eine etwas höhere aber dennoch niedrige Heilungsrate von 14% zeigte sich in der prospektiven Studie mit 28 Patienten, deren Ziel war, die Blutdruckveränderung 1 Jahr nach Spironolacton-Therapie zu messen [109]. Hier wurden Patienten mit hohem ARQ, positiven Bestätigungstest und bildgebenden Verfahren ohne pathologischen Befund eingeschlossen. Spironolacton hat zwar in dieser Studie den Bedarf an Antihypertensiva und den Blutdruck signifikant

gesenkt, aber nur 4 Patienten (14%) waren bei Nachbeobachtung normoton und nahmen keine weiteren Antihypertensiva ein. Eine weitere Untersuchung des Effektes von MR-Antagonistentherapie bei APA zeigte, dass zwar 14 (58%) von 24 Patienten beim Follow-up normoton waren, aber 20 (83%) von 24 Patienten noch antihypertensive Therapie erhalten mussten [116]. Dieses Ergebnis impliziert, dass trotz der MR-Antagonisten die APA eine niedrige Heilungsrate bei ausschließlicher medikamentöser Therapie haben. Der Anteil an APA-Patienten in unserer medikamentös behandelten Gruppe betrug 10,9%. Ein evtl. schlechteres Ansprechen von APA auf MR-Antagonisten könnte das schlechtere Outcome bei allen medikamentös behandelten Patienten mit erklären. Eine zusätzliche mögliche Erklärung für die geringere Verbesserung bei den medikamentös behandelten Patienten im Vergleich zur Adx schlagen Fourkiotis et al in der Analyse des Einflusses der MR-Antagonisten auf die GFR [60] vor: zu niedrige tägliche MR-Antagonisten-Dosis. Die Dosis in der genannten Analyse betrug  $55 \pm 7,3$  mg/täglich. In unserer Analyse erhielten die Patienten sogar eine niedrigere mittlere Spironolacton-Dosis: die Subgruppe 1 nahm eine Tagesdosis von  $43,1 \pm 18,8$  mg und die Subgruppe 2 eine Dosis von  $49,4 \pm 22,4$  mg ein. Eine ausreichende MR-Blockierung wird wahrscheinlich bei Spironolacton-Dosierung von 75 mg am Tag erreicht.

#### **4.1.5. Vergleich der Heilungsrate mit anderen Studien**

Unsere Heilungsrate bei Adx Patienten von 27,5% ist ähnlich der einer kleinen Studie (Heilungsrate: 33%) mit 24 PA Patienten nach Adx [117]. Mögliche Gründe für unsere niedrige Heilungsrate trotz der Adrenalektomie könnte die langandauernde therapieresistente Hypertonie sein [106, 115, 118, 119].

Ein besseres Outcome zeigen die Studie von Wang et al [115], welche allerdings nur einen Outcome Parameter festlegt, und die Studie von Celen et al [120], die das Outcome „geheilt“ weniger strikt, d.h. Blutdruckwerte  $< 160/95$  mmHg, definiert.

Steichen et al [121] fassen in ihrem Review 18 Studien (Patientenmindestanzahl pro Studie 50) zusammen, die das Outcome und mögliche Prädiktoren nach Adx untersuchen. Die Outcome-Definitionen sind sehr heterogen. Die „pooled“ Heilungsrate gibt Steichen mit 42% an. Das Review zeigte, dass in allen Studien ein Blutdruckabfall

und/oder eine geringere Anzahl an Antihypertensiva zu verzeichnen war. Aber fast keine Studie hat eine kombinierte Outcome-Analyse von Blutdrucknormalisierung und Absetzen der Antihypertensiva durchgeführt.

Eine italienische Studie [118] zeigte ein besseres Outcome als unsere Studie: 29.5% der Patienten mit Status „geheilt“ (Normotonie), 53% mit Status „deutlich verbessert“ (Normotonie mit derselben oder reduzierten Medikamentenanzahl) und 18.2% zeigten eine nur leichte Verbesserung (systolische und/oder diastolische Blutdruckbesserung >10% ohne Erreichen der Normotonie mit derselben oder reduzierten Antihypertensivanzahl). Die mediane Hypertoniedauer wird hier mit 50 Monaten angegeben. Außerdem identifizierte die Studie Prädiktoren für ein besseres Outcome: die Media/Lumen-Resistance als Marker des arteriellen Remodelling im periadrenalen oder subkutanen Fettgewebe und die bekannte Hypertoniedauer. Nicht nur die strengere Outcome-Definition sondern auch die längere Hypertoniedauer in unserer Untersuchung könnte ein schlechteres Outcome als das in der italienischen Studie erklären.

#### **4.1.6. mögliche Einflussfaktoren auf das Outcome**

Das Review von Steichen et al [121] fasst die Faktoren zusammen, die das Outcome beeinflussen könnten. Signifikante Faktoren, die weniger wahrscheinlich eine Heilung voraussagen, waren: männliches Geschlecht, ältere Patienten, positive Familienanamnese, längere Hypertoniedauer, höhere präoperative Blutdruckwerte, höhere Antihypertensivananzahl, höheres BMI, höhere Kaliumspiegel, niedrigere GFR, höhere ARQ im 24 h Urin, und die Evidenz von Arteriosklerose. Wir konnten bestätigen, dass Geschlecht, Alter, Dauer der Hypertonie das Outcome der Adx beeinflussen können, allerdings hatte unsere Patientenkohorte (Subgruppe2) mit dem besseren Outcome auch höhere Blutdruckwerte in der präoperativen Phase. Wir nehmen an, dass post-KIT Aldosteronwert zwischen 50 und 100 ng/l ein zusätzlicher Faktor für schlechteres Outcome sein könnte.

Sawka et al [119] gaben als positiven Faktor für ein besseres Outcome nach Adx, zusätzlich zur positiven Familienanamnese mit  $\leq 1$  Verwandten 1. Grades und präoperativen Anzahl an Antihypertensiva  $\leq 2$ , auch höhere präoperative Aldosteron-

PRA-Quotienten. Diese Beobachtung stimmt auch mit höheren ARQ in der Subgruppe 2 (post-KIT Aldosteron >100 ng/l ) in unserer Studie überein.

Das einzige Vorhersagemodell für komplette Heilung der Hypertonie bei APA nach Adrenalektomie wurde von Zarnegar et al aufgestellt [106]. Das „aldosteronoma resolution score“ (ARS) besteht aus 4 Prädiktoren wie Anzahl der Antihypertensiva, BMI, Hypertoniedauer und Geschlecht. Folgende Ausprägungen liefern das beste Model für komplette Heilung der Hypertonie nach der Adrenalektomie: Anzahl der Antihypertensiva  $\leq 2$ , BMI  $\leq 25$  kg/m<sup>2</sup>, Hypertoniedauer  $\leq 6$  Jahre und weibliches Geschlecht. Es wurden 3 Wahrscheinlichkeitsstufen für komplette Heilung identifiziert: niedrig (0-1), mittel (2-3) und hoch (4-5) mit einer Vorhersagegenauigkeit von 27%, 46% bzw. 75%, wobei die Anzahl der Antihypertensiva mit 2 Punkten bewertet wurde. Der ARS wurde mithilfe der Patientenakten von 100 Patienten nach Adx retrospektiv erstellt und an einer 2. Validierungsgruppe von 67 PA Patienten nach Adx an einer anderen Klinik evaluiert. In dieser Studie hat eine große Patientenanzahl weiterhin Antihypertensiva benötigt. Eine Heilung wurde in 35% bzw. 43% (Ursprungsgruppe vs. Validierungsgruppe) erreicht.

Beim ARS, berechnet bei unseren adrenaletomierten Patienten, erreichten 30% die hohe, 53% die mittlere und 17% die niedrige Heilungswahrscheinlichkeit. Das Ergebnis impliziert, dass man präoperativ bei 30% aller 66 adrenaletomierten Patienten eine hohe Heilungswahrscheinlichkeit hätte vorhersagen können (mit einer Vorhersagegenauigkeit von 75% laut den Autoren). Diese Zahl entspricht in etwa unserer tatsächlichen Heilungsrate nach Adx von 27,5%, ähnlich der angegebenen Heilungsrate von 35% in der Ursprungsgruppe in der Originalarbeit.

Nach der Analyse in den beiden Subgruppen zeigte sich bei der Subgruppe 2 ein Übereinstimmen zwischen dem ARS bzw. seiner Heilungswahrscheinlichkeit und dem tatsächlichen Outcome. In der Subgruppe 1 zeigte sich keine Übereinstimmung. Mögliches Bias dafür ist die kleine Patientenanzahl von 12 in der Subgruppe 1 mit einem vorhandenen ARS.

Unsere Ergebnisse bestätigen, dass Frauen ein besseres Outcome haben. Die zugrunde liegenden Ursachen für resistente Hypertonie nach PA Therapie bleiben nicht eindeutig und die Diskussion darüber kontrovers.

#### **4.2. Veränderung der Parameter während des Kochsalzinfusionstestes**

Rossi et al [83] untersuchten die Parameter Aldosteron, ARQ und AKQ während des KIT. Sie sahen keine Verbesserung der area under the curve (AUC) unter der ROC (receiver of operating characteristic)-Kurve, d.h. der Testgenauigkeit, wenn man ARQ oder AKQ bei Bestätigungstest benutzte. Sie schlussfolgern, dass die Bestimmung von Renin und Kortisol die Testgenauigkeit nicht verbessert. Weitere Beobachtung war, dass der KIT eher dem Ausschluss von PA als der Bestätigung dient, da der negativ prädikative Wert bei 82,4% und der positiv prädikative Wert bei 65,2% in dieser Analyse lag, bei einer Prävalenz von 37,9%. Auch wenn der ARQ und somit auch der Reninwert und der AKQ die Testgenauigkeit nicht verbessern, könnten diese Parameter doch auf den Subtyp und das Outcome hinweisen.

##### **4.2.1. Kochsalzinfusionstest und der Subtyp**

Bei unilateralen Fällen waren die ARQ prä- und post-KIT signifikant höher als bei bilateralen Fällen (Tabelle 13). Diese Ergebnisse stützen frühere Beobachtungen von Mulatero [97] und Holland [84]. Mulatero fand 2006, dass die meisten APA Patienten mit dem Aldosteronwerten  $> 7,5$  ng/dl lagen und Holland berichtete 1984, dass es beim APA selten zur Aldosteronsuppression post-KIT  $< 10$  ng/dl kam. Daher lässt es sich vermuten, dass höhere Aldosteron- bzw. ARQ-Werte post-KIT eher für ein APA als für bilaterale Mehrsekretion sprechen. Diese Vermutung steht konträr zur Untersuchung von Willenberg et al [98], die den KIT mit dem FST bei APA-Patienten verglich und eine stärkere Suppression des Aldosterons post-KIT sowie eine höhere Rate an falsch-negativen Ergebnissen konstatierte. Diese Arbeitsgruppe schlägt daher einen niedrigeren Cut-off Wert für KIT von 31,5ng/l, dabei würde die optimale Sensitivität und Spezifität von 82,5%/91,8% erreicht. Auch Gordon stellt fest, dass KIT mit falsch negativen Resultaten assoziiert war [90].

Giachetti et al [82] untersuchten auch Kortisolspiegel während des KIT und geben für APA Konzentrationen von 15 und 5,8  $\mu$ g/dl (prä- und post-KIT) und für bilaterale

Erkrankung Kortisolspiegel von 17,0 und 7,1 µg/dl an. Zudem untersuchte die Arbeitsgruppe die Fähigkeit des AKQ post-KIT, den Subtyp vorherzusagen und halten fest, dass AKQ >3 (ng/dl / µg/dl) zwischen den Diagnosen APA und IHA (p-Wert=0,001) und zwischen APA und EH (p-Wert=0,001) differenzieren kann. Auch unsere Untersuchung zeigte niedrigere Werte für Kortisol prä- und post-KIT bei unilateraler Erkrankung, allerdings ohne signifikanten Unterschied zur bilateralen Erkrankung. Zusätzlich deuten unsere Ergebnisse auf höhere AKQ bei unilateraler Erkrankung hin, auch wenn ohne statistisch signifikanten Unterschied (für AKQ post-KIT p-Wert =0,08). Die Fähigkeit des AKQ post-KIT >30 (ng/l / µg/dl) zwischen den Subtypen zu unterscheiden, konnten wir in unserer Kohorte von 47 Patienten nicht bestätigen. Vermutlich ist eine größere Kohorte notwendig, um deutlichere Aussagen bzgl. AKQ prä- und post-KIT zu machen.

#### **4.2.2. Kochsalzinfusionstest und das Outcome**

Der ARQ prä- und post-KIT nimmt kontinuierlich in Richtung schlechteres Outcome ab. Diese Beobachtung stützt die Vermutungen von einer weiteren Outcome-Studie, dass höhere präoperative Aldosteron/PRA-Quotienten mit Hypertonieheilung assoziiert sind [119]. Allerdings untersuchte die genannte Studie nur adrenaletomierte Patienten. Gegensätzlich zum ARQ verhalten sich in unserer Untersuchung die Reninspiegel prä-KIT: diese nehmen in Richtung „keine Besserung“ signifikant zu. Die Studie von Catena [107] untersuchte die Beziehung zwischen Renin- und Aldosteronspiegeln und dem Outcome nach Therapie. Höhere Reninspiegel (>2,5 ng/l) waren mit höheren Blutdruckwerten, höheren Kaliumspiegeln, stärkerer Albuminurie und niedrigerer Kreatininclearance zum Zeitpunkt Baseline assoziiert. Außerdem waren dort bei Patienten mit höheren Baseline Reninspiegeln mehr Antihypertensiva erforderlich, und die Albuminurie zeigte einen schwächeren Abfall beim Follow-up. Fazit dieser Studie war, dass das „Entkommen“ des Renins vor einer Suppression mit einer stärkeren Nierenfunktionsstörung assoziiert sei und das Outcome verschlechtere. Es gab keine Unterschiede zwischen den Therapiearten. Die Autoren erklären die fehlende Reninsuppression mit einer intrarenalen Gefäßschädigung, welche als Hypertoniekomplikation auftritt und möglicherweise die typischen hormonellen



Charakteristika von PA verbergen kann. Dies sollte bei der Diagnostik stets bedacht werden, da es auch PA-Fälle ohne die meist beobachtete Reninsuppression gibt [122].

Bei unserer detaillierteren Analyse (Tabelle 16) haben wir das Outcome der Patienten in 2 Gruppen „jegliche Besserung“ und „keine Besserung“ aufgeteilt und getrennt nach Therapieart untersucht. Wir fanden einen signifikanten Unterschied zwischen „jegliche Besserung“ und „keine Besserung“ bzgl. Renin prä-KIT und ARQ prä- und post-KIT nur bei adrenaletomierten Patienten (Tabelle 15 A). Die Reninwerte waren in der Gruppe „keine Besserung“ signifikant höher, was die Hypothese von Catena bestätigt. Die höheren ARQ prä- und post-KIT beim besseren Outcome unterstützen die Annahme, dass höherer ARQ ein positiver Prädiktor für besseres Outcome sein könnte [119]. Die medikamentös behandelten Patienten zeigten keine Unterschiede in den KIT-Parametern in den o.g. Outcomegruppen.

#### **4.3. Klinische Implikation**

Höhere Aldosteronspiegel >100 ng/l post-KIT und höhere ARQ prä- und post-KIT, niedrigere Reninwerte, weibliches Geschlecht, jüngeres Alter, kürzere Dauer der Hypertonie und Vorhandensein von Adenom erhöhen vermutlich die Wahrscheinlichkeit für ein besseres Outcome. Desweiteren schlagen wir vor, die Aldosteronwerte post-KIT zwischen 50-100 ng/l als Prädiktor für ein schlechteres Outcome zu nehmen. Diese Beziehung muss in weiteren Untersuchungen analysiert und validiert werden. Auch sollte die Reproduzierbarkeit der genannten Unterschiede zwischen den beiden Subgruppen in weiteren Untersuchungen gezeigt werden.

#### **4.4. Limitationen der Studie**

Die Datenerhebung wird kontinuierlich bzgl. Diagnostik, Dokumentation, Erfassung von Komorbiditäten, kardiologischer Diagnostik an den angeschlossenen Zentren verbessert und regelmäßig evaluiert. Aufgrund des multizentrischen Designs des Deutschen Conn-Registers können trotz der kontinuierlichen Verbesserung Unterschiede zwischen den Zentren nicht ausgeschlossen werden.

Wegen der Analytik vor Ort und somit unterschiedlicher Assay könnten auch Unterschiede in Konzentrationen von Aldosteron und Renin auftreten. In einer retrospektiven Analyse des Deutschen Conn-Registers (PA Diagnostik zwischen 1990 und 2006) wurden signifikante Unterschiede zwischen den mittleren Konzentrationen von Aldosteron, Renin und die PRA bei den unterschiedlichen Assays deutlich [123].

Aufgrund der teilweise kontroversen Ergebnisse bzgl. der Testvalidität von KIT und des fehlenden Goldstandards für einen Bestätigungstest für PA kann sich der Untersucher auf die KIT-Ergebnisse nur teilweise verlassen. Demgegenüber steht in unserer Studie die Tatsache, dass fast alle Patienten einen NNVK zur endgültigen Diagnose erhielten. Diese Untersuchung ist bis heute der Goldstandard in der Subtypisierung und diente in dieser Studie als Referenz bzgl. der endgültigen Diagnose.

Auch wenn es Vermutungen bzgl. der Subtypisierung mithilfe des Aldosteronspiegels, ARQ, AKQ und teilweise deren Veränderung während des KIT gibt, werden in unserer Studie Überlappungen der KIT-Parameter bei den beiden Subtypen beobachtet. Somit bleibt vorerst der NNVK als das sicherste Diagnostikinstrument für die endgültige Diagnose.

Desweiteren könnte die hypokaliämische und normokaliämische Form ihren Einfluss auf das KIT-Ergebnis bzw. seine Validität nehmen [99]. Allerdings gehörten 84% unserer Studienpopulation zur hypokaliämischen Form, so dass die Testvalidität des KIT relativ hoch gewesen sein sollte.

Der Einfluss von Kortisolbestimmung, AKQ und dessen Veränderung auf die Subtypbestimmung und ggf. ihre Vorhersagekraft bzgl. des Outcome muss in größeren prospektiven Studien noch untersucht werden.

Bei unseren Outcome-Definitionen waren drei Parameter eingeschlossen: Kaliumspiegel, Blutdruckveränderung und Anzahl der Antihypertensiva. Bei der Analyse der Antihypertensiva ist aufgefallen, dass zum Zeitpunkt Baseline auffallend oft Calcium-Antagonisten und Alpha-Blocker dokumentiert wurden. Möglicherweise war dies bereits die antihypertensive Medikation nach Umstellung vor dem Screening bzw. Bestätigungstest. Vorausgesetzt der Fall, würde es bedeuten, dass die dokumentierte Medikamentenanzahl nicht die tatsächliche Mehrfachtherapie abbildet. Denn die

resistente Hypertonie, definiert als Hypertonie trotz  $\geq 3$  Antihypertensiva, ist ein Screeningkriterium für PA, die oft bei noch nicht diagnostizierten PA Patienten vorliegt. Vermutlich war die tatsächliche Anzahl an Antihypertensiva bei den Patienten vor dem Screening noch höher als im Register festgehalten. Wenn diese Annahme stimmt und dieses Bias aufgetreten ist, dann wäre die tatsächliche Abnahme der Antihypertensiva noch deutlicher gewesen und die Zusammensetzung der einzelnen Outcomegruppen hätte sich vermutlich mehr in Richtung „Besserung“ verändert.

## V. Zusammenfassung

**Einleitung und Fragestellung:** Der Kochsalzbelastungstest ist der am häufigsten eingesetzte Bestätigungstest an den Zentren, die an das Deutsche Conn-Register angeschlossen sind. Die KIT-Ergebnisse werden in diesen Zentren wie folgt beurteilt: post- KIT Aldosteronwerte >50 ng/l bestätigen den PA und Werte <50 ng/l schließen diese Diagnose aus.

In der Vergangenheit wurde für den Ausschluss ein Cut-off Wert von 50 ng/l verwendet und für die Diagnosebestätigung ein Wert von 100ng/l. Der Wertebereich zwischen 50 und 100 ng/l blieb ungewiss. Es gibt keine Outcomedaten von PA Patienten, die sich auf die unterschiedlichen Cut-off-Werte post-KIT beziehen.

Unsere Arbeitshypothese ist, dass es aufgrund der unterschiedlich starken, fehlenden Suppression während des KIT einen Unterschied zwischen der Subgruppe mit Aldosteronspiegeln zwischen 50 und 100 ng/l und der Subgruppe mit Aldosteronspiegeln >100 ng/l gibt.

Es wurden die Parameter zum Subtyp, die klinischen und biochemischen Parameter, die Therapieregime, das Outcome bzgl. Blutdrucksenkung, Anzahl an Antihypertensiva und Kaliumspiegel und die Komorbiditäten in den beiden Subgruppen untersucht. Ferner wurden die KIT-Parameter und deren Veränderung in Bezug auf Subtyp und das Outcome untersucht, um herauszufinden, welche diagnostischen und prognostischen Möglichkeiten sich aus den KIT-Ergebnissen außer der Diagnosebestätigung ergeben.

**Methodik:** 256 prospektive PA Patienten erhielten den KIT und wurden 6 und 12 Monate nach Therapiebeginn wieder evaluiert. Daten von 126 Patienten mit kompletierter Follow-up-Untersuchung (1,2 ± 0,3 Jahre nach Therapiebeginn) wurden analysiert. Die Patienten wurden gemäß der KIT-Ergebnisse in 2 Subgruppen aufgeteilt: Subgruppe 1 mit Aldosteronspiegeln zwischen 50 und 100 ng/l post-KIT (n=38) und Subgruppe 2 mit Aldosteronwerten >100 ng/l post-KIT (n=88). Bei 46 von 80 adrenaletomierten Patienten lagen Ergebnisse der genetischen Testung auf Mutationen vor.

**Ergebnisse:** Die Subgruppe 2 mit post-KIT Aldosteronwerten  $>100$  ng/l hatte im Vergleich mit der Subgruppe 1 eine signifikant kürzere Hypertoniedauer, höhere systolische Blutdruckwerte, niedrigeres Serum-Kalium, stärkere Proteinausscheidung im 24h Urin und wies mehr Frauen auf. Auch war diese Subgruppe öfter von einer unilateralen Erkrankung mit größeren Tumoren betroffen und hatte eine höhere Adrenalektomierate. Ferner benötigten die Patienten der Subgruppe 2 weniger Antihypertensiva nach Adrenalektomie und hatten eine schnellere Besserung der Proteinurie in beiden Therapieregimen bei der Follow-up Untersuchung. Zusätzlich wurde hier signifikant häufiger eine somatische Mutation gefunden als in der Subgruppe 1.

Zum Zeitpunkt Baseline und Follow-up gab es keine Unterschiede zwischen den 2 Subgruppen in den Komorbiditäten. Im Vergleich zwischen Baseline und Follow-up zeigte sich bei den adrenaletomierten Patienten eine Zunahme der Komorbiditäten wie chronische Nierenerkrankung, Hyperparathyreoidismus und Vitamin-D-Mangel.

Die Aldosteronspiegel prä- und post-KIT waren in der Subgruppe 2 signifikant höher und der Aldosteronabfall signifikant schwächer. Auch hatte diese Subgruppe signifikant höhere ARQ und AKQ prä- und post-KIT. Beim AKQ konnte kein signifikanter Cut-off zur Subdifferenzierung ermittelt werden. Die Patienten mit einer unilateralen Erkrankung zeigten signifikant höhere ARQ prä- und post-KIT. Die ARQ prä- bzw. post-KIT nahmen in den Outcome-Stufen von „geheilt“ in Richtung „keine Besserung“ kontinuierlich ab ( $p=0,048$  bzw.  $0,041$ ). Entgegengesetzt verhielten sich die Reninspiegel prä-KIT, die in Richtung „keine Besserung“ signifikant anstiegen ( $p=0,007$ ).

**Diskussion:** Wir zeigten, dass Patienten mit post-KIT Aldosteron Werten  $>100$  ng/l eine schnellere und progressivere Form von PA zu haben scheinen, häufiger verursacht durch unilaterale Erkrankung mit größeren Tumoren. Trotzdem scheinen diese Patienten ein besseres Outcome bzgl. Blutdruck, Anzahl an Antihypertensiva und Kaliumspiegel zu haben: Verbesserung nach Adx in 77% vs. 50% der Patienten ( $p=0,038$ ) und Verbesserung nach medikamentöser Therapie in 82% vs. 71% der Patienten ( $p$ -Wert nicht signifikant) verglichen mit der Subgruppe 1 mit Aldosteronwerten 50-100 ng/l.

Wichtige Unterschiede in den KIT-Parametern waren höhere Aldosteronwerte, höhere ARQ und AKQ sowie ein eher schwacher Aldosteronabfall in der Subgruppe 2. Dies könnte durch den vorwiegend unilateralen Subtyp in dieser Gruppe bedingt sein.

Außerdem machen die Daten deutlich, dass beide Therapieregime eine nur niedrige Heilungsrate mit sich bringen. Mehrere Prädiktoren für das Outcome wurden in der Vergangenheit untersucht. Wir schlagen die post-KIT Aldosteronspiegel als Prädiktor für die Heilungschance von PA vor.

## VI. Literaturverzeichnis

1. Spinas, G.A. and S. Fischli, *Endokrinologie und Stoffwechsel kompakt ; 61 Tabellen.* 2., vollst. überarb. und erw. Aufl. ed. 2011, Stuttgart [u.a.]: Thieme. IX, 193 S.
2. Rossi, G.P., et al., *A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients.* J Am Coll Cardiol, 2006. **48**(11): p. 2293-300.
3. Lifton, R.P., et al., *Hereditary hypertension caused by chimaeric gene duplications and ectopic expression of aldosterone synthase.* Nat Genet, 1992. **2**(1): p. 66-74.
4. Mulatero, P., F. Morello, and F. Veglio, *Genetics of primary aldosteronism.* J Hypertens, 2004. **22**(4): p. 663-70.
5. Harrison, T.R. and M. Diemel, *Harrisons Innere Medizin Harrison's principles of internal medicine <dt.>.* Innere Medizin. Berlin [u.a.]: ABW, Wiss.-Verl.
6. Kovács, W.J., *Textbook of endocrine physiology.* 6. ed. ed. 2012, Oxford: Oxford University Press. XII, 462 S.
7. Hummler, E. and J.D. Horisberger, *Genetic disorders of membrane transport. V. The epithelial sodium channel and its implication in human diseases.* Am J Physiol, 1999. **276**(3 Pt 1): p. G567-71.
8. Kuhnle, U., *Pseudohypoaldosteronism: mutation found, problem solved?* Mol Cell Endocrinol, 1997. **133**(2): p. 77-80.
9. Chen, S.Y., et al., *Epithelial sodium channel regulated by aldosterone-induced protein SGK.* Proc Natl Acad Sci U S A, 1999. **96**(5): p. 2514-9.
10. Shigaev, A., et al., *Regulation of SGK by aldosterone and its effects on the epithelial Na(+) channel.* Am J Physiol Renal Physiol, 2000. **278**(4): p. F613-9.
11. Zhou, R., S.V. Patel, and P.M. Snyder, *Nedd4-2 catalyzes ubiquitination and degradation of cell surface ENaC.* J Biol Chem, 2007. **282**(28): p. 20207-12.
12. Ecelbarger, C.A., et al., *Regulation of the abundance of renal sodium transporters and channels by vasopressin.* Exp Neurol, 2001. **171**(2): p. 227-34.
13. Zeidel, M.L., et al., *Atrial natriuretic peptides inhibit conductive sodium uptake by rabbit inner medullary collecting duct cells.* J Clin Invest, 1988. **82**(3): p. 1067-74.
14. Rabelink, T.J., et al., *Effects of atrial natriuretic peptide on distal tubule function in humans.* Kidney Int, 1990. **37**(3): p. 996-1001.
15. Bhalla, V. and K.R. Hallows, *Mechanisms of ENaC regulation and clinical implications.* J Am Soc Nephrol, 2008. **19**(10): p. 1845-54.
16. Wang, Y.B., et al., *Sodium transport is modulated by p38 kinase-dependent cross-talk between ENaC and Na,K-ATPase in collecting duct principal cells.* J Am Soc Nephrol, 2014. **25**(2): p. 250-9.
17. Summa, V., et al., *Short term effect of aldosterone on Na,K-ATPase cell surface expression in kidney collecting duct cells.* J Biol Chem, 2001. **276**(50): p. 47087-93.
18. Choi, M., et al., *K+ channel mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas and hereditary hypertension.* Science, 2011. **331**(6018): p. 768-72.
19. Beuschlein, F., et al., *Somatic mutations in ATP1A1 and ATP2B3 lead to aldosterone-producing adenomas and secondary hypertension.* Nat Genet, 2013. **45**(4): p. 440-4, 444e1-2.
20. Azizan, E.A., et al., *Somatic mutations in ATP1A1 and CACNA1D underlie a common subtype of adrenal hypertension.* Nat Genet, 2013. **45**(9): p. 1055-60.
21. Oki, K., et al., *Potassium channel mutant KCNJ5 T158A expression in HAC-15 cells increases aldosterone synthesis.* Endocrinology, 2012. **153**(4): p. 1774-82.
22. Heginbotham, L., et al., *Mutations in the K+ channel signature sequence.* Biophys J, 1994. **66**(4): p. 1061-7.

23. Dibb, K.M., et al., *Molecular basis of ion selectivity, block, and rectification of the inward rectifier Kir3.1/Kir3.4 K(+) channel*. J Biol Chem, 2003. **278**(49): p. 49537-48.
24. Akerstrom, T., et al., *Comprehensive re-sequencing of adrenal aldosterone producing lesions reveal three somatic mutations near the KCNJ5 potassium channel selectivity filter*. PLoS One, 2012. **7**(7): p. e41926.
25. Fernandes-Rosa, F.L., et al., *Genetic spectrum and clinical correlates of somatic mutations in aldosterone-producing adenoma*. Hypertension, 2014. **64**(2): p. 354-61.
26. Mulatero, P., et al., *Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents*. J Clin Endocrinol Metab, 2004. **89**(3): p. 1045-50.
27. Gordon, R.D., et al., *How common is primary aldosteronism? Is it the most frequent cause of curable hypertension?* J Hypertens Suppl, 1993. **11**(5): p. S310-1.
28. Stowasser, M., et al., *Evidence for abnormal left ventricular structure and function in normotensive individuals with familial hyperaldosteronism type I*. J Clin Endocrinol Metab, 2005. **90**(9): p. 5070-6.
29. Catena, C., et al., *Long-term cardiac effects of adrenalectomy or mineralocorticoid antagonists in patients with primary aldosteronism*. Hypertension, 2007. **50**(5): p. 911-8.
30. Calo, L.A., et al., *Oxidative stress-related proteins in a Conn's adenoma tissue. Relevance for aldosterone's prooxidative and proinflammatory activity*. J Endocrinol Invest, 2010. **33**(1): p. 48-53.
31. Yoshida, K., et al., *Excess aldosterone under normal salt diet induces cardiac hypertrophy and infiltration via oxidative stress*. Hypertens Res, 2005. **28**(5): p. 447-55.
32. Staeremose, S., et al., *Elevated serum interleukin 6 levels in normotensive individuals with familial hyperaldosteronism type I*. Hypertension, 2009. **53**(4): p. e31-2.
33. Milliez, P., et al., *Evidence for an increased rate of cardiovascular events in patients with primary aldosteronism*. J Am Coll Cardiol, 2005. **45**(8): p. 1243-8.
34. Pitt, B., et al., *The effect of spironolactone on morbidity and mortality in patients with severe heart failure. Randomized Aldactone Evaluation Study Investigators*. N Engl J Med, 1999. **341**(10): p. 709-17.
35. Rocha, R. and C.T. Stier, Jr., *Pathophysiological effects of aldosterone in cardiovascular tissues*. Trends Endocrinol Metab, 2001. **12**(7): p. 308-14.
36. Blacher, J., et al., *Aortic pulse wave velocity as a marker of cardiovascular risk in hypertensive patients*. Hypertension, 1999. **33**(5): p. 1111-7.
37. Brown, N.J., *Eplerenone: cardiovascular protection*. Circulation, 2003. **107**(19): p. 2512-8.
38. Born-Frontsberg, E., et al., *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. 1125-30.
39. Reincke, M., et al., *Is primary aldosteronism associated with diabetes mellitus? Results of the German Conn's Registry*. Horm Metab Res, 2010. **42**(6): p. 435-9.
40. Hene, R.J., et al., *Plasma aldosterone concentrations in chronic renal disease*. Kidney Int, 1982. **21**(1): p. 98-101.
41. Walker, W.G., *Hypertension-related renal injury: a major contributor to end-stage renal disease*. Am J Kidney Dis, 1993. **22**(1): p. 164-73.
42. Toyonaga, J., et al., *Spironolactone inhibits hyperglycemia-induced podocyte injury by attenuating ROS production*. Nephrol Dial Transplant, 2011. **26**(8): p. 2475-84.
43. Nagase, M., *Activation of the aldosterone/mineralocorticoid receptor system in chronic kidney disease and metabolic syndrome*. Clin Exp Nephrol, 2010. **14**(4): p. 303-14.
44. Chen, C., et al., *Aldosterone induces apoptosis in rat podocytes: role of PI3-K/Akt and p38MAPK signaling pathways*. Nephron Exp Nephrol, 2009. **113**(1): p. e26-34.
45. Fan, Y.Y., et al., *Aldosterone/Mineralocorticoid receptor stimulation induces cellular senescence in the kidney*. Endocrinology, 2011. **152**(2): p. 680-8.



46. Sato, A., et al., *Effectiveness of aldosterone blockade in patients with diabetic nephropathy*. Hypertension, 2003. **41**(1): p. 64-8.
47. Rachmani, R., et al., *Effect of an alpha-adrenergic blocker, and ACE inhibitor and hydrochlorothiazide on blood pressure and on renal function in type 2 diabetic patients with hypertension and albuminuria. A randomized cross-over study*. Nephron, 1998. **80**(2): p. 175-82.
48. Rossing, K., et al., *Beneficial effects of adding spironolactone to recommended antihypertensive treatment in diabetic nephropathy: a randomized, double-masked, cross-over study*. Diabetes Care, 2005. **28**(9): p. 2106-12.
49. Bianchi, S., R. Bigazzi, and V.M. Campese, *Long-term effects of spironolactone on proteinuria and kidney function in patients with chronic kidney disease*. Kidney Int, 2006. **70**(12): p. 2116-23.
50. Epstein, M., et al., *Selective aldosterone blockade with eplerenone reduces albuminuria in patients with type 2 diabetes*. Clin J Am Soc Nephrol, 2006. **1**(5): p. 940-51.
51. Furumatsu, Y., et al., *Effect of renin-angiotensin-aldosterone system triple blockade on non-diabetic renal disease: addition of an aldosterone blocker, spironolactone, to combination treatment with an angiotensin-converting enzyme inhibitor and angiotensin II receptor blocker*. Hypertens Res, 2008. **31**(1): p. 59-67.
52. Quinkler, M., et al., *Increased expression of mineralocorticoid effector mechanisms in kidney biopsies of patients with heavy proteinuria*. Circulation, 2005. **112**(10): p. 1435-43.
53. Irita, J., et al., *Osteopontin in rat renal fibroblasts: functional properties and transcriptional regulation by aldosterone*. Hypertension, 2008. **51**(2): p. 507-13.
54. Tang, S., et al., *Albumin stimulates interleukin-8 expression in proximal tubular epithelial cells in vitro and in vivo*. J Clin Invest, 2003. **111**(4): p. 515-27.
55. Blasi, E.R., et al., *Aldosterone/salt induces renal inflammation and fibrosis in hypertensive rats*. Kidney Int, 2003. **63**(5): p. 1791-800.
56. Fujisawa, G., et al., *Spironolactone prevents early renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats*. Kidney Int, 2004. **66**(4): p. 1493-502.
57. Hall, J.E., et al., *Role of renal hemodynamics and arterial pressure in aldosterone "escape"*. Hypertension, 1984. **6**(2 Pt 2): p. 1183-92.
58. Ribstein, J., et al., *Relative glomerular hyperfiltration in primary aldosteronism*. J Am Soc Nephrol, 2005. **16**(5): p. 1320-5.
59. Reincke, M., et al., *Risk factors associated with a low glomerular filtration rate in primary aldosteronism*. J Clin Endocrinol Metab, 2009. **94**(3): p. 869-75.
60. Fourkiotis, V.G., et al., *Effectiveness of Eplerenone or Spironolactone treatment in preserving renal function in primary aldosteronism*. Eur J Endocrinol, 2012.
61. Rossi, G.P., et al., *Response to Renal Function in Primary Aldosteronism: Is Glomerular Hyperfiltration a Hallmark of Primary Aldosteronism? Further Results from the Primary Aldosteronism Prevalence in Hypertension (PAPY) Study*. Hypertension, 2006. **48**(6): p. e111-e112.
62. Rossi, G.P., et al., *Renal damage in primary aldosteronism: results of the PAPY Study*. Hypertension, 2006. **48**(2): p. 232-8.
63. Novello, M., et al., *Renal cysts and hypokalemia in primary aldosteronism: results of long-term follow-up after treatment*. J Hypertens, 2007. **25**(7): p. 1443-50.
64. Ogasawara, M., et al., *Clinical implications of renal cyst in primary aldosteronism*. Endocr J, 1996. **43**(3): p. 261-8.
65. Rizzoni, D., et al., *Relations between cardiac and vascular structure in patients with primary and secondary hypertension*. J Am Coll Cardiol, 1998. **32**(4): p. 985-92.
66. Holaj, R., et al., *Increased intima-media thickness of the common carotid artery in primary aldosteronism in comparison with essential hypertension*. J Hypertens, 2007. **25**(7): p. 1451-7.
67. Strauch, B., et al., *Increased arterial wall stiffness in primary aldosteronism in comparison with essential hypertension*. Am J Hypertens, 2006. **19**(9): p. 909-14.
68. Catena, C., et al., *Cardiovascular outcomes in patients with primary aldosteronism after treatment*. Arch Intern Med, 2008. **168**(1): p. 80-5.

69. Prejbisz, A., et al., *Relationship between primary aldosteronism and obstructive sleep apnoea, metabolic abnormalities and cardiac structure in patients with resistant hypertension*. Endokrynol Pol, 2013. **64**(5): p. 363-7.
70. Conn, J.W., *Hypertension, the Potassium Ion and Impaired Carbohydrate Tolerance*. New England Journal of Medicine, 1965. **273**(21): p. 1135-1143.
71. Fallo, F., et al., *Prevalence and characteristics of the metabolic syndrome in primary aldosteronism*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(2): p. 454-9.
72. Ingelsson, E., et al., *Multimarker approach to evaluate the incidence of the metabolic syndrome and longitudinal changes in metabolic risk factors: the Framingham Offspring Study*. Circulation, 2007. **116**(9): p. 984-92.
73. Colussi, G., et al., *Insulin resistance and hyperinsulinemia are related to plasma aldosterone levels in hypertensive patients*. Diabetes Care, 2007. **30**(9): p. 2349-54.
74. Matrozova, J., et al., *Fasting plasma glucose and serum lipids in patients with primary aldosteronism: a controlled cross-sectional study*. Hypertension, 2009. **53**(4): p. 605-10.
75. Armani, A., et al., *Mineralocorticoid receptor antagonism induces browning of white adipose tissue through impairment of autophagy and prevents adipocyte dysfunction in high-fat-diet-fed mice*. FASEB J, 2014.
76. Guo, C., et al., *Mineralocorticoid receptor blockade reverses obesity-related changes in expression of adiponectin, peroxisome proliferator-activated receptor-gamma, and proinflammatory adipokines*. Circulation, 2008. **117**(17): p. 2253-61.
77. Homma, T., et al., *Spironolactone, but not eplerenone, impairs glucose tolerance in a rat model of metabolic syndrome*. J Vet Med Sci, 2012. **74**(8): p. 1015-22.
78. Reincke, M., et al., *Observational study mortality in treated primary aldosteronism: the German Conn's registry*. Hypertension, 2012. **60**(3): p. 618-24.
79. Funder, J.W., et al., *Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline*. J Clin Endocrinol Metab, 2008. **93**(9): p. 3266-81.
80. Stowasser, M., et al., *Factors affecting the aldosterone/renin ratio*. Horm Metab Res, 2012. **44**(3): p. 170-6.
81. Sealey, J.E., J. Blumenfeld, and J.H. Laragh, *Prorenin cryoactivation as a possible cause of normal renin levels in patients with primary aldosteronism*. J Hypertens, 2005. **23**(2): p. 459-60; author reply 460.
82. Giacchetti, G., et al., *Analysis of screening and confirmatory tests in the diagnosis of primary aldosteronism: need for a standardized protocol*. J Hypertens, 2006. **24**(4): p. 737-45.
83. Rossi, G.P., et al., *Prospective evaluation of the saline infusion test for excluding primary aldosteronism due to aldosterone-producing adenoma*. J Hypertens, 2007. **25**(7): p. 1433-42.
84. Holland, O.B., et al., *Further evaluation of saline infusion for the diagnosis of primary aldosteronism*. Hypertension, 1984. **6**(5): p. 717-23.
85. Kem, D.C., et al., *Saline suppression of plasma aldosterone in hypertension*. Arch Intern Med, 1971. **128**(3): p. 380-6.
86. Agharazii, M., et al., *Captopril suppression versus salt loading in confirming primary aldosteronism*. Hypertension, 2001. **37**(6): p. 1440-3.
87. Rossi, G.P., et al., *Comparison of the captopril and the saline infusion test for excluding aldosterone-producing adenoma*. Hypertension, 2007. **50**(2): p. 424-31.
88. Mulatero, P., et al., *Captopril test can give misleading results in patients with suspect primary aldosteronism*. Hypertension, 2007. **50**(2): p. e26-7.
89. Castro, O.L., X. Yu, and D.C. Kem, *Diagnostic value of the post-captopril test in primary aldosteronism*. Hypertension, 2002. **39**(4): p. 935-8.
90. Gordon, R.D., *Mineralocorticoid hypertension*. Lancet, 1994. **344**(8917): p. 240-3.
91. Stowasser, M., et al., *High rate of detection of primary aldosteronism, including surgically treatable forms, after 'non-selective' screening of hypertensive patients*. J Hypertens, 2003. **21**(11): p. 2149-57.

92. Young, W.F.J.M.D., *Primary Aldosteronism: Update on Diagnosis and Treatment*. Endocrinologist, 1997. **7**(4): p. 213-221.
93. Young, W.F., Jr., et al., *Primary aldosteronism: diagnosis and treatment*. Mayo Clin Proc, 1990. **65**(1): p. 96-110.
94. Bravo, E.L., *Primary aldosteronism*. Cardiol Clin, 1988. **6**(4): p. 509-15.
95. Salva, M., M.V. Cicala, and F. Mantero, *Primary aldosteronism: the role of confirmatory tests*. Horm Metab Res, 2012. **44**(3): p. 177-80.
96. Thibonnier, M., et al., [*A simple diagnostic test for primary hyperaldosteronism*]. Presse Med, 1983. **12**(23): p. 1461-6.
97. Mulatero, P., et al., *Comparison of confirmatory tests for the diagnosis of primary aldosteronism*. J Clin Endocrinol Metab, 2006. **91**(7): p. 2618-23.
98. Willenberg, H.S., et al., *Comparison of the saline infusion test and the fludrocortisone suppression test for the diagnosis of primary aldosteronism*. Horm Metab Res, 2012. **44**(7): p. 527-32.
99. Schirpenbach, C., et al., *Confirmatory testing in normokalaemic primary aldosteronism: the value of the saline infusion test and urinary aldosterone metabolites*. Eur J Endocrinol, 2006. **154**(6): p. 865-73.
100. Auchus, R.J., et al., *What we still do not know about adrenal vein sampling for primary aldosteronism*. Horm Metab Res, 2010. **42**(6): p. 411-5.
101. Gomez-Sanchez, C.E., et al., *Progress in primary aldosteronism: present challenges and perspectives*. Horm Metab Res, 2010. **42**(6): p. 374-81.
102. Kempers, M.J., et al., *Systematic review: diagnostic procedures to differentiate unilateral from bilateral adrenal abnormality in primary aldosteronism*. Ann Intern Med, 2009. **151**(5): p. 329-37.
103. Rossi, G.P., et al., *The Adrenal Vein Sampling International Study (AVIS) for identifying the major subtypes of primary aldosteronism*. J Clin Endocrinol Metab, 2012. **97**(5): p. 1606-14.
104. Schirpenbach, C., et al., *The diagnosis and treatment of primary hyperaldosteronism in Germany: results on 555 patients from the German Conn Registry*. Dtsch Arztebl Int, 2009. **106**(18): p. 305-11.
105. Vonend, O., et al., *Adrenal venous sampling: evaluation of the German Conn's registry*. Hypertension, 2011. **57**(5): p. 990-5.
106. Zarnegar, R., et al., *The aldosteronoma resolution score: predicting complete resolution of hypertension after adrenalectomy for aldosteronoma*. Ann Surg, 2008. **247**(3): p. 511-8.
107. Catena, C., et al., *Relationships of plasma renin levels with renal function in patients with primary aldosteronism*. Clin J Am Soc Nephrol, 2007. **2**(4): p. 722-31.
108. van der Linden, P., et al., *Blood pressure and medication changes following adrenalectomy for unilateral primary aldosteronism: a follow-up study*. J Hypertens, 2012. **30**(4): p. 761-9.
109. Lim, P.O., R.T. Jung, and T.M. MacDonald, *Raised aldosterone to renin ratio predicts antihypertensive efficacy of spironolactone: a prospective cohort follow-up study*. Br J Clin Pharmacol, 1999. **48**(5): p. 756-60.
110. Sechi, L.A., et al., *Long-term renal outcomes in patients with primary aldosteronism*. JAMA, 2006. **295**(22): p. 2638-45.
111. Wu, V.C., et al., *Primary aldosteronism: changes in cystatin C-based kidney filtration, proteinuria, and renal duplex indices with treatment*. J Hypertens, 2011. **29**(9): p. 1778-86.
112. Pimenta, E., et al., *Unilateral adrenalectomy improves urinary protein excretion but does not abolish its relationship to sodium excretion in patients with aldosterone-producing adenoma*. J Hum Hypertens, 2011. **25**(10): p. 592-9.
113. Giacchetti, G., et al., *Aldosterone as a key mediator of the cardiometabolic syndrome in primary aldosteronism: an observational study*. J Hypertens, 2007. **25**(1): p. 177-86.
114. Somloova, Z., et al., *The prevalence of metabolic syndrome and its components in two main types of primary aldosteronism*. J Hum Hypertens, 2010. **24**(10): p. 625-30.

115. Wang, W., et al., *Predictors of successful outcome after adrenalectomy for primary aldosteronism*. Int Surg, 2012. **97**(2): p. 104-11.
116. Ghose, R.P., P.M. Hall, and E.L. Bravo, *Medical management of aldosterone-producing adenomas*. Ann Intern Med, 1999. **131**(2): p. 105-8.
117. Meyer, A., G. Brabant, and M. Behrend, *Long-term follow-up after adrenalectomy for primary aldosteronism*. World J Surg, 2005. **29**(2): p. 155-9.
118. Rossi, G.P., et al., *Vascular remodeling and duration of hypertension predict outcome of adrenalectomy in primary aldosteronism patients*. Hypertension, 2008. **51**(5): p. 1366-71.
119. Sawka, A.M., et al., *Primary aldosteronism: factors associated with normalization of blood pressure after surgery*. Ann Intern Med, 2001. **135**(4): p. 258-61.
120. Celen, O., et al., *Factors influencing outcome of surgery for primary aldosteronism*. Arch Surg, 1996. **131**(6): p. 646-50.
121. Steichen, O., et al., *Outcomes of adrenalectomy in patients with unilateral primary aldosteronism: a review*. Horm Metab Res, 2012. **44**(3): p. 221-7.
122. Oelkers, W., S. Diederich, and V. Bahr, *Primary hyperaldosteronism without suppressed renin due to secondary hypertensive kidney damage*. J Clin Endocrinol Metab, 2000. **85**(9): p. 3266-70.
123. Fischer, E., et al., *Assay characteristics influence the aldosterone to renin ratio as a screening tool for primary aldosteronism: results of the German Conn's registry*. Horm Metab Res, 2013. **45**(7): p. 526-31.

## VII. Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Marianne Weigel, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: "Kochsalzinfusionstest und Subdifferenzierung und Outcome des primären Hyperaldosteronismus:Analyse des Deutschen Conn-Registers" 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](http://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.

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

Datum

Unterschrift

## VIII. Publikationsliste

Phase II study of MTX-HSA in combination with cisplatin as first line treatment in patients with advanced or metastatic transitional cell carcinoma. Bolling C, Graefe T, Lübbling C, Jankevicius F, Uktveris S, Cesas A, Meyer-Moldenhauer WH, Starkmann H, Weigel M, Burk K, Hanauske AR, Invest New Drugs. 2006 Nov;24(6):521-7.

## **IX. Danksagung**

Einen großen Dank richte ich an alle Patienten, die ihre Daten dem Deutschen Conn-Register zur Verfügung stellten und somit zur Erforschung vom primären Hyperaldosteronismus beitrugen. Auch bei den Kollegen an den teilnehmenden Zentren des Deutschen Conn-Registers bedanke ich mich sehr für ihre Unterstützung: bei Professor Bruno Allolio und Dr. Katharina Lang in Würzburg, bei Professor Holger Willenberg in Rostock und insbesondere bei Professor Martin Reincke, Professor Felix Beuschlein, Dr. Anna Riester, Friederike Dahm und Susanne Schmid in München. Auch bedanke ich mich bei Maria-Christina Zennaro, INSERM, UMRS\_970, kardiovaskuläres Forschungszentrum Paris.

Ich bedanke mich ganz besonders bei meinen Kollegen in Berlin, bei Gregor Hanslik, Christiane Friedrich und Kathrin Zopf, für ihre Unterstützung und für die gewonnene Erfahrung.

Bei meiner Familie bedanke ich mich für all das, was sie mir mit auf den Weg gab, um Humanmedizin zu studieren und die Herausforderung der Dissertation zu meistern.

Bei meinem Freund Sergio Reyes Sotomayor bedanke ich mich vom ganzen Herzen für seine Geduld und Ermunterung.

Meinem Doktorvater Professor Marcus Quinkler verdanke ich nicht nur das von ihm gestellte, klinisch relevante und daher auch interessante Thema für die Dissertation. Ich verdanke ihm die Möglichkeit, über meine Grenzen hinaus gewachsen zu sein, den immer wieder auftauchenden roten Faden nach den Besprechungen und die Möglichkeit, meine Arbeit auch bei wissenschaftlichen Veranstaltungen zu präsentieren. Ich bedanke mich herzlich für seine stetige Präsenz und für das mir entgegengebrachte Vertrauen.