

Diplomarbeit

**Zusammenhang zwischen renaler
Kalziumausscheidung und Pulswellengeschwindigkeit
bei PatientInnen mit Bluthochdruck**

eingereicht von

Rosmarie Pichlbauer

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktorin der gesamten Heilkunde (Dr.ⁱⁿ med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

Klinischen Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie

unter der Anleitung von

Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Stefan Pilz, PhD

Dr. med.univ. Martin Gaksch

Graz, am 15.08.2016

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 15.08.2016

Rosmarie Pichlbauer eh.

Danksagung

Ich möchte mich hier bei allen bedanken, die mich beim Verfassen dieser Diplomarbeit und während meines Medizinstudiums unterstützt haben.

An erster Stelle möchte ich mich bei meinen Diplomarbeitsbetreuern Assoz. Prof. Priv.-Doz. Dr.med.univ. Stefan Pilz, PhD und Dr.med.univ. Martin Gaksch bedanken, die mir die Möglichkeit gaben, diese Diplomarbeit am Institut für Endokrinologie und Diabetologie am Universitätsklinikum Graz zu verfassen. Durch konstruktives Feedback haben sie mit viel Geduld und Expertise sehr zur Vollendung dieser Diplomarbeit beigetragen.

Ein großer Dank geht auch an meine Eltern, die mir während meines gesamten Medizinstudiums zur Seite gestanden sind und mir sehr viel Rückhalt in dieser Zeit gegeben haben.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meinem Freund Alexander bedanken, der mich während meines gesamten Studiums und speziell auch während des Schreibens dieser Diplomarbeit sehr unterstützt hat.

Abstract

Background: Epidemiologic studies have suggested an association between calcium metabolism and the cardiovascular system. There is evidence that urinary calcium (Ca^{2+}) excretion is closely related to arterial blood pressure. Many studies have shown a correlation between nephrolithiasis and arterial hypertension, a risk factor for premature cardiovascular disease. However, there has hardly been research on the association between urinary Ca^{2+} excretion and other cardiovascular risk factors, such as arterial stiffness. Therefore, this diploma thesis analyses the relation between urinary Ca^{2+} excretion and pulse wave velocity, a surrogate marker for arterial stiffness.

Methods: This study is a cross-sectional analysis in the population of the “Styrian Hypertension Study” restricted to patients with available data on urinary Ca^{2+} excretion and pulse wave velocity. Urinary Ca^{2+} excretion was measured from 24-hour urine collections. Pulse wave analysis was measured with ECG synchronized applanation tonometry. The statistical evaluation included correlation and regression analyses.

Results: The trial included 87 patients with hypertension. The average age of the study participants was 60.0 years, the percentage of women was 52%. We discovered a significant correlation between 24-hour urinary Ca^{2+} excretion and pulse wave velocity (Pearson-correlations coefficient $r = -0.247$; $p = 0.021$). Statistical significance was, however, lost in regression analysis adjusted for potential confounders.

Conclusion: In this analysis, we did not observe a significant and independent relation between 24-hour urinary Ca^{2+} excretion and pulse wave velocity in hypertensive patients. Further studies are still necessary to evaluate the relationship between urinary Ca^{2+} excretion and cardiovascular risk.

Zusammenfassung

Hintergrund: Ergebnisse epidemiologischer Studien deuten auf einen Zusammenhang zwischen Kalzium-Metabolismus und dem kardiovaskulären System. Es gibt Evidenz dafür, dass die renale Ausscheidung von Kalzium (Ca^{2+}) in einem engen Zusammenhang mit dem arteriellen Blutdruck steht. So wurde zum Beispiel der Zusammenhang zwischen Nephrolithiasis und arterieller Hypertonie, einem Risikofaktor für das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen, bereits in vielen Studien beobachtet. Eine Assoziation zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und anderen Risikofaktoren, wie der Gefäßsteifigkeit, wurde bisher jedoch kaum wissenschaftlich untersucht. Aus diesem Grund analysiert diese Diplomarbeit den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und der Pulswellengeschwindigkeit, einem Surrogatmarker für die Gefäßsteifigkeit, bei hypertensiven PatientInnen.

Methoden: Bei der vorliegenden Studie handelt es sich um eine Querschnittsanalyse im Rahmen der „Steirischen Bluthochdruck Studie“, welche sich auf PatientInnen beschränkt, bei denen Daten zur renalen Ca^{2+} -Ausscheidung und zur Pulswellenanalyse vorhanden sind. Die renale Ca^{2+} -Ausscheidung wurde aus einer 24-Stunden-Harnsammlung gemessen, eine Pulswellenanalyse wurde mit Hilfe von EKG-synchronisierter Applanationstonometrie durchgeführt. Die Daten wurden unter anderem mit einer Korrelations- und Regressionsanalyse statistisch ausgewertet.

Ergebnisse: In die Studie wurden 87 ProbandInnen mit Hypertonie eingeschlossen. Das durchschnittliche Alter der StudienteilnehmerInnen lag bei 60,0 Jahren, der Anteil an Frauen bei 52%. Es konnte eine Korrelation zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit gezeigt werden (Pearson-Korrelationskoeffizient $r = -0,247$; $p = 0,021$). Nach Adjustierung für potentielle Confounding Faktoren zeigte sich in einer Regressionsanalyse jedoch kein statistisch signifikanter Zusammenhang.

Resümee: Unsere Studie konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit in hypertensiven PatientInnen finden. Weitere Studien sind jedoch notwendig, um den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und kardiovaskulärem Risiko noch genauer zu evaluieren.

Abkürzungen

Ca ²⁺	(ionisiertes) Kalzium
Na ⁺	(ionisiertes) Natrium
Mg ²⁺	(ionisiertes) Magnesium
PO ₄ ³⁻	(ionisiertes) Phosphat
K ⁺	(ionisiertes) Kalium
CaSR	Calcium-sensing-receptor
PTH	Parathormon
PTHR	Parathormon-Rezeptor
PT	Proximaler Tubulus
TAL	Dicker ascendierender Schenkel der Henle-Schleife
DCT	Pars convoluta des distalen Tubulus
ROMK-Kanäle	Renal outer medullary potassium channel
CB	Calbindin-D28K
PMCA1	Plasma membrane calcium ATPase 1
NCX1	Natrium-Kalzium-Austauscher 1
TRPV5	transzelluläres Kalzium-Transportprotein 5
NaCl	Natrium-Chlorid
ENaC	epitheliale Natrium-Kanäle
cf-PWV	karotid-femorale Pulswellengeschwindigkeit
PWV	Pulswellengeschwindigkeit
AP	Pressure Augmentation
AASI	Ambulatory arterial stiffness index
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate

Inhaltsverzeichnis

Danksagung	3
Abstract.....	4
Zusammenfassung	5
Abkürzungen	6
Inhaltsverzeichnis	7
1 Einleitung	9
2 Allgemeiner Teil.....	12
2.1 Kalzium Metabolismus	12
2.1.1 Regulation des Kalziumspiegels im Serum.....	13
2.1.2 Kalzium Aufnahme und Absorption	13
2.1.3 Kalzium Ausscheidung.....	14
2.1.3.1 Proximaler Tubulus	14
2.1.3.2 Dicker ascendierender Schenkel der Henle-Schleife (TAL).....	14
2.1.3.3 Distaler Tubulus	15
2.1.3.4 Der Calcium-sensing Receptor (CaSR)	16
2.1.4 Einflussfaktoren der renalen Kalzium-Ausscheidung	17
2.1.4.1 Natrium	17
2.1.4.2 Diuretika.....	18
2.1.4.3 pH-Wert.....	19
2.1.5 Hyperkalziurie und Urolithiasis	19
2.2 Arterielle Gefäßsteifigkeit	22
2.2.1 Ätiologie und Risikofaktoren	22
2.2.2 Diagnostische Parameter	23
2.2.2.1 Arterielle Hämodynamik und Gefäßelastizität.....	23
2.2.2.2 Pulswellengeschwindigkeit	24
2.2.2.3 Pulswellen-Reflexion	25
2.2.2.4 Augmentationsindex	25
2.2.2.5 Ambulatory arterial stiffness index (AASI).....	26
2.3 Arterielle Gefäßsteifigkeit und renale Kalzium-Ausscheidung.....	27
2.3.1 Urolithiasis und Hypertonie.....	27
2.3.2 Gefäßsteifigkeit und Ca ²⁺ -Metabolismus	28
2.3.3 Der Calcium-sensing-receptor (CaSR) im Kardiovaskulären System	29

2.3.4	Ca ²⁺ -Einnahme und Gefäßsteifigkeit.....	31
3	Methoden.....	32
3.1	Studiendesign.....	32
3.2	Studienpopulation.....	32
3.2.1	Ein- und Ausschlusskriterien.....	32
3.3	Klinische Mess- und Labormethoden.....	33
3.3.1	24-Stunden-Urin-Sammlung und Kalzium-Messung.....	33
3.3.2	Pulswellen-Analyse.....	34
3.4	Statistische Analysen.....	36
4	Ergebnisse.....	37
4.1	Deskriptive Statistik.....	37
4.2	Assoziation von renaler Kalzium-Ausscheidung und Pulswellengeschwindigkeit	40
4.3	Assoziation von renaler Kalzium-Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit.....	41
5	Diskussion.....	42
6	Annex.....	46
6.1	Abbildungen.....	46
6.2	Tabellen.....	46
6.3	Formeln.....	46
7	Literaturverzeichnis.....	47

1 Einleitung

Kalzium (Ca^{2+}) spielt in fast allen menschlichen Organsystemen eine partizipative Rolle. Nur geringe Veränderungen im Ca^{2+} -Metabolismus können zu massiven Störungen im gesamten menschlichen Körper führen. Aus diesem Grund existiert ein sehr komplexes regulatives System, um den Ca^{2+} -Metabolismus nicht aus dem Gleichgewicht zu bringen. (1) Diese Komplexität erschwert die Erforschung des Ca^{2+} -Metabolismus, da Ursache-Wirkung-Mechanismen oftmals schwer zu differenzieren sind. Jedoch macht diese Komplexität die wissenschaftliche Arbeit rund um den Ca^{2+} -Metabolismus auch sehr spannend und mitreißend. Der massive Einfluss eines einzigen Elements in so vielen Bereichen des menschlichen Körpers ist evolutionär tief verankert und faszinierend. Mit dieser Motivation möchte ich mich in meiner Diplomarbeit mit dem Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und dem kardiovaskulären System bei PatientInnen mit Bluthochdruck beschäftigen.

Der Ca^{2+} -Metabolismus und das kardiovaskuläre System stehen in einem engen Verhältnis: Ca^{2+} spielt eine wichtige Rolle in der Kalzifikation von Gefäßen und ist auch in viele Prozesse der vaskulären Zellfunktion und Kontraktion der glatten Muskelzellen involviert. (1) Jedoch auch die renale Ausscheidung von Ca^{2+} steht in Verbindung mit dem kardiovaskulären System. So wurde zum Beispiel der Zusammenhang zwischen Nephrolithiasis und Hypertonie bereits in vielen Studien beobachtet. (2) Eine Assoziation zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit wurde bisher jedoch kaum wissenschaftlich und mit validen Methoden untersucht. Aus diesem Grund möchte ich im Rahmen dieser Diplomarbeit mit Hilfe einer Querschnittsuntersuchung den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellenanalyse als Surrogat-Parameter für die Gefäßsteifigkeit bei hypertensiven PatientInnen analysieren.

Arterielle Gefäßsteifigkeit ist bereits seit sehr langer Zeit als Risikofaktor für kardiovaskuläre Erkrankungen bekannt. Kardiovaskuläre Erkrankungen sind auf Platz eins der Todesursachen weltweit. Trotz der bedeutenden Rolle von arterieller Gefäßsteifigkeit in der Entstehung von kardiovaskulären Erkrankungen ist jedoch noch relativ wenig über die zu Grunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen bekannt. Eine entscheidende Rolle bei der Entstehung von arterieller Gefäßsteifigkeit nimmt der Ca^{2+} -Metabolismus ein. Sowohl durch strukturelle, als auch durch funktionelle Veränderungen nimmt dieser Einfluss

und beschleunigt auf diese Weise die Kalzifikation von Gefäßen und beeinflusst die Kontraktion von vaskulären glatten Muskelzellen. (3)

Jedoch auch die Ca^{2+} -Ausscheidung steht in einem Zusammenhang mit der Entstehung von arterieller Gefäßsteifigkeit. Es wurde ein Zusammenhang zwischen Hypertonie und Nephrolithiasis bereits in einigen Studien beobachtet: Bereits im Jahr 1960 beschrieb Tibblin zum ersten Mal einen epidemiologischen Zusammenhang. Im Jahr 1990 publizierten Cappuccio et al. Daten der „Olivetti Prospective Heart Study“, welche zeigten, dass eine Vorgeschichte von Nierensteinen mit einem erhöhten Risiko für die Entstehung einer arteriellen Hypertonie assoziiert war. Im Jahr 1999 konnten Borghi et al. ebenfalls in einer prospektiven Studie nachweisen, dass hypertensive PatientInnen im Vergleich zu normotensiven ProbandInnen eine signifikant erhöhte Inzidenz für Nierensteine haben. (2)

Eine aktuelle Hypothese über den Zusammenhang zwischen arterieller Gefäßsteifigkeit und Ca^{2+} -Ausscheidung bezieht sich auf den so genannten Calcium-sensing-receptor (CaSR). Dieser wurde initial im Nephron als Regulator der Ca^{2+} -Ausscheidung entdeckt. Bukoski et al. konnten den CaSR jedoch auch im perivaskulären Nervensystem nachweisen. Im Jahr 2006 entdeckten Ziegelstein et al. CaSR-mRNA und -Protein in endothelialen Zellen der menschlichen Aorta und konnten wichtige Erkenntnisse über die Funktion des CaSR in der Pathogenese der Arteriosklerose und Atherosklerose belegen. (4)

Das Studiendesign der vorliegenden Querschnittsstudie in dieser Diplomarbeit ermöglicht natürlich keine definitive Aussage bzw. Schlussfolgerung bzgl. eines kausalen Zusammenhanges zwischen den erhobenen Parametern. Die Ergebnisse können aber als Grundlage für weiterführende Studien dienen und auf die Relevanz dieses Forschungsschwerpunktes hinweisen.

Vorhergehende Studien waren dadurch limitiert, dass für die Messung von renaler Ca^{2+} -Ausscheidung der Mittelstrahlharn verwendet wurde, welcher circadianen Schwankungen unterliegen kann. Die vorliegende Studie misst die renale Ca^{2+} -Ausscheidung jedoch mit Hilfe von 24-Stunden-Harnsammlungen. Die Gefäßsteifigkeit wird durch Pulswellenanalyse mit Hilfe von EKG-synchronisierter Applanationstonometrie ermittelt. (5,6)

Ergebnisse aus dieser Diplomarbeit über den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und arterieller Gefäßsteifigkeit könnten wichtige neue Erkenntnisse für das

klinische Management von PatientInnen mit Nephrolithiasis oder Hypertonie liefern. Neue präventive Maßnahmen für diese PatientInnen könnten renale und/oder kardiovaskuläre Erkrankungen bereits frühzeitig verhindern.

Nephrolithiasis und Hypertonie sind Erkrankungen, die sich auch häufig beim metabolischen Syndrom wiederfinden. Das metabolische Syndrom hat eine sehr hohe und steigende Inzidenz in Industriestaaten und ist ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung von koronaren Herzkrankheiten. (1,2) Neue Erkenntnisse über eine Korrelation zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit könnten auch Hinweise über den pathophysiologischen Zusammenhang dieser Erkrankungen bei einem metabolischen Syndrom geben und das therapeutische Management von PatientInnen mit metabolischem Syndrom möglicherweise beeinflussen.

Das Hauptziel der vorliegenden Studie ist die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Ca^{2+} - Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Gefäßsteifigkeits-Parametern bei PatientInnen mit Bluthochdruck. Es handelt sich um eine Beobachtungsstudie mit Querschnittsanalyse, die im Rahmen der Steirischen Vitamin D Bluthochdruck Studie durchgeführt wird.

2 Allgemeiner Teil

Im folgenden Kapitel möchte ich einen Überblick über die bereits vorhandene Literatur zu dem oben beschriebenen Thema geben. Zu Beginn werde ich mich mit dem Ca^{2+} -Metabolismus auseinandersetzen, wobei ich einen Schwerpunkt auf die renale Ca^{2+} -Ausscheidung lege. Im weiteren Verlauf werde ich einen Überblick über die Ätiologie, Diagnostik und Folgen von arterieller Gefäßsteifigkeit präsentieren. Im letzten Teil dieses Kapitels werde ich bereits vorhandene Hypothesen über den Zusammenhang zwischen Ca^{2+} -Ausscheidung und arterieller Gefäßsteifigkeit darlegen.

2.1 Kalzium Metabolismus

Kalzium spielt eine tragende Rolle im menschlichen Körper und ist zentraler Bestandteil bei vielen biologischen Prozessen, wie zum Beispiel bei Knochen-Mineralisierungsprozessen, bei extra- und intrazellulären Signalkaskaden, bei der Muskelkontraktion oder bei der Weiterleitung von Nervenimpulsen. (7) Auf Grund dieser vielfältigen Rolle von Kalzium im menschlichen Körper ist eine komplexe Regulierung des Kalzium-Metabolismus erforderlich. Diese Regulierung wird hauptsächlich von Parathormon (PTH) und Calcitriol übernommen, Calcitonin spielt eine eher zu vernachlässigende Rolle. Diese Hormone regulieren den Kalzium-Metabolismus über intestinale Absorption, renale Exkretion und Knochenumsatz. (8)

Der gesamte Ca^{2+} -Gehalt in einem menschlichen Erwachsenen beträgt ca. 1000-1200g, wobei fast 99% davon im Knochen und in den Zähnen als Hydroxyapatit ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) gespeichert sind. Nur 1% des Ca^{2+} -Gehalts im Körper befindet sich gelöst im Extra- und Intrazellulärraum. Die gesamte Ca^{2+} -Konzentration im Plasma beträgt im Durchschnitt 2,5 mmol/l. 40% der Ca^{2+} -Plasmakonzentration ist an Plasmaproteine, größtenteils Albumin, gebunden, etwa 50% ist ionisiert und 10% liegt als Komplexsalz (Zitrat, Phosphat, Sulfat, Bicarbonat, Laktat) vor. (9,10)

In den folgenden Unterkapiteln wird der Metabolismus von Ca^{2+} im Überblick dargestellt. Die Ca^{2+} -Ausscheidung wird weiter im Detail behandelt, da sie eine wichtige Rolle in dieser Diplomarbeit spielt.

2.1.1 Regulation des Kalziumspiegels im Serum

Der Serumkalziumspiegel wird in erster Linie über einen negativen Feedbackmechanismus reguliert. Ein Abfall des ionisierten Kalziums im Serum inaktiviert kalziumsensitive Rezeptoren (CaSR) in der Nebenschilddrüse. Dadurch kommt es zu einem Anstieg an PTH, welches Parathormon-Rezeptoren (PTHrP) im Knochen und in den Nieren aktiviert. Im Knochen werden in der Folge Osteoklasten aktiviert, welche Knochenmasse resorbieren und somit zu einem Anstieg des Kalziums im Serum führen. In der Niere führt die Aktivierung der PTHrP einerseits zu einem direkten Serumkalziumanstieg durch eine vermehrte tubuläre Kalzium-Rückresorption und andererseits zu einem indirekten Serumkalziumanstieg durch eine vermehrte Bildung des Vitamin-D-Metaboliten 1,25-Dihydroxyvitamin D, Calcitriol, welches an Vitamin-D-Rezeptoren im Darm und im Knochen bindet und eine vermehrte Kalzium-Aufnahme im Darm sowie die Knochenmineralisation fördert. (11)

Das Peptidhormon Calcitonin spielt eine eher untergeordnete Rolle in der Calcium-Homöostase. Calcitonin wird aus den parafollikulären Zellen, C-Zellen, der Schilddrüse ausgeschüttet. Durch das Binden von Calcitonin an dessen Rezeptor werden Osteoklasten inaktiviert, was zu einer verminderten Knochen-Resorption führt und in Folge den Serumkalziumlevel senkt. (12) Trotz der bedeutenden Eigenschaft von Calcitonin, den Serumkalziumspiegel zu senken, wird die Relevanz dieses Hormons in wissenschaftlichen Kreisen stark diskutiert bzw. bzgl. seiner klinischen Bedeutung in Frage gestellt. (13)

2.1.2 Kalzium Aufnahme und Absorption

Die Effizienz der intestinalen Calcium-Absorption variiert bei Menschen zwischen 20 und 70%, nimmt mit dem Alter ab und wird durch viele Faktoren wie zum Beispiel Schwangerschaft, Laktation und der allgemeinen Ca^{2+} -Bilanz beeinflusst und hormonell über Vitamin D reguliert.

Ca^{2+} ist ein essentieller Nährstoff. Eine Ca^{2+} -Tagesdosis von 800 mg für Erwachsene wird durch die „Nordic Nutrition Recommendations“ empfohlen. (14) Andere Ernährungsgesellschaften wie die DGE (Deutsche Gesellschaft für Ernährung) empfehlen eine tägliche Ca^{2+} -Dosis von 1000 mg bei Erwachsenen. (15)

2.1.3 Kalzium Ausscheidung

Kalzium wird über Urin, Haut und Stuhl ausgeschieden. Über den Stuhl wird nicht absorbiertes Ca^{2+} ausgeschieden. Die Ausscheidung über die Haut ist sehr gering und beträgt etwa 20-50 mg pro Tag. (16) Die Niere ist das wichtigste Ausscheidungsorgan im Ca^{2+} -Metabolismus. Über das Nephron werden täglich etwa 150-450 mg Ca^{2+} ausgeschieden. (10) Im Glomerulus kann nur freies, ungebundenes Ca^{2+} die dünne Glomerulus-Membran passieren. Somit werden nur 50 % des Serum- Ca^{2+} an den Primärharn abgegeben.

Ein Großteil des Ca^{2+} im Primärharn wird im Proximalen Tubulus (PT), im dicken ascendierenden Schenkel der Henle-Schleife (TAL) und in der Pars convoluta des Distalen Tubulus (DCT) wieder resorbiert. (17) Abbildung 1 zeigt eine schematische Darstellung der renalen Ca^{2+} -Ausscheidung im Nephron.

2.1.3.1 Proximaler Tubulus

60 bis 70% des Ca^{2+} im Primärharn werden im gewundenen Teil des proximalen Tubulus resorbiert. Der größte Anteil davon wird durch Diffusion und den Konzentrations-Gradient passiv und parazellulär resorbiert, ein kleinerer Anteil wird aktiv apikal mit dem elektrochemischen Gradienten über Ca^{2+} -Kanäle und basolateral energieabhängig über eine Ca^{2+} -ATPase und Na^+/K^+ -Austauscher resorbiert. (17) Die parazelluläre Permeabilität im proximalen Tubulus wird durch Claudine und andere Tight-junction-Membranproteine reguliert. Eine wichtige Funktion hat in diesem Zusammenhang Claudin 2, dessen Expression sich hauptsächlich auf den proximalen Tubulus beschränkt. (18)

2.1.3.2 Dicker ascendierender Schenkel der Henle-Schleife (TAL)

Im dicken ascendierenden Schenkel der Henle-Schleife wird Ca^{2+} zum größten Teil passiv, parazellulär resorbiert, wobei dieser Vorgang hauptsächlich im kortikalen Segment des TAL stattfindet. (17) Dieser Vorgang wird durch eine positive luminale Spannung angetrieben, die durch den luminalen Transport von K^+ über ROMK-Kanäle (**R**enal **O**uter **M**edullary **P**otassium [K^+] channel) aufgebaut wird. Neben der Eigenschaft, eine Spannung im TAL aufzubauen, hat der luminal Transport von K^+ die Aufgabe, K^+ für Na-K-2Cl-Kotransporter bereitzustellen. (19) Schleifendiuretika, wie zum Beispiel Furosemid, heben durch die Hemmung von Na-K-2Cl-Kotransportern diese positive luminale Spannung im TAL auf und inhibieren dadurch auch den Rücktransport von Ca^{2+} . (20)

PTH, Calcitonin und einige andere Hormone stimulieren durch eine cAMP-Akkumulation die Aktivität von Na-K-2Cl-Kotransportern und erhöhen dadurch die positive luminalen Spannung, was zu einer erhöhten Resorption von Ca^{2+} führt. (20)

2.1.3.3 Distaler Tubulus

In der Pars convoluta des distalen Tubulus, im Verbindungstubulus und im kortikalen Teil des Sammelrohrs werden 8 – 10% des gefilterten Ca^{2+} resorbiert. (21) Auf Grund der geringen intraluminalen Konzentration von Ca^{2+} und der negativen luminalen Spannung im DCT läuft in diesem Abschnitt die Ca^{2+} -Resorption als rein aktiver, transzellulärer Prozess ab. (22) Apikal findet der Ca^{2+} -Transport über TRPV5 (transient receptor potential vanilloid 5) statt. (23) Innerhalb der Zelle bindet Ca^{2+} an das Ca^{2+} -bindende Protein Calbindin-D28K (CB) und wird basolateral über eine ATP-abhängige Ca^{2+} -ATPase, PMCA1 (Plasma membrane Ca^{2+} -ATPase 1) und den $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher NCX1 an das Blut abgegeben. (24)

Diese Teile des Nephrons sind Angriffsort für die Regulierung der Ca^{2+} -Absorption durch PTH und 1,25-Dihydroxyvitamin D. PTH stimuliert die renale Ca^{2+} -Absorption durch eine gesteigerte Expression des transzellulären Ca^{2+} -Transportproteins TRPV5. Der dadurch vermehrte Ca^{2+} -Einstrom führt wiederum zu einer gesteigerten Expression der nachgeschalteten Transportproteine CB und PMCA1. Somit erhält TRPV5 die Funktion als Gatekeeper in diesem Prozess. (25)

Die wichtige regulative Funktion von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D_3 im aktiven Ca^{2+} -Transport konnte an Hand von Studien mit 1α -Hydroxylase-Knockout-Mäusen aufgezeigt werden, in welchen die Hydroxylierung von Calcifediol zu Calcitriol inaktiviert wurde. In 1α -OHase^{-/-}-Mäusen wurde eine verminderte Expression von renalen Ca^{2+} -Transport-Proteinen gemessen und somit die wichtige regulative Rolle von $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ bewiesen. (26,27)

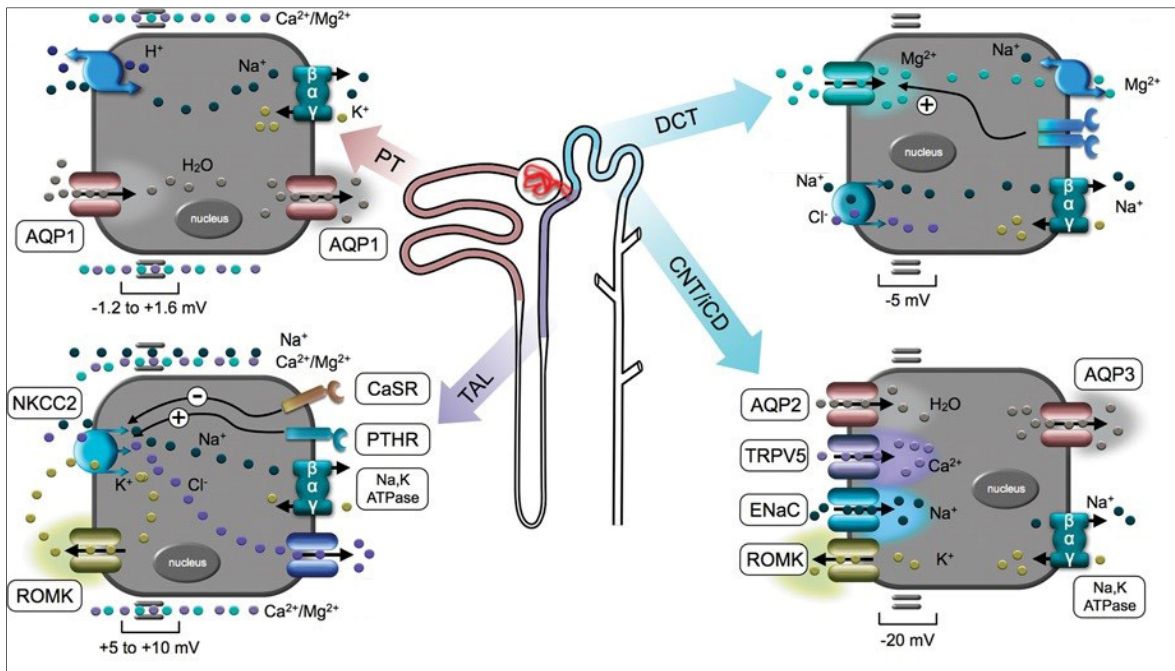


Abbildung 1: Schematische Darstellung des renalen Wasser- und Ionentransports im Nephron; Abkürzungen: Tubulussegmente: PT = proximaler Tubulus, TAL = dicker ascendierender Schenkel der Henleschleife, DCT = Pars convoluta des distalen Tubulus, CNT = Verbindungs-Tubulus, CD = Sammelrohr, **Transporter:** AQP = Aquaporin, NKCC2 = Natrium-Kalium-2-Chlorid-Kotransporter, ROMK = Kalium-Kanal des äußeren Nierenmarks, TRPV5 = transient receptor potential vanilloid 5, ENaC = epitheliale Natriumkanäle, **Rezeptoren:** CaSR = Calcium sensing receptor, PTHR = Parathormonrezeptor (22)

2.1.3.4 Der Calcium-sensing Receptor (CaSR)

Der CaSR ist ein G-Protein-gekoppelter Rezeptor, an dem Ca^{2+} als primärer Messenger bindet und dadurch viele verschiedene zelluläre Prozesse reguliert. Einige dieser Prozesse sind von großer Bedeutung in der Aufrechterhaltung der Ca^{2+} -Homöostase. Der CaSR reguliert jedoch auch Prozesse, die nicht in die systemische Ca^{2+} -Homöostase involviert sind. Auf Grund dieses breiten Funktionsprofils wurde der CaSR bereits in vielen verschiedenen Zellen lokalisiert. So sind zum Beispiel die Hauptzellen der Nebenschilddrüse, Zellen des gesamten Nephrons, Osteoblasten und -klasten und Zellen des Intestinal-Traktes Funktionsorte, in welchen der CaSR eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung der Ca^{2+} -Homöostase spielt. Darüber hinaus wurde der CaSR auch in Neuronen und Gliazellen, in Zellen der Hypophyse, in Epithelzellen der Linse im Auge, in Keratinozyten, in Zellen im Knochenmark und im peripheren Blut, in dukталen Brustzellen und in vielen anderen Zellen gefunden, die keinen großen Einfluss auf die Regulierung der systemischen Ca^{2+} -Homöostase haben. Die Funktionen des CaSR in diesen Zellen sind sehr vielfältig und umfassen die Regulation verschiedener Zellprozesse sowie die Stimulation und Hemmung von Hormonsekretion, Proliferation, Differenzierung und Apoptose,

Chemotaxis, In- und Aktivierung von Transportkanälen oder Genexpression. Der CaSR könnte vermutlich als neuer therapeutischer Angriffspunkt bei verschiedenen Erkrankungen fungieren und bedarf noch eingehender Untersuchungen. (11)

Bereits gut erforscht ist die Funktion des CaSR in der Regulierung der Sekretion von PTH und Calcitonin. Die Feedback-Regulierung dieser Hormone durch Ca^{2+} ist ein wichtiger Regulationsmechanismus in der Ca^{2+} -Homöostase. (28,29)

Im Nephron ist der CaSR ein wichtiger Bestandteil der Regulierung der Ca^{2+} -Konzentration im Urin und hat auf diese Weise großen Einfluss auf die Ca^{2+} -Balance. Der CaSR kann in allen Segmenten des Nephrons gefunden werden und interagiert auf unterschiedliche Weise mit Transportern im Tubulussystem. (11)

Auch in Zellen der Gefäßwand konnte man den CaSR bereits finden. In diesem Zusammenhang wird ihm eine große Rolle in der Regulierung des arteriellen Tonus, des peripheren Widerstandes und möglicherweise auch in der lokalen Durchblutung von Geweben zugesprochen. Im Kapitel 2.3.3 wird auf diesen Zusammenhang noch eingehender eingegangen. (4)

2.1.4 Einflussfaktoren der renalen Kalzium-Ausscheidung

Die Regulation der Ca^{2+} -Ausscheidung durch kalziotrope Hormone wurde bereits ausführlich beschrieben. Im folgenden Kapitel möchte ich weitere Faktoren, wie Volumen, Diuretika und nicht-kalziotrope Hormone, beschreiben, die die renale Ca^{2+} -Ausscheidung beeinflussen.

2.1.4.1 Natrium

Die Aufnahme von Natriumchlorid hat einen bedeutenden Einfluss auf die renale Ca^{2+} -Ausscheidung. Einerseits führt die Aufnahme von NaCl zu einer Volumenexpansion und könnte somit zu einer erhöhten Ca^{2+} -Ausscheidung führen, andererseits könnte die Ursache auch ein konkurrierendes Verhalten von Ca^{2+} und Na^+ in der renalen Rückresorption sein. Aktuelle Studien zeigen eine verminderte Expression von Claudin-2-Proteinen und eine erhöhte Expression von TRPV5, CB und NCX1 bei einer chronisch erhöhten NaCl Diät. Eine verminderte Expression von Claudin-2-Proteinen könnte teilweise für eine verminderte Ca^{2+} Rückresorption im proximalen Tubulus verantwortlich sein. Eine Hochregulierung der Ca^{2+} -Transportproteine im DCT könnte eine physiologische Antwort sein, um den Ca^{2+} -Verlust auszugleichen. Jedoch dürfte dieser Kompensationsmechanismus nicht ausreichen, um die renale Ca^{2+} -Konzentration auf Normwerte zu senken. (30)

2.1.4.2 Diuretika

Da der renale Ca^{2+} -Transport eng an den renalen Na^+ -Transport gekoppelt ist, haben auch Diuretika einen großen Einfluss auf die Ca^{2+} -Ausscheidung. Schleifendiuretika inhibieren, wie bereits beschrieben, den Na-K-2Cl-Transporter im TAL, heben dadurch die positive Spannung im TAL auf, inhibieren die Ca^{2+} -Rückresorption und erhöhen die Ca^{2+} -Ausscheidung. (31)

Thiazid-Diuretika blockieren den Thiazid-sensitiven NaCl-Transporter im DCT und können somit die Ca^{2+} -Ausscheidung verringern. Ursprünglich wurde angenommen, dass der hypokalziurische Effekt von Thiazid-Diuretika durch eine direkte Stimulierung der Ca^{2+} -Resorption im DCT verursacht wird. Nijenhuis et al (32) konnten jedoch mit Hilfe von TRPV5-Knockout-Mäusen beweisen, dass nicht der aktive Ca^{2+} -Transport im DCT, sondern ein erhöhter passiver Ca^{2+} -Transport im PT Ursache für die Thiazid-induzierte Hypokalziurie darstellt. Micropuncture-Studien zeigten eine erhöhte Ca^{2+} - und Na^+ -Rückresorption im PT. Der Thiazid-induzierte Salz- und Wasserverlust vermindert das extrazelluläre Volumen, was wiederum zu einer erhöhten kompensatorischen Na^+ -Rückresorption führt. Dadurch erhöht sich der elektrochemische Gradient im PT und die passive Ca^{2+} -Resorption wird induziert. Thiazid-Diuretika werden aus diesem Grund auch in der Therapie der Urolithiasis verwendet. (31)

Carboanhydrase-Hemmer vermindern die Absorption von Bikarbonat im PT und verursachen dadurch eine metabolische Azidose, welche eine Ca^{2+} -Ausscheidung erhöhen kann. Die Anwendung von Carboanhydrase-Hemmern kann dadurch Nephrokalzinose und Nephrolithiasis begünstigen. (31)

Auch K^+ -sparende Diuretika, wie Amilorid, beeinflussen die Ca^{2+} -Ausscheidung. Amilorid hemmt epitheliale Na^+ -Kanäle (ENaC) im DCT und führt dadurch zu einer verminderten Na^+ -Rückresorption. Zusätzlich führt Amilorid jedoch auch zu einer vermehrten Ca^{2+} -Rückresorption. Die Ursache dieser vermehrten Ca^{2+} -Rückresorption wurde in den letzten Jahren viel diskutiert. Eine mögliche Erklärung ist, dass der verminderte Na^+ -Einstrom zu einer Hyperpolarisation der Zelle führt, welche apikale spannungsabhängige Ca^{2+} -Kanäle aktiviert und somit den apikalen Ca^{2+} -Einstrom in die Zelle erhöht. Zusätzlich könnte eine Hyperpolarisation der Zelle auch den basolateralen $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher NCX1 aktivieren und auf diese Weise eine erhöhte Ca^{2+} -Rückresorption induzieren. (33)

2.1.4.3 pH-Wert

Auch der Säure-Basen-Haushalt spielt eine bedeutende Rolle bei der renalen Ca^{2+} -Ausscheidung. Sowohl eine systemische Azidose als auch eine lokale Ansäuerung des Harns vermindern die Expression und Aktivität von TRPV5 und erhöhen dadurch die Ca^{2+} -Ausscheidung. (34)

Eine besondere Bedeutung hat der Säure-Basen-Haushalt auch in der Pathophysiologie der Ca^{2+} -Oxalat-Steine, die durch eine Hyperkalziurie und alkalischen Harn begünstigt werden. Um eine Entstehung von Ca^{2+} -Oxalat-Steinen zu verhindern, existieren jedoch einige Feedbackmechanismen im Nephron. So kann zum Beispiel eine erhöhte Ca^{2+} -Ausscheidung den CaSR im CD stimulieren, was mit einer erhöhten Aktivität der H^+ -ATPase in Zusammenhang steht und somit zu einer Ansäuerung des Harns führt. Im Kapitel 2.1.5 wird noch weiter im Detail auf Gegenregulationsmechanismen zur Verhinderung von Urolithiasis eingegangen. (34)

2.1.5 Hyperkalziurie und Urolithiasis

Von einer Hyperkalziurie spricht man bei einer täglichen Ca^{2+} -Ausscheidung von > 300 mg bei Männern und von > 250 mg bei Frauen, beziehungsweise bei $> 0,1$ mmol/kg Körpergewicht. Jedoch kann die tägliche Ca^{2+} -Ausscheidung bei Männern und Frauen zwischen 50 mg und 500 mg stark schwanken, ohne dass diese als pathologisch anzusehen ist. Für eine aussagekräftige Diagnostik der Hyperkalziurie bedarf es wiederholter Messungen der Ca^{2+} -Ausscheidung mit überhöhten Werten. (35)

Eine Hyperkalziurie wird durch eine erhöhte intestinale Ca^{2+} -Resorption, eine gesteigerte ossäre Ca^{2+} -Freisetzung oder eine verminderte tubuläre Ca^{2+} -Rückresorption verursacht. Eine erhöhte intestinale Ca^{2+} -Resorption kann durch Erkrankungen wie das Milch-Alkali-Syndrom, durch eine Vitamin-D-Hypervitaminose oder eine übermäßige diätische Ca^{2+} -Zufuhr hervorgerufen werden. Eine gesteigerte ossäre Ca^{2+} -Freisetzung ist eine der Hauptursachen für eine Hyperkalziurie und ist meist tumorindiziert oder durch einen primären Hyperparathyreoidismus bedingt. Renale Ursache für eine erhöhte Ca^{2+} -Ausscheidung kann eine verminderte Ca^{2+} -Rückresorption durch dysfunktionale Transporter sein. Aber auch Zustände, die eine Ca^{2+} -Rückresorption hemmen, wie zum Beispiel eine chronische Azidose, Volumenmangel oder die Gabe von Schleifendiuretika, führen zu einer Hyperkalziurie. Die häufigste Ursache der Hyperkalziurie ist jedoch die idiopathische Hyperkalziurie. (35)

Einer idiopathischen Hyperkalziurie unterliegen mehrere pathophysiologische Ursachen, welche jedoch noch teilweise unbekannt sind. Sie inkludieren eine erhöhte intestinale Ca^{2+} -Aufnahme (absorptive Hyperkalziurie), eine verminderte renale tubuläre Ca^{2+} -Rückresorption („renal leak“ Hyperkalziurie) und eine erhöhte Mobilisation von Ca^{2+} aus dem Knochen (resorptive Hyperkalziurie). Die idiopathische absorptive Hyperkalziurie teilt man in zwei Subtypen: Kalzitriol-abhängig und nicht-Kalzitriol-abhängig. Die Ursache für eine erhöhte Kalzitriol-Produktion bei PatientInnen mit absorptiver Hyperkalziurie ist noch nicht vollständig geklärt. Wichtige Hauptregulatoren der Kalzitriol-Synthese, wie PTH oder eine Reduktion der Serumphosphor-Konzentration, der maximalen tubulären Reabsorptionsrate von Phosphat und der glomerulären Filtrationsrate waren bei idiopathischer absorptiver Hyperkalziurie nicht zu beobachten. Trotzdem wird in aktuellen Studien ein primärer Defekt in der renalen tubulären Reabsorption von Phosphat als Ursache für eine absorptive Hyperkalziurie diskutiert. Auch der pathophysiologische Mechanismus der „renal leak“ Hyperkalziurie ist noch nicht zur Gänze bekannt. Eine mögliche Ursache für die „renal leak“ Hyperkalziurie könnte in Verbindung mit Hyperinsulinämie und dem metabolischen Syndrom stehen. Weitere Hypothesen für die pathophysiologischen Hintergründe der „renal leak“ Hyperkalziurie sind ein Defekt der Gen-Expression des CaSR und dessen Interaktion mit Vitamin D oder in der Expression von Claudin-14. Die resorptive Hyperkalziurie wird in eine PTH-abhängige und eine PTH-unabhängige Subgruppe eingeteilt. (36)

Hyperkalziurie ist der wichtigste Risikofaktor für die renale Steinbildung. Ca^{2+} kann, wenn es übersättigt in Urin vorliegt, an gelöste Substanzen im Harn, wie zum Beispiel Phosphat oder Oxalat, binden und ausfallen. Die häufigsten Nierensteine sind Ca^{2+} -Oxalat-Steine. Risikofaktoren für Nierensteine beinhalten genetische Prädisposition, Ernährungsgewohnheiten, Harnwegsinfektionen und Störungen der pH-Regulation. (37)

Der Körper hat einige Gegenregulationsmechanismen, die die Bildung von Nierensteinen verhindern. Eine wichtige Rolle spielt dabei der Ca^{2+} -Sensing-Receptor (CaSR) im Nephron, der durch eine erhöhte renale Ca^{2+} -Konzentration aktiviert wird. Im PT resultiert die Aktivierung des CaSR in einer verminderten Hemmung der Phosphat-Resorption, die durch PTH induziert wird. Die dadurch erhöhte Phosphat-Resorption führt zu einer verminderten Konzentration von Phosphat im Primärharn und verhindert somit die Ca^{2+} -Phosphat-Ausfällung. Im TAL ist der CaSR an der basolateralen Membran stark exprimiert und agiert als negativer Feedbackmechanismus des resorbierten Ca^{2+} . Dadurch verhindert der CaSR

eine zu hohe renale Ca^{2+} -Konzentration. Im CD ist der CaSR an der apikalen Membran lokalisiert und erhöht bei Aktivierung die H^+ -ATPase-Aktivität und verhindert auf diese Weise die Urolithiasis durch eine Ansäuerung des Urins. (38,39) Im Sammelrohr wird der CaSR durch eine erhöhte renale Ca^{2+} -Konzentration stimuliert und induziert eine verminderte Expression von Aquaporin-2-Kanälen, was wiederum zu einer erhöhten Diurese führt und eine Entstehung von Nierensteinen vermindert. (34)

2.2 Arterielle Gefäßsteifigkeit

Da in dieser Diplomarbeit der Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit diskutiert wird, möchte ich im folgenden Kapitel einen Überblick über die Ätiologie, Diagnostik und Folgen von Arteriosklerose präsentieren und besonders auf ihr enges Verhältnis zum Ca^{2+} -Metabolismus eingehen.

Arterielle Gefäßsteifigkeit beziehungsweise Arteriosklerose ist die häufigste Ursache für Mortalität und Morbidität in Industrieländern und ist eine Erkrankung, die auf Grund ihrer Epidemiologie in den letzten Jahrzehnten bereits ausführlich erforscht wurde. (40)

2.2.1 Ätiologie und Risikofaktoren

Arterielle Gefäßsteifigkeit resultiert aus strukturellen, aber auch funktionellen Veränderungen der Gefäßwände. Viele dieser Veränderungen, wie zum Beispiel Kalzifizierung und erhöhte Kollageneinlagerung in der Gefäßwand, kann man auch im „physiologischen“ Alterungsprozess von Arterien beobachten. Neben der natürlichen Alterung gibt es eine breite Palette an pathophysiologischen Ursachen für arterielle Gefäßsteifigkeit und es bestehen viele Risikofaktoren, wie zum Beispiel Nikotin, Diabetes mellitus, Dyslipidämie, arterielle Hypertonie, die eine Versteifung der Arterien begünstigen. (1)

Neben äußeren Einflussfaktoren nehmen auch genetische Faktoren, unabhängig von bekannten kardiovaskulären Risikofaktoren wie Alter und Bluthochdruck, mit einem Anteil von 23 - 50% Einfluss auf die Gefäßsteifigkeit. Diese genetische Komponente umfasst viele verschiedene pathophysiologische Mechanismen. In der vorliegenden Arbeit möchte ich mich jedoch auf jenen Anteil beschränken, der den Ca^{2+} -Metabolismus betrifft. Der Ca^{2+} -Metabolismus nimmt sowohl durch strukturelle als auch durch funktionelle Veränderungen Einfluss auf die arterielle Gefäßsteifigkeit. So kann zum Beispiel eine erhöhte Akkumulation von Ca^{2+} in der extrazellulären Matrix die Kalzifizierung von Gefäßen beschleunigen. Bei vaskulären Zellfunktionen und bei der Kontraktion von vaskulären glatten Muskelzellen spielt Ca^{2+} auch eine entscheidende Rolle. Beispiele dafür sind die Ca^{2+} -Transport-ATPase1 und Fetuin-A. Die Ca^{2+} -Transport-ATPase1, welche durch das ATP2B1-Gen codiert wird, transportiert Ca^{2+} aus der Zelle, um eine intrazelluläre Ca^{2+} -Homöostase aufrechtzuerhalten, und könnte dadurch an der Regulation des vaskulären Muskeltonus beteiligt sein. Jüngste Studien konnten einen Zusammenhang zwischen ATP2B1 und karotid-femoraler

Pulswellengeschwindigkeit (cf-PWV) bestätigen. Fetuin-A verhindert systemisch die Präzipitation von Ca^{2+} und PO_4^{3-} . Eine Studie mit Probanden mit normaler Nierenfunktion konnte einen negativen Zusammenhang zwischen Plasma-Fetuin-A und aortaler Pulswellengeschwindigkeit (PWV) aufzeigen. Jedoch wurde dieser Zusammenhang nur bei Männern gefunden. (3,41)

2.2.2 Diagnostische Parameter

In diesem Kapitel folgt ein kurzer Überblick über arterielle Hämodynamik und Gefäßelastizität, da sie eine wichtige Grundlage für das Verständnis der komplexen pathophysiologischen Grundlagen von arterieller Steifigkeit bilden. Im Anschluss werden signifikante diagnostische Parameter beschrieben, die für die Messung von arterieller Gefäßsteifigkeit bedeutend sind.

2.2.2.1 Arterielle Hämodynamik und Gefäßelastizität

Eine bedeutende Eigenschaft von Gefäßwänden ist die tangentielle Wandspannung, die durch den transmuralen Druck erzeugt wird und die eine Zugbelastung in zirkumferenzieller Richtung darstellt und von den Strukturelementen der Gefäßwand getragen werden muss. Die tangentielle Wandspannung σ ist abhängig von der Größe des transmuralen Drucks P_{tm} , der Wanddicke h und dem Innenradius r_i des Gefäßes. (6)

$$\sigma = \frac{P_{tm} * r_i}{h}$$

Formel 1: Tangentielle Wandspannung σ (6)

Wichtige Begriffe, um die elastischen Eigenschaften von Gefäßen beschreiben zu können, sind Volumenelastizitätskoeffizient und Compliance. Der Volumenelastizitätskoeffizient E' definiert sich durch das Verhältnis einer Druckänderung ΔP zur entsprechenden Volumenänderung ΔV . (6)

$$E' = \frac{\Delta P}{\Delta V}$$

Formel 2: Volumenelastizitätskoeffizient E' (6)

Den Volumenelastizitätskoeffizienten bezogen auf einen Gefäßabschnitt bezeichnet man als Volumenelastizitätsmodul κ . (6)

$$\kappa = \frac{\Delta P}{\Delta V} * V = E' * V$$

Formel 3: Volumenelastizitätsmodul κ (6)

Die Compliance C ist der Kehrwert des Volumenelastizitätskoeffizienten und beschreibt das Dehnungsverhalten von Gefäßen. Die Elastizität von Gefäßen ist ein entscheidender Faktor in der Wellengeschwindigkeit c, mit der sich Pulswellen über das Arteriensystem ausbreiten. Somit lässt sich durch Messung der Pulswellengeschwindigkeit c, die sich aus dem Volumenelastizitätsmodul κ und der Massendichte ρ errechnet, ein Rückschluss auf die Elastizität von Gefäßen ziehen. (6)

$$c = \sqrt{\frac{\kappa}{\rho}}$$

Formel 4: Wellengeschwindigkeit c (6)

2.2.2.2 Pulswellengeschwindigkeit

Die Pulswellengeschwindigkeit (PWV) ist der Goldstandard für die Messung von arterieller Gefäßsteifigkeit. Sie gibt Auskunft über das elastische Verhalten von Arterien und wird von Druck, Ort und Alter beeinflusst. In peripherer Richtung vermindert sich die Dehnbarkeit durch den Übergang von elastischen auf muskuläre Arterien und das Gefäßdicken-Radius-Verhältnis nimmt zu. Dadurch nimmt auch das Elastizitätsmodul zu und die PWV steigt in der Peripherie an. Aus diesem Grund liegt die PWV beim jugendlichen Menschen in der Aorta bei 4-6 m/s, in der Arteria femoralis bei circa 7 m/s und in der Arteria tibialis bei 9-10 m/s. Jedoch nicht nur die Lage der Arterie beeinflusst die PWV, sondern auch der Druck im Gefäß spielt eine wichtige Rolle. Da durch eine gesteigerte Dehnung des Gefäßes sich auch das Elastizitätsmodul erhöht, kommt es mit zunehmendem mittlerem Blutdruck zu einer gesteigerten PWV. Eine Zunahme des mittleren Blutdrucks von 10 mmHg entspricht einer Zunahme der PWV um 0,4 – 0,8 m/s. Ein weiterer Einflussfaktor der PWV ist das

Alter. Mit zunehmendem Alter kommt es zu einem Gefäßumbau der Arterienwand mit einer Abnahme an elastischem und einer Zunahme an kollagenem Gewebe. Daraus resultieren eine verminderte Dehnung der Gefäße und eine Zunahme der PWV. (6)

2.2.2.3 Pulswellen-Reflexion

Eine erhöhte Gefäßsteifigkeit führt neben einer erhöhten Pulswellengeschwindigkeit auch zu einer verstärkten peripheren Pulswellenreflexion. Die reflektierten Pulswellen erreichen die Aorta dadurch bereits in der späten Systole, was zu einem erhöhten spätsystolischen und einem verminderten diastolischen Blutdruck führt. Das Eintreffen der reflektierten Welle wird an der Druckkurve als Inflektionspunkt erkennbar. Durch das Zeitintervall zwischen Start der initialen antegraden Pulswelle und Eintreffen der peripheren reflektierten Welle kann die PWV und somit auch die Gefäßsteifigkeit berechnet werden.(42)

2.2.2.4 Augmentationsindex

Die Drucksteigerung, die durch Pulswellenreflexion vom Inflektionspunkt bis zum maximalen systolischen Blutdruck entsteht, nennt man Pressure Augmentation (AP). Den Anteil der AP am Pulsdruck, also an der Differenz zwischen systolischem und diastolischem Blutdruck, nennt man Augmentationsindex. (43) Die Berechnung des Augmentationsindex ist in Abbildung 2 grafisch dargestellt. (43,44) Da der Augmentationsindex nicht nur von der Gefäßsteifigkeit, sondern auch von anthropometrischen und hämodynamischen Parametern beeinflusst wird und sehr sensitiv auf Medikamentenwirkung reagiert, wird die PWV gegenüber dem Augmentationsindex als diagnostischer Parameter für Gefäßsteifigkeit bevorzugt. (45)

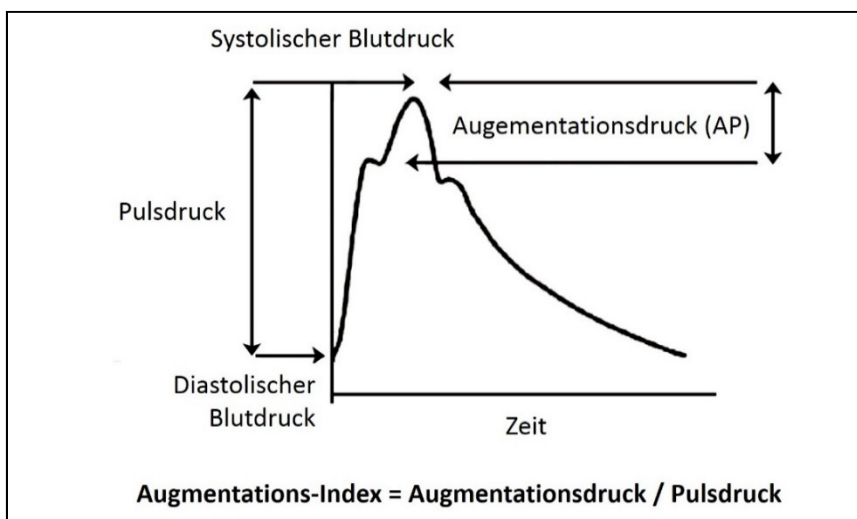


Abbildung 2: Zentrale Blutdruckkurve: Berechnung des Augmentationsindex basierend auf (44)

2.2.2.5 Ambulatory arterial stiffness index (AASI)

Der AASI wird mit Hilfe von Werten der 24-Stunden-Blutdruck-Messung berechnet und ist definiert als 1 minus der linearen Regressionskurve zwischen diastolischem und systolischem Blutdruck. Der AASI korreliert mit der PWV und hat einen prädiktiven Wert auf die kardiovaskuläre Mortalität, insbesondere in Bezug auf Schlaganfälle. Da der AASI einfach und kostengünstig erhoben werden kann, wird in wissenschaftlichen Kreisen diskutiert, ob der AASI im klinischen Alltag die Messung der PWV ersetzen könnte, um Rückschlüsse auf die Gefäßsteifigkeit von PatientInnen zu ziehen. Da der AASI jedoch sehr vom Gefäßwiderstand und der Herzfrequenz beeinflusst wird, wird nach aktuellen Studien von der Verwendung des AASI als Marker der Gefäßsteifigkeit abgeraten. (45,46)

2.3 Arterielle Gefäßsteifigkeit und renale Kalzium-Ausscheidung

In der vorliegenden Diplomarbeit möchte ich den Zusammenhang zwischen Kalziumausscheidung im Harn und Pulswellengeschwindigkeit evaluieren. Da die Pulswellengeschwindigkeit ein Indikator für kardiovaskuläre Erkrankungen ist und in vergangenen Jahren in wissenschaftlichen Kreisen eine Korrelation zwischen Ca^{2+} -Metabolismus und kardiovaskulären Risikofaktoren diskutiert wurde, möchte ich in diesem Kapitel auf diesen Zusammenhang näher eingehen. (47)

2.3.1 Urolithiasis und Hypertonie

Der Zusammenhang zwischen Urolithiasis und Hypertonie wurde bereits in vielen epidemiologischen Studien bestätigt, jedoch werden bis heute die zu Grunde liegenden pathophysiologischen Zusammenhänge noch nicht ausreichend verstanden. Es existieren allerdings verschiedene Hypothesen, die den epidemiologischen Zusammenhang zwischen Urolithiasis und Hypertonie erklären könnten. (2)

Hyperkalzurie

Eine Hypothese baut auf einer Studie von Borghi et al. auf, bei der eine erhöhte renale Ca^{2+} -Ausscheidung bei hypertensiven im Vergleich zu normotensiven PatientInnen festgestellt werden konnte. (48) Ursache für eine erhöhte Ca^{2+} -Ausscheidung könnte ein primärer tubulärer Defekt („renal calcium leak hypothesis“) oder der Effekt von Volumen-Expansion bei Hypertension („central blood volume“ hypothesis) sein. Eine weitere Erklärung wäre eine gemeinsame genetische Veränderung im Ca^{2+} -Metabolismus, die die Ursache für Urolithiasis als auch für Hypertension sein könnte. (2)

Insulin Resistenz

Eine weitere Hypothese sieht den gemeinsamen Faktor von Hypertension und Steinbildung im metabolischen Syndrom und begründet den gemeinsamen pathophysiologischen Mechanismus über den Vorgang der Insulin-Resistenz, die durch ihren Effekt auf tubulären Zell-Metabolismus und Ca^{2+} -Transport Urolithiasis begünstigen könnte. (49)

Chronische Nierenerkrankung

Auch Chronische Nierenerkrankungen werden häufiger bei hypertensiven PatientInnen und PatientInnen mit Urolithiasis beobachtet und könnten einer gemeinsamen Pathophysiologie zu Grunde liegen. (2)

Entzündung und Oxidativer Stress

Einen weiteren Zusammenhang zwischen Urolithiasis und kardiovaskulären Risikofaktoren könnten Entzündungen und Oxidativer Stress darstellen. Inflammatorische Prozesse können zu Vasokonstriktion und Ischämie führen und dadurch eine essentielle Hypertonie auslösen. Renale Sauerstoffradikale erhöhen die Renin-Ausschüttung, induzieren afferente Nerven, renale Vasokonstriktion, Proteinurie und glomeruläre Veränderungen. (50) Auch in der Pathogenese von Nierensteinen spielen Entzündungen und Oxidativer Stress eine wichtige Rolle und könnten somit den Zusammenhang zwischen Urolithiasis und Hypertonie erklären. (2)

2.3.2 Gefäßsteifigkeit und Ca^{2+} -Metabolismus

Eine mögliche Erklärung für den Zusammenhang zwischen Kalzium-Ausscheidung und Hypertonie ergibt sich aus der „ionischen Hypothese“ von Resnick im Jahr 1992, in der vaskuläre Zellen eine zentrale Rolle spielen. Diese besagt, dass die Stabilität von vaskulären Muskelzellen durch eine optimale intrazelluläre Ca^{2+} - und Mg^{2+} -Konzentration aufrechterhalten wird. Verringert sich die intrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration beziehungsweise erhöht sich die Mg^{2+} -Konzentration, kommt es zu einer Membran-Instabilität der vaskulären, glatten Muskelzellen und in Folge zu einer vermehrten Vasokonstriktion. Intrazelluläres Ca^{2+} steht in einem direkt proportionalen Zusammenhang mit Glukose und LDL-Cholesterin und verhält sich indirekt proportional zu Gewichtsverlust. Durch diese Zusammenhänge beschreibt Resnick in seiner ionischen Hypothese den Zusammenhang zwischen Hypertonie, Insulinresistenz und Diabetes mellitus Typ II als metabolisches Syndrom mit der zentralen Rolle von intrazellulärer Ca^{2+} -Konzentration, die als gemeinsamer Nenner fungiert. (51,52)

2.3.3 Der Calcium-sensing-receptor (CaSR) im Kardiovaskulären System

Als im Jahr 1993 die ersten Errungenschaften im Klonen des CaSRs gemacht wurden, stellten Bukoski et al. (53) die Hypothese auf, dass auch ein Rezeptor für extrazelluläres Ca^{2+} im perivaskulären Nervensystem lokalisiert ist und eine Aktivierung dieses Rezeptors durch extrazelluläres Ca^{2+} zu einer Freisetzung von vasodilatorischen Substanzen führt, welche eine Ca^{2+} -induzierte Relaxation vermitteln. CaSR-Protein wurde bei Ratten in mesenteralen Arterien und in perivaskulären Nerven nachgewiesen. CaSR-mRNA wurde auch in dorsalen Spinalganglien gefunden. Eine extrazelluläre Ca^{2+} -Konzentration von 1 – 1,25 mM oder höher verursacht eine Nerven-abhängige Relaxation der Arteriolen. Zusätzlich konnte nachgewiesen werden, dass eine Perfusion von Ca^{2+} auf der Oberfläche der Adventitia von Arteriolen eine vasodilatorische Substanz, vermutlich ein Cannabinoid, freisetzt. (4) Weston et al. konnten den CaSR auch in endothelialen Zellen der Koronararterien des Schweins nachweisen. Mit Hilfe von Mikroelektroden stimulierten sie isolierte Arterien mit extrazellulärem Ca^{2+} und Calindol, einem CaSR-Agonisten, und beobachteten dabei eine konzentrationsabhängige Hyperpolarisation von vaskulären Myozyten. Dieser Effekt wurde von Ca^{2+} -sensitiven K^+ -Kanal-Inhibitoren gehemmt. Diese Daten lassen vermuten, dass eine Aktivierung des vaskulären CaSR zu einer Öffnung von Ca^{2+} -sensitiven K^+ -Kanälen (IK_{Ca}) führt, auf welche eine Hyperpolarisation von Myozyten folgt. Zusätzlich konnte bewiesen werden, dass eine Expression von CaSR-Protein in endothelialen Zellen in Blutgefäßen von diabetischen Ratten vermindert war und dadurch auch zu einer verminderten Hyperpolarisation von Myozyten und zu einer Vasodilation führte. (4)

Im Jahr 2006 konnten Ziegelstein et al. CaSR-mRNA und -Protein auch in endothelialen Zellen der menschlichen Aorta finden. Eine Stimulierung des CaSR mit Hilfe des CaSR-Agonisten Spermin führte zu einem Anstieg des intrazellulären Ca^{2+} und einer erhöhten Produktion von Stickstoffmonoxid (NO). Basierend auf den Erkenntnissen dieser Studien kann abgeleitet werden, dass der CaSR eine wichtige Rolle in der Regulierung des vaskulären Tonus und des peripheren Widerstandes spielt. Abbildung 3 zeigt in einer schematischen Darstellung die Regulierung des vaskulären Tonus durch den CaSR. (4)

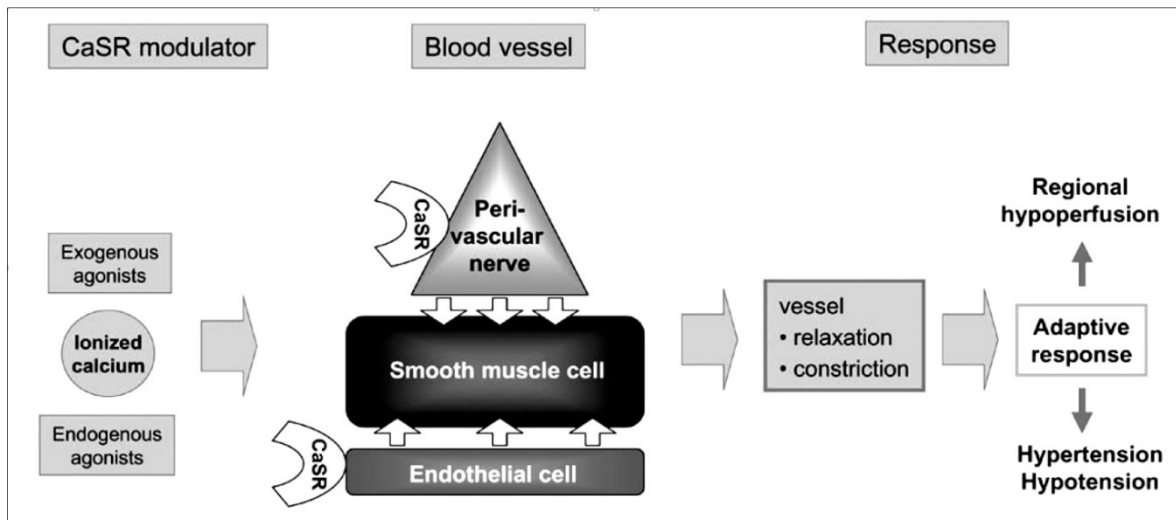


Abbildung 3: Der CaSR (= Calcium sensing receptor) reguliert den vaskulären Tonus (4)

Der CaSR ist auch in pathologische Vorgänge im kardiovaskulären System, so wie Atherosklerose, Arteriosklerose und vaskulärer Kalzifikation, involviert. Im inflammatorischen Prozess der Atherosklerose ist der CaSR in zwei entscheidende Mechanismen involviert. Einerseits stimulieren proinflammatorische Zytokine die endogene Transkription des CaSR-Gens und steigern dadurch die Expression von CaSR an der Zelloberfläche. Dadurch verstärkt sich die Antwort von Zellen auf extrazelluläres Ca^{2+} . Andererseits finden sich in der extrazellulären Flüssigkeit bei Verletzungen und Entzündungen erhöhte Ca^{2+} -Konzentrationen, welche Monozyten und Makrophagen anlocken. Auch in diesen Zellen wurde der CaSR nachgewiesen. Die Interaktion von Makrophagen mit Ca^{2+} -Phosphat-Kristallen induzierte eine Ausschüttung von proinflammatorischen Zytokinen, wie $\text{TNF}\alpha$, $\text{IL-1}\beta$ und IL-8 , was zu einer osteoblastischen Transformation von vaskulären glatten Muskelzellen und Arterien-Kalzifizierung führte. Auch in Fibroblasten wurde der CaSR nachgewiesen. In diesem Zusammenhang ist der CaSR auch in die Regulation von lokalem Ca^{2+} -Metabolismus und Entzündungen involviert und dadurch auch in die Progression von arterieller Fibrose und möglicherweise auch Kalzifikation eingebunden. (4)

Es wird vermutet, dass der CaSR durch diese Mechanismen entscheidend in vaskuläre Reparaturvorgänge eingebunden ist. Eine Aktivierung des CaSR in Zellen der Gefäßwand, also in Fibroblasten, vaskulären glatten Muskelzellen und Endothelzellen, führt zu Zellproliferation, Apoptose, Inflammation und Chemotaxis. Dadurch können Schäden verhindert und Reparaturvorgänge initiiert werden. Bleibt die Inflammation jedoch bestehen, erhöht sich die zelluläre CaSR-Expression, was zu einem Teufelskreislauf mit

Inflammation und Kalzifikation der Gefäße führt. Dieser Vorgang ist in Abbildung 4 dargestellt. (4)

Auch wenn die zu Grunde liegenden Mechanismen noch nicht ausreichend geklärt sind, deuten diese Erkenntnisse darauf hin, dass der CaSR eine entscheidende Rolle in der Pathogenese der Atherosklerose spielt. (4)

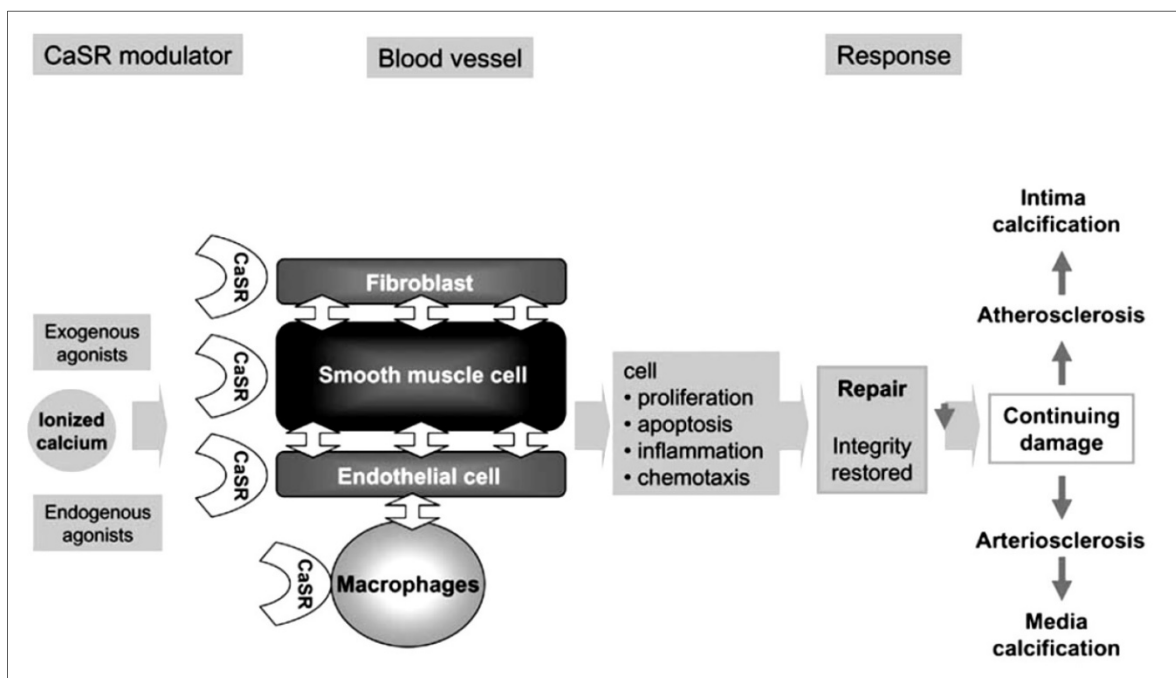


Abbildung 4: Der CaSR (= Calcium sensing receptor) in der Regulierung von vaskulären Reparaturvorgängen und in der Entstehung von Arteriosklerose, Atherosklerose und Kalzifikation der Gefäßwand (4)

2.3.4 Ca²⁺-Einnahme und Gefäßsteifigkeit

Ca²⁺-Supplementation ist eine häufig verwendete Maßnahme in der Prävention und Therapie von Osteoporose. Trotz seiner häufigen Anwendung zum Vorteil des Knochenstoffwechsels sind die gesundheitlichen Auswirkungen von Ca²⁺-Supplementation auf nicht-skelettale Körperfunktionen, wie zum Beispiel auf das Kardiovaskuläre System, noch relativ unbekannt. Der Effekt von Ca²⁺-Einnahme auf das Kardiovaskuläre System wird in wissenschaftlichen Kreisen sehr kontrovers diskutiert. Einige Studien zeigten bei Ca²⁺-Supplementation ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse, wie Myokardinfarkt, Schlaganfall und kardiovaskulär bedingte Todesfälle. Andere wiederum beobachteten einen protektiven Effekt von Ca²⁺-Einnahme auf kardiovaskuläre Erkrankungen. Auf Grund dieser kontroversen Diskussion sind weitere Studien notwendig, um die Auswirkungen von Ca²⁺-Supplementation auf das kardiovaskuläre System zu verstehen. (54)

3 Methoden

3.1 Studiendesign

Ziel der vorliegenden Studie ist die Untersuchung des Zusammenhangs zwischen Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Gefäßsteifigkeits-Parametern bei PatientInnen mit arteriellem Bluthochdruck. Es handelt sich um eine Querschnittsanalyse, die im Rahmen der Steirischen Vitamin D Bluthochdruck Studie durchgeführt wird. Die Ergebnisse dieser Studie sollen Erkenntnis über einen möglichen Zusammenhang zwischen Ca^{2+} -Metabolismus und Gefäßsteifigkeit schaffen, um bestehende Hypothesen zu validieren und neue zu generieren.

Die Steirische Vitamin D Bluthochdruckstudie ist eine monozentrische, doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie der Abteilung für Endokrinologie und Stoffwechsel an der Medizinischen Universität Graz, bei der die Auswirkungen von Vitamin D-Supplementierung bei hypertensiven PatientInnen mit niedrigem 25(OH)D-Level auf den 24-Stunden systolischen Blutdruck und das kardiovaskuläre Risiko untersucht wurden.

Die Steirische Vitamin D Bluthochdruckstudie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz, Österreich, genehmigt. Die Studie ist vereinbar mit der Deklaration von Helsinki (Oktober 2013) und den STROBE Guidelines in Bezug auf Querschnittsstudien. (55)

3.2 Studienpopulation

Für die vorliegende Studie wurden Querschnittsdaten von ProbandInnen der Steirischen Bluthochdruck Studie der 1. Visite analysiert. Im Zeitraum von Juni 2011 bis August 2014 wurden PatientInnen von der Ambulanz für Endokrinologie und Stoffwechsel an der Medizinischen Universität Graz rekrutiert, welche in der Anamnese einen Bluthochdruck angaben oder bei welchen ein bekannter Bluthochdruck in der Krankenakte dokumentiert war.

3.2.1 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien für alle StudienteilnehmerInnen war ein Alter ≥ 18 Jahren und ein diagnostizierter Hypertonus. Die Ausschlusskriterien umfassten ein akutes Koronarsyndrom

oder zerebrovaskuläres Ereignis in den letzten vier Wochen, Schwangerschaft, stillende Mütter und/oder eine geschätzte Lebenserwartung von weniger als einem Jahr, beurteilt durch einen Oberarzt / eine Oberärztin der Medizinischen Universität Graz.

3.3 Klinische Mess- und Labormethoden

Blutabnahmen wurden in der Früh zwischen 7:00 und 11:00 Uhr nach einer nächtlichen Fastenperiode und nach 10 Minuten in Ruhe durchgeführt. Alle Blutproben wurden innerhalb von 4 Stunden nach der Abnahme gemessen oder bei -20°C bis zur Messung gelagert. Nach der Blutabnahme wurden die ProbandInnen aufgefordert, eine Mittelstrahlharn-Probe abzugeben und danach unmittelbar mit der 24-Stunden-Harnsammlung zu starten.

Alle Messungen aus Blut- und Harnproben wurden im hauseigenen Labor der Klinik für Endokrinologie an der Medizinischen Universität Graz vorgenommen.

3.3.1 24-Stunden-Urin-Sammlung und Kalzium-Messung

Die StudienteilnehmerInnen führten die 24-Stunden-Urin-Sammlung selber durch und wurden vor der Sammlung darauf hingewiesen, eine Über- und Untersammlung zu vermeiden.

Vor der weiteren Verarbeitung wurden die Proben nach WHO-Richtlinien auf ihre Vollständigkeit validiert. Proben, die eine Kreatinin-Ratio von 10,8 bis 25,2 mg/d/kg bei Frauen oder von 14,4 bis 33,6 mg/dl/kg bei Männern aufwiesen, wurden als valide und vollständig angesehen und zu weiteren Analysen zugelassen. (5)

Die Proben wurden im klinischen Institut für Medizinische und Chemische Labordiagnostik der Medizinischen Universität Graz weiter verarbeitet. Quantitative photometrische Messungen von Ca^{2+} im 24-Stunden-Harn wurden an einem Cobas C 8000 Modular Analyser (Roche, Inc., Mannheim, Germany) mit Hilfe eines Calcium Gen.2 300 test kit (Mat.-No. 05061482; Roche, Inc., Mannheim, Germany) durchgeführt.

Die Schwankungsbreite des Variationskoeffizienten für die Wiederholung der Messungen innerhalb einer Messreihe reichte von 0,9% bei Ca^{2+} -Konzentrationen im Urin von 5,18 mmol/L bis hin zu 3,0% bei Ca^{2+} -Konzentrationen von 0,58 mmol/L. Die Schwankungsbreite des Variationskoeffizienten für die Wiederholung der Messungen zwischen den Messreihen reichte von 1,1% bei Ca^{2+} -Konzentrationen von 5,18 mmol/L bis

hin zu 3,1% bei Ca^{2+} -Konzentrationen von 0,58 mmol/L. Die untere Nachweisgrenze von Ca^{2+} im Urin war bei 0,2 mmol/L beziehungsweise 0,8 mg/dL.

3.3.2 Pulswellen-Analyse

Vor der Erhebung der Pulswellen-Analyse wurden Blutdruck, Größe und Gewicht der ProbandInnen gemessen. Die ProbandInnen befanden sich für mindestens 5 Minuten in Rückenlage in einem Raum mit standardisierter Temperatur, bevor die Pulswellen-Analyse durchgeführt wurde.

Die PWV wurde karotid-femoral und karotid-radial durch EKG-synchronisierte Applanationstonometrie mit einem Millar-Transducer und dem SphygmoCor PWV Analysis CM System (AtCor Medical Pty. Ltd., Sydney, Australia. Software version 7.0) gemessen. Das SphygmoCor® System wurde bekannt, da es anhand der Messung von peripheren Pulswellen mit Hilfe einer integralen Transferfunktion die zentrale Pulswelle berechnen kann und dadurch non-invasiv der zentrale Blutdruck und der Augmentationsindex erhoben werden können. (56) Das SphygmoCor® System ist bereits in großen klinischen Studien verwendet worden. (57)

Für die Berechnung der PWV wurde die Distanz, die von der Pulswelle durchlaufen wird, mit Hilfe eines Messbandes gemessen und eingegeben. Da die Pulswelle ab dem Truncus brachiocephalicus in unterschiedliche Richtungen verläuft, kommt es bei der direkten Messung der PWV zu einer systematischen Überschätzung. Um diesen Fehler zu korrigieren, wurde die Distanz, die von der Pulswelle durchlaufen wird, als Differenz zwischen der Distanz von der Fossa jugularis sternalis zum radialen oder femoralen Messpunkt (in Abbildung 5 als S-F bezeichnet) und der Distanz von der Fossa jugularis sternalis zu den Karotiden (in Abbildung 5 als C-S bezeichnet) bestimmt. Es ergibt sich somit folgende Formel für die PWV mit korrigierter Distanz: $\text{PWV} = (\text{S-F} - \text{C-S}) / \Delta t$, welche in Abbildung 5 zum besseren Verständnis grafisch dargestellt wird. (58)

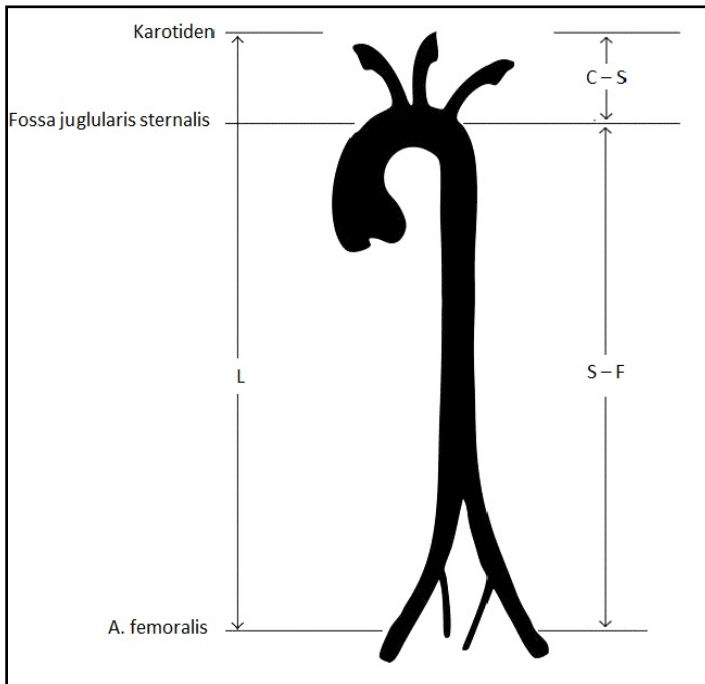


Abbildung 5: Messung der Distanz, die von der Pulsquelle durchlaufen wird; Abkürzungen: L: direkte Distanz; C-S: Distanz von Fossa jugularis sternalis zu den Karotiden; S-F: Distanz von der Fossa jugularis sternalis zur Arteria femoralis; Nicht korrigierte Distanz: $PWV=L/\Delta t$; Korrigierte Distanz: $PWV=(S-F - C-S)/\Delta t$ (58)

Die Druckkurven wurden an zwei Positionen hintereinander gemessen, zuerst radial oder femoral und darauffolgend an den Karotiden. Die Daten wurden direkt in einen portablen Minicomputer übertragen und noch während der Messung bewertet, um eine bestmögliche Aufnahme zu gewährleisten und Artefakte durch Bewegungen zu minimieren. Nach der Aufnahme von 20 aufeinanderfolgenden Pulswellen wurden mit Hilfe einer integralen Transferfunktion eine durchschnittliche periphere und eine korrespondierende zentrale Pulsquelle errechnet, welche für weitere Analysen verwendet wurden. (56)

Für die weitere statistische Auswertung wurden die Messdaten der femoral-radial gemessenen PWV (brachiale PWV) ausgeschlossen und nur femoral-karotid gemessene PWV (aortale PWV) verwendet, da diese besser mit der arteriellen Kalzifizierung korreliert und einen stärkeren Zusammenhang zu kardiovaskulären Ereignissen und der allgemeinen Gesamtmortalität hat. (59,60)

Zusätzlich zur PWV wurden weitere Parameter der Gefäßsteifigkeit, wie peripherer und zentraler Augmentationsindex, berechnet. Auch diese Parameter wurden wie die PWV mit EKG-synchronisierter Applanationstonometrie mit einem Millar-Transducer und mit dem SphygmoCor PWV Analysis CM System (AtCor Medical Pty. Ltd., Sydney, Australia. Software version 7.0) gemessen und berechnet.

3.4 Statistische Analysen

Die statistischen Analysen der vorliegenden Diplomarbeit wurden mit dem Statistik-Programm IBM Statistics SPSS 21.0 (SPSS®, IBM, Armonk, United States) durchgeführt. Bei allen Berechnungen wurde ein Signifikanzniveau von 5% angenommen.

Mit Hilfe der deskriptiven Statistik wurden die Basischarakteristika der Studienpopulation ermittelt. Zusätzlich wurden die Basischarakteristika von Untergruppen unterteilt in Ca^{2+} -Konzentration von $\leq 2,00$ mmol/l und bei der anderen Gruppe von $> 2,00$ mmol/l im 24-Stunden-Harn berechnet. Weiters wurde die prozentuelle Medikamenteneinnahme der Studienpopulation berechnet. Stetige Werte wurden als Mittelwert mit Standardabweichung oder Median mit Interquartilbereich (25. bis 75. Perzentile) angegeben, absolute Werte wurden in Prozenten dargestellt.

Um eine Anwendung von parametrischen Tests zu gewährleisten, wurden die Daten mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Tests und Histogrammen auf Normalverteilung überprüft. Nicht normal verteilte Daten wurden vor der Anwendung in parametrischen Tests \log_{10} logarithmiert. Gruppenvergleiche wurden je nach Normalverteilung mittels analysis of variance (ANOVA), Kruskal-Wallis- oder Chi^2 -Tests durchgeführt.

Der Zusammenhang von renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit beziehungsweise weiteren Parametern der Gefäßsteifigkeit wurde durch die Korrelation nach Pearson berechnet. Um den Einfluss potentieller Confounder auf den Zusammenhang zwischen Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit zu überprüfen, wurde eine lineare Regressionsanalyse durchgeführt. Dabei wurde die PWV als abhängige Variable herangezogen und als Confounder wurden Alter, GFR und Geschlecht gewählt. Aus Rücksicht auf ein mögliches Overadjustment wurde keine Adjustierung auf Blutdruck, Herzfrequenz und BMI gemacht, da diese Parameter bereits Einfluss auf die Berechnung der PWV haben.

Um den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit weiter zu betrachten, wurden als Surrogatparameter der Gefäßsteifigkeit zusätzlich peripherer und zentraler Augmentationsindex im Zusammenhang mit der Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn mittels Korrelationsberechnung nach Pearson geprüft.

4 Ergebnisse

4.1 Deskriptive Statistik

Für die vorliegende Studie wurden 87 ProbandInnen mit Hypertonie eingeschlossen, bei welchen eine valide 24-Stunden-Harnsammlung und eine valide Messung der carotid-femorale Pulswellengeschwindigkeit vorgenommen wurden. Das durchschnittliche Alter der StudienteilnehmerInnen lag bei 60,0 Jahren, der Anteil an Frauen bei 52%. Der Mittelwert der Pulswellengeschwindigkeit lag bei $8,5 \pm 1,57$ m/sec und die durchschnittliche Kalzium-Konzentration im 24-Stunden-Harn betrug $2,52 \text{ mmol/l} \pm 2,16$. Weitere Basisdaten der Studienpopulation sind in Tabelle 1 zusammengefasst.

Variablen	M	σ
Alter (Jahre)	60,0	$\pm 9,8$
Frauen (%)	52	
BMI (kg/m^2)	27,7	$\pm 3,6$
Diabetes mellitus (%)	10	
Kalzium Supplementierung (%)	5	
Vitamin D Supplementierung (%)	5	
Office SBP (mmHg)	139,4	$\pm 18,7$
Office DBP (mmHg)	85,0	$\pm 9,5$
24-Stunden SBP (mmHg)	126,2	$\pm 10,8$
24-Stunden DBP (mmHg)	76,3	$\pm 7,2$
Mittlere Herzfrequenz in der 24-Stunden-Blutdruck-Messung (bpm)	70,2	$\pm 8,4$
Pulswellengeschwindigkeit (m/sec)	8,50	$\pm 1,57$
GFR (ml/min)	81,91	$\pm 16,01$
Serum-Natrium (mmol/L)	142,0	$\pm 2,4$
Gesamt-Serum-Kalzium (mmol/L)	2,40	$\pm 0,09$
Serum-Phosphat (mmol/L)	0,97	$\pm 0,17$
Gesamt-Cholesterol (mg/dl)	208,8	$\pm 54,5$
HDL (mg/dl)	62,8	$\pm 20,6$

LDL (mg/dl)	119,3	± 35,8
Triglyceride (mg/dl)	112,9	± 64,8
Gesamt-Serum-Protein (g/dl)	7,3	± 0,3
Serum-Albumin (g/dl)	4,5	± 0,3
24-Stunden renale Kalzium-Konzentration (mmol/l)	2,52	± 2,16
Berechnete 24-Stunden renale Natrium-Konzentration (mmol/24h)	159,95	± 62,10

Tabelle 1: Basisdaten der Studienpopulation; Fallzahl = 87, Stetige Werte wurden als Mittelwert ± Standardabweichung angegeben, absolute Werte sind in Prozenten angezeigt; Abkürzungen: M = Mittelwert, σ = Standardabweichung; SBP = Systolischer Blutdruck, DBP = Diastolischer Blutdruck, GFR = Glomeruläre Filtrationsrate, HDL = High density Lipoprotein, LDL = Low density Lipoprotein

Weiters wurde die prozentuelle Medikamenteneinnahme der Studienpopulation berechnet. Hervorzuheben ist diesbezüglich eine Einnahme von Diuretika bei 39 % und Statinen bei 25 % der Studienpopulation. Eine detaillierte Aufschlüsselung der Medikamenteneinnahme ist in Tabelle 2 abgebildet.

Variablen	M
Betablocker (%)	47
ACE-Hemmer (%)	38
AT1-Rezeptor-Antagonisten (%)	23
Kalzium-Kanal-Blocker (%)	17
Diuretikum (%)	39
Aldosteron-Antagonist (%)	1
Renin-Hemmer (%)	0
Schleifendiuretikum (%)	1
Thiazid-Diuretikum (%)	39
Kalium-sparendes Diuretikum (%)	2
Statin (%)	25
Metformin (%)	7
Insulin (%)	5

Tabelle 2: Medikamenteneinnahme der Studienpopulation; alle Werte sind absolut und in Prozenten angezeigt, Abkürzungen: M = Mittelwert

Für die weitere Analyse wurde die Studienpopulation mit Hilfe des Medians der Kalzium-Konzentration im 24-Stunden-Harn in zwei Gruppen unterteilt, wobei bei einer Gruppe eine Kalzium-Konzentration von $\leq 2,00$ mmol/l und bei der anderen Gruppe von $> 2,00$ mmol/l im 24-Stunden-Harn gemessen wurde. Anhand dieser Gruppeneinteilung wurden die Charakteristika der Studienpopulation berechnet und in Tabelle 3 zusammengefasst. Durchschnittliches Alter, BMI und Pulswellengeschwindigkeit zeigten sich bei der Gruppe mit $\leq 2,00$ mmol/l Ca^{2+} -Konzentration mit Mittelwerten von $62,1 \pm 8,8$ Jahren, $27,7 \pm 3,1$ kg/m^2 und $8,87 \pm 1,70$ m/sec, und bei der zweiten Gruppe mit Mittelwerten von $57,5 \pm 10,4$ Jahren, $27,7 \pm 4,1$ kg/m^2 und $8,08 \pm 1,28$ m/sec.

Variablen	UCa $\leq 2,00$	UCa $> 2,00$
Fallzahl (N)	47	40
Alter (Jahre)	$62,1 \pm 8,8$	$57,5 \pm 10,4$
Frauen (%)	51	52
BMI (kg/m^2)	$27,7 \pm 3,1$	$27,7 \pm 4,1$
Diabetes mellitus (%)	11	10
Kalzium Supplementierung (%)	6	3
Vitamin D Supplementierung (%)	7	3
Office SBP (mmHg)	$141,8 \pm 22,2$	$136,7 \pm 13,2$
Office DBP (mmHg)	$84,3 \pm 10,5$	$85,8 \pm 8,3$
24-Stunden SBP (mmHg)	$125,3 \pm 12,5$	$127,4 \pm 8,4$
24-Stunden DBP (mmHg)	$74,7 \pm 7,00$	$78,1 \pm 7,0$
Mittlere Herzfrequenz in der 24-Stunden Blutdruck-Messung (bpm)	$69,5 \pm 7,7$	$71,0 \pm 9,1$
Pulswellengeschwindigkeit (m/sec)	$8,87 \pm 1,70$	$8,08 \pm 1,28$
GFR (ml/min)	$79,02 \pm 15,65$	$85,30 \pm 15,96$
Serum-Natrium (mmol/L)	142,0 (141,0 – 144,0)	142,0 (141,0 – 143,0)
Gesamt-Serum-Kalzium (mmol/L)	$2,38 \pm 0,08$	$2,41 \pm 0,11$
Serum-Phosphat (mmol/L)	1,01 (0,89 – 1,12)	0,95 (0,86 – 1,08)
Gesamt-Cholesterol (mg/dl)	214,0 (176,0 – 232,0)	205,0 (168,0 – 231,0)
HDL (mg/dl)	63,0 (47,0 – 78,0)	61,0 (48,3 – 72,0)

LDL (mg/dl)	117,2 ± 35,0	121,6 ± 36,9
Triglyceride (mg/dl)	90,0 (68,0 – 139,0)	101,0 (70,5 – 124,8)
Gesamt-Serum-Protein (g/dl)	7,3 ± 0,4	7,3 ± 0,3
Serum-Albumin (g/dl)	4,5 (4,3 – 4,6)	4,5 (4,4 – 4,7)
24-Stunden renale Kalzium-Konzentration (mmol/l)	1,19 ± 0,51	4,08 ± 2,32
Berechnete 24-Stunden renale Natrium-Konzentration (mmol/24h)	163,74 ± 60,74	155,49 ± 64,14

Tabelle 3: Basisdaten der Untergruppen: Untergruppen unterteilt in renale Kalzium-Konzentration im 24-Stunden-Harn $\leq 2,00$ mmol/l und $> 2,00$ mmol/l; Stetige Werte wurden als Mittelwert \pm Standardabweichung oder Median mit Interquartilbereich (25. und 75. Perzentile) angegeben, absolute Werte sind in Prozenten angezeigt; Abkürzungen: SBP = Systolischer Blutdruck, DBP = Diastolischer Blutdruck, GFR = Glomeruläre Filtrationsrate, HDL = High density Lipoprotein, LDL = Low density Lipoprotein

4.2 Assoziation von renaler Kalzium-Ausscheidung und Pulswellengeschwindigkeit

Der Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und PWV wurde mit Hilfe der Korrelation nach Pearson berechnet. Als abhängige Variable wurde dafür die Pulswellengeschwindigkeit gewählt. Die Berechnung der Korrelation nach Pearson zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Pulswellengeschwindigkeit ergab einen r-Wert von -0,247 und einen p-Wert von 0,021 (dargestellt in Tabelle 4).

		Pulswellengeschwindigkeit (m/sec)	24-Stunden renale Kalzium- Konzentration (mmol/l)
Pulswellengeschwindigkeit (m/sec)	r	1	- 0,247
	p	-	0,021
24-Stunden renale Kalzium- Konzentration (mmol/l)	r	- 0,247	1
	p	0,021	-

Tabelle 4: Korrelation nach Pearson 1; r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, $p < 0,05$ wurde als statistisch signifikant angesehen

Nach Adjustierung möglicher Confounder, wie GFR und Geschlecht, konnte der signifikante Zusammenhang in der linearen Regressionsanalyse jedoch nicht mehr aufrechterhalten werden. In der linearen Regressionsanalyse wurden die Pulswellengeschwindigkeit als abhängige Variable gewählt und die renale Kalziumausscheidung sowie potenzielle Confounder als unabhängige Variablen. Die Auswertung der Regressionsmodelle ist in Tabelle 5 dargestellt.

Lineare Regressionsmodelle	B	σ	β	p
Modell 1	- 0,14	0,06	- 0,25	0,02
Modell 2	- 0,07	0,06	- 0,11	0,29
Modell 3	-0,05	0,06	-0,09	0,36

Tabelle 5: Lineare Regressionsmodelle; Modell 1: UCa, Modell 2: Modell 1 + GFR, Modell 3: Modell 2 + Geschlecht; Abhängige Variable = Pulswellengeschwindigkeit; Abkürzungen: B = Regressionskoeffizient, σ = Standardfehler, β = Beta-Koeffizient, p = Signifikanzniveau

4.3 Assoziation von renaler Kalzium-Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit

Um den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit noch näher zu betrachten, wurden zusätzlich zur Pulswellengeschwindigkeit noch weitere Faktoren der Gefäßsteifigkeit mit der Korrelationsberechnung nach Pearson geprüft. Jedoch weder peripherer noch zentraler Augmentationsindex zeigten in der Berechnung der Korrelation nach Pearson, wie in Tabelle 6 dargestellt, einen signifikanten Zusammenhang zur renalen Ca^{2+} -Ausscheidung auf.

		PWV (m/sec)	24-h renale Ca^{2+} -Konz. (mmol/l)	Peripherer Augmen- tations- Index	Zentraler Augmen- tations- Index
Pulswellengeschwindigkeit (m/sec)	r	1	-0,25	-0,27	-0,27
	p	-	0,02	0,01	0,01
24-h renale Ca^{2+} - Konzentration (mmol/l)	r	-0,25	1	-0,01	-0,04
	p	0,02	-	0,95	0,74
Peripherer Augmentations- Index	r	-0,27	-0,01	1	0,96
	p	0,01	0,95	-	0,00
Zentraler Augmentations- Index	r	-0,27	-0,04	0,96	1
	p	0,01	0,74	0,00	-

Tabelle 6: Korrelation nach Pearson 2; r = Korrelationskoeffizient nach Pearson, p < 0,05 wurde als statistisch signifikant angesehen

5 Diskussion

In der vorliegenden Querschnittsstudie konnte ein Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit berechnet werden. Jedoch konnte dieser Zusammenhang mit einer multifaktoriellen Varianzanalyse nicht aufrechterhalten werden.

Zusätzlich wurde der Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit mit weiteren diagnostischen Parametern der Gefäßsteifigkeit, wie peripherer und zentraler Augmentationsindex, überprüft. In diesen Berechnungen konnten wir jedoch keinen signifikanten Zusammenhang finden.

Der Zusammenhang zwischen Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit wurde bisher kaum in vergleichbaren Studien untersucht. Dennoch lassen sich unsere Ergebnisse mit anderen Studien vergleichen. Schon seit langem wird diskutiert, ob es einen Zusammenhang gibt zwischen Urolithiasis und einer zu Grunde liegenden renalen Hyperkalziurie und Hypertonie, welche mit einer erhöhten Pulswellengeschwindigkeit assoziiert ist. Jedoch wird in den meisten epidemiologischen Studien vorwiegend ein direkter Zusammenhang zwischen Urolithiasis und Hyperkalziurie beschrieben. Unsere Ergebnisse zeigen jedoch einen inversen Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit.

Da der berechnete Zusammenhang nach Adjustierung der Confounder nicht aufrechterhalten werden konnte, kann man mutmaßen, dass es sich um eine beobachtete Assoziation handelt, die keinen kausalen Zusammenhang reflektiert, sondern die möglicherweise darauf zurückzuführen ist, dass es Faktoren (d.h. Confounder) gibt, die sowohl die renale Kalziumausscheidung als auch die PWV beeinflussen/modifizieren und somit die in univariaten Analysen beobachtete Assoziation erklären bzw. bedingen. Hierbei muss aber als Limitierung erwähnt werden, dass die Fallzahl der Studie sehr klein war und möglicherweise die „statistical power“ zu gering war, um auch weniger starke Zusammenhänge zu zeigen.

Da sowohl der Ca^{2+} -Stoffwechsel als auch das kardiovaskuläre System von vielen Faktoren beeinflusst wird, fordert es sehr viel Erfahrung in der Auswahl der Confounder, um eine Varianzanalyse durchzuführen. Die von mir ausgewählten Confounder stehen im Einklang mit den üblicherweise in der Literatur bei ähnlichen Analysen verwendeten Faktoren.

Weiters mussten wir einige mögliche Confounder aus unserem Modell ausschließen, da sie für die Berechnung der Parameter notwendig waren. So wurden zum Beispiel Blutdruck, Herzfrequenz und BMI aus Rücksicht auf ein mögliches Overadjustment als Confounder ausgeschlossen, da diese Parameter bereits in die Berechnung der PWV einfließen.

Limitiert ist unsere Studie zusätzlich auch durch die Medikamenteneinnahme unserer Studienpopulation. Besonders die Einnahme von Diuretika bei 39% und von Statinen bei 25% der StudienteilnehmerInnen hat vermutlich einen Einfluss auf die untersuchten Parameter und beschränkt uns in der Interpretation der Ergebnisse.

Da das Probandenkollektiv sich aus einer Gruppe hypertensiver PatientInnen zusammensetzt, können die Ergebnisse dieser Studie nicht unkritisch auf die Gesamtbevölkerung übertragen werden. Nachfolgende Studien sollten daher auch normotensive ProbandInnen miteinschließen.

Außerdem muss angemerkt werden, dass die StudienteilnehmerInnen an der endokrinologischen Ambulanz des Universitätsklinikums Graz rekrutiert wurden und sich das Probandenkollektiv somit auf PatientInnen beschränkt, welche häufig im klinischen Umfeld zu finden sind.

Zudem ist diese Studie hauptsächlich mit ProbandInnen kaukasischer Ethnizität durchgeführt worden und ist somit nur eingeschränkt vergleichbar mit anderen ethnischen Gruppen.

Das Studiendesign der vorliegenden Querschnittsstudie ermöglicht keine Aussage zu einem kausalen Zusammenhang zwischen den erhobenen Parametern. Weiterführende Studien sind notwendig, um das Ergebnis zu präzisieren. Jedoch möchte ich an dieser Stelle noch einmal die zu Grunde liegenden Überlegungen der zur Diskussion stehenden Hypothese zusammenfassen, um die Relevanz dieses Forschungsschwerpunktes darzustellen.

Wie bereits beschrieben, wurde ein Zusammenhang zwischen Urolithiasis und Hypertonie bereits mehrfach in epidemiologischen Studien beobachtet, jedoch sind die zu Grunde liegenden pathophysiologischen Mechanismen noch nicht ausreichend verstanden. Es existieren aber einige Hypothesen, die diesen epidemiologischen Zusammenhang erklären könnten. Diskutiert wird über einen möglichen primären tubulären Defekt („renal calcium leak hypothesis“), eine Volumen-Expansion bei Hypertension („central blood volume hypothesis“) oder gemeinsame genetische Veränderungen im Ca^{2+} -Metabolismus. Auch die Assoziation dieser beiden Erkrankungen mit dem metabolischen Syndrom lässt auf eine

weitere Hypothese schließen, welche einen Effekt der Insulin-Resistenz auf den tubulären Ca^{2+} -Transport beschreibt. Ein anderer Ansatz beschäftigt sich mit Entzündungen und Oxidativem Stress, welche durch verschiedene pathophysiologische Prozesse zu Hypertonie und vermehrter renaler Ca^{2+} -Ausscheidung führen könnten. (2)

Im Zentrum aktueller Diskussionen steht in diesem Zusammenhang auch der CaSR. Der CaSR wurde bereits sowohl im Nephron als auch in Zellen des kardiovaskulären Systems gefunden. Im Nephron ist der CaSR in der Regulierung und Feineinstellung der Resorption von Ca^{2+} , aber auch von Na^+ , K^+ , Mg^{2+} , PO_4^{3-} , Wasser und weiteren homeostatischen Systemen beteiligt. Im kardiovaskulären System wurde der CaSR in Endothelzellen, Fibroblasten, vaskulären glatten Muskelzellen und Immunzellen, wie Monozyten und Makrophagen, entdeckt. In diesen Zellen spielt der CaSR eine wichtige Rolle in der Regulierung des vaskulären Tonus und des peripheren Widerstandes. Zusätzlich ist der CaSR in den Zellen der Gefäßwände auch in Prozesse wie Zellproliferation, Apoptose, Inflammation und Chemotaxis involviert und somit wahrscheinlich auch essentieller Bestandteil in der Pathogenese der Arteriosklerose und Atherosklerose. Demzufolge könnten Defekte oder Veränderungen des CaSR eine Erklärung für den Zusammenhang zwischen Ca^{2+} -Metabolismus und kardiovaskulärem System sein. (4)

Auch die kalziotropen Hormone Vitamin D und PTH, welche eine essentielle Rolle in der Regulation der Ca^{2+} -Ausscheidung spielen, stehen im Zusammenhang mit dem kardiovaskulären System. Schon länger bekannt ist die Assoziation zwischen primären Hyperparathyreoidismus und Hypertonie. Aktuelle Studien, wie die MESA-Studie, haben unlängst auch einen signifikanten Zusammenhang von erhöhtem Serum-PTH mit endothelialer Dysfunktion und arterieller Gefäßsteifigkeit gefunden. (61,62) Viel diskutiert ist auch Vitamin D-Mangel als Risikofaktor für kardiovaskuläre Ereignisse. Jedoch sind die zu Grunde liegenden pathophysiologischen Zusammenhänge sowohl von PTH als auch von Vitamin D mit dem kardiovaskulären System noch nicht vollständig erforscht. (55)

Eine weitere Erklärung für den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit ist der bedeutsame Einfluss von Natriumchlorid sowohl auf den Ca^{2+} -Metabolismus als auch auf die Gefäßsteifigkeit. Eine erhöhte Natriumchlorid-Aufnahme führt im Nephron zu einer vermehrten Ausscheidung von Ca^{2+} . Ursachen dieser vermehrten renalen Ca^{2+} -Ausscheidung könnten ein konkurrierendes Verhalten von Ca^{2+} und Na^+ in der

renalen Rückresorption, eine durch Na^+ verursachte Volumenexpansion oder aber auch eine verminderte Expression von Claudin-2-Proteinen sein. Der Zusammenhang zwischen Na^+ -Aufnahme und Bluthochdruck bei Natrium-sensitiven Personen wurde bereits in vielen Studien beschrieben. Aktuelle Studien zeigen auch einen direkten Zusammenhang zwischen Na^+ -Aufnahme und arterieller Gefäßsteifigkeit. (30,63)

Auch epitheliale Na^+ -Kanäle (ENaC), welche durch K^+ -sparende Diuretika wie Amilorid gehemmt werden, spielen im Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und arterieller Gefäßsteifigkeit eine bedeutende Rolle. Im Nephron führt eine Hemmung von ENaC im DCT zu einer verminderten Na^+ -Rückresorption und in Folge auch zu einer vermehrten Ca^{2+} -Rückresorption. Lange Zeit wurde die Lokalisation von ENaC nur der Niere zugeordnet, aktuelle Studien zeigen jedoch auch die Anwesenheit von ENaC im vaskulären Endothel. Dort könnte ENaC eine wichtige Rolle in der Regulation von zellulären Mechanismen spielen, welche für die vaskuläre Funktion entscheidend sind. In diesem Zusammenhang wurde eine Assoziation zwischen endothelialen ENaC und arterieller Gefäßsteifigkeit gefunden. Die zu Grunde liegenden Pathomechanismen sind jedoch noch relativ unbekannt. (33,64)

Zusammenfassend kann man feststellen, dass viele Studien auf einen engen Zusammenhang zwischen dem Ca^{2+} -Metabolismus und dem kardiovaskulären System hinweisen. Die Komplexität des Ca^{2+} -Metabolismus lässt nach aktueller Datenlage keine definitive Aussage zur Ursache-Wirkungsbeziehung zu. Jedoch gibt es viele Ansätze und Hypothesen auf diesem Themengebiet auf denen folgende Studien aufbauen können.

Unsere Studie konnte keinen signifikanten Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung im 24-Stunden-Harn und Pulswellengeschwindigkeit bei hypertensiven PatientInnen zeigen. Zusätzlich ist unsere Studie, wie bereits angeführt, durch einige Faktoren, wie zum Beispiel durch Medikamenteneinnahme der Studienpopulation und Ethnizität, limitiert. Weitere Studien sind notwendig, um den Zusammenhang zwischen renaler Ca^{2+} -Ausscheidung und Gefäßsteifigkeit zu erforschen und die zu Grunde liegenden Mechanismen zu evaluieren.

6 Annex

6.1 Abbildungen

Abbildung 1: Schematische Darstellung des renalen Wasser- und Ionentransport im Nephron (22) _____	16
Abbildung 2: Zentrale Blutdruckkurve: Berechnung des Augmentationsindex basierend auf (44) _____	25
Abbildung 3: Der CaSR (= Calcium sensing receptor) reguliert den vaskulären Tonus (4) _____	30
Abbildung 4: Der CaSR (= Calcium sensing receptor) in der Regulierung von vaskulären Reparaturvorgängen und in der Entstehung von Arteriosklerose, Atherosklerose und Kalzifikation der Gefäßwand (4) _____	31
Abbildung 5: Messung der Distanz, die von der Pulswelle durchlaufen wird (58) _____	35

6.2 Tabellen

Tabelle 1: Basisdaten der Studienpopulation	38
Tabelle 2: Medikamenteneinnahme der Studienpopulation	38
Tabelle 3: Basisdaten der Untergruppen	40
Tabelle 4: Korrelation nach Pearson 1	40
Tabelle 5: Lineare Regressionsmodelle	41
Tabelle 6: Korrelation nach Pearson 2	41

6.3 Formeln

Formel 1: Tangentiale Wandspannung σ (6)	23
Formel 2: Volumenelastizitätskoeffizient E' (6)	23
Formel 3: Volumenelastizitätsmodul κ (6)	24
Formel 4: Wellengeschwindigkeit c (6)	24

7 Literaturverzeichnis

- (1) Alexander B, Konstantin B editors. Duale Reihe Innere Medizin. 3rd ed. Würzburg: Thieme Verlag; 2013.
- (2) Cupisti A, D'Alessandro C, Samoni S, Meola M, Egidi MF. Nephrolithiasis and hypertension: possible links and clinical implications. *J Nephrol* 2014 Oct;27(5):477-482.
- (3) Logan JG, Engler MB, Kim H. Genetic determinants of arterial stiffness. *J Cardiovasc Transl Res* 2015 Feb;8(1):23-43.
- (4) Molostvov G, Bland R, Zehnder D. Expression and role of the calcium-sensing receptor in the blood vessel wall. *Curr Pharm Biotechnol* 2009 Apr;10(3):282-288.
- (5) Murakami K, Sasaki S, Takahashi Y, Uenishi K, Watanabe T, Kohri T, et al. Sensitivity and specificity of published strategies using urinary creatinine to identify incomplete 24-h urine collection. *Nutrition* 2008 Jan;24(1):16-22.
- (6) Schmidt RF, Lang F, Heckmann M. Kreislauf. In: Schmidt RF, Lang F, Heckmann M, editors. *Physiologie des Menschen*. 31. Auflage ed. Berlin, Heidelberg: Springer Verlag; 2011. p. 573-626.
- (7) Jameson JL, De Groot LJ. Regulation of Calcium Homeostasis and Genetic Disorders that Affect Calcium Metabolism. In: Jameson JL, editor. *Endocrinology: adult and paediatric*. 7th edition ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 1063-1064.
- (8) Peacock M. Calcium metabolism in health and disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010 Jan;5 Suppl 1:S23-30.
- (9) Pape H, Kurtz A, Silbernagl S. Die Calcium und Phosphatbilanz. In: Pape H, Kurtz A, Silbernagl S, editors. *Physiologie*. 7. Auflage ed. Stuttgart: Thieme; 2014. p. 464-470.
- (10) Bischofberger J, Behrends JC, Ehmke H, et al. Kalzium- und Phosphathaushalt. Duale Reihe: *Physiologie*. 2. Auflage ed. Stuttgart: Thieme; 2012. p. 325-327.
- (11) Brown EM, MacLeod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev* 2001 Jan;81(1):239-297.
- (12) Copp DH, Cameron EC, Cheney BA, Davidson AG, Henze KG. Evidence for calcitonin--a new hormone from the parathyroid that lowers blood calcium. *Endocrinology* 1962 May;70:638-649.
- (13) Hirsch PF, Baruch H. Is calcitonin an important physiological substance? *Endocrine* 2003 Aug;21(3):201-208.
- (14) Uusi-Rasi K, Karkkainen MU, Lamberg-Allardt CJ. Calcium intake in health maintenance - a systematic review. *Food Nutr Res* 2013 May 16;57:10.3402/fnr.v57i0.21082. Print 2013.

- (15) German Nutrition Society. New reference values for calcium. *Ann Nutr Metab* 2013;63(3):186-192.
- (16) Charles P, Eriksen EF, Hasling C, Sondergard K, Mosekilde L. Dermal, intestinal, and renal obligatory losses of calcium: relation to skeletal calcium loss. *Am J Clin Nutr* 1991 Jul;54(1 Suppl):266S-273S.
- (17) Suki WN, Rouse D, Ng RC, Kokko JP. Calcium transport in the thick ascending limb of Henle. Heterogeneity of function in the medullary and cortical segments. *J Clin Invest* 1980 Nov;66(5):1004-1009.
- (18) Angelow S, Ahlstrom R, Yu AS. Biology of claudins. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008 Oct;295(4):F867-76.
- (19) Greger R, Bleich M, Schlatter E. Ion channel regulation in the thick ascending limb of the loop of Henle. *Kidney Int Suppl* 1991 Jul;33:S119-24.
- (20) Di Stefano A, Roinel N, de Rouffignac C, Wittner M. Transepithelial Ca²⁺ and Mg²⁺ transport in the cortical thick ascending limb of Henle's loop of the mouse is a voltage-dependent process. *Ren Physiol Biochem* 1993 Jul-Aug;16(4):157-166.
- (21) Friedman PA. Mechanisms of renal calcium transport. *Exp Nephrol* 2000 Nov-Dec;8(6):343-350.
- (22) Dimke H, Hoenderop JG, Bindels RJ. Hereditary tubular transport disorders: implications for renal handling of Ca²⁺ and Mg²⁺. *Clin Sci (Lond)* 2009 Sep 28;118(1):1-18.
- (23) Hoenderop JG, van der Kemp AW, Hartog A, van de Graaf SF, van Os CH, Willems PH, et al. Molecular identification of the apical Ca²⁺ channel in 1, 25-dihydroxyvitamin D₃-responsive epithelia. *J Biol Chem* 1999 Mar 26;274(13):8375-8378.
- (24) Loffing J, Loffing-Cueni D, Valderrabano V, Klausli L, Hebert SC, Rossier BC, et al. Distribution of transcellular calcium and sodium transport pathways along mouse distal nephron. *Am J Physiol Renal Physiol* 2001 Dec;281(6):F1021-7.
- (25) van Abel M, Hoenderop JG, van der Kemp AW, Friedlaender MM, van Leeuwen JP, Bindels RJ. Coordinated control of renal Ca²⁺ transport proteins by parathyroid hormone. *Kidney Int* 2005 Oct;68(4):1708-1721.
- (26) Hoenderop JG, Dardenne O, Van Abel M, Van Der Kemp AW, Van Os CH, St - Arnaud R, et al. Modulation of renal Ca²⁺ transport protein genes by dietary Ca²⁺ and 1,25-dihydroxyvitamin D₃ in 25-hydroxyvitamin D₃-1alpha-hydroxylase knockout mice. *FASEB J* 2002 Sep;16(11):1398-1406.
- (27) Renkema KY, Nijenhuis T, van der Eerden BC, van der Kemp AW, Weinans H, van Leeuwen JP, et al. Hypervitaminosis D mediates compensatory Ca²⁺ hyperabsorption in TRPV5 knockout mice. *J Am Soc Nephrol* 2005 Nov;16(11):3188-3195.

- (28) McGehee DS, Aldersberg M, Liu KP, Hsuing S, Heath MJ, Tamir H. Mechanism of extracellular Ca²⁺ receptor-stimulated hormone release from sheep thyroid parafollicular cells. *J Physiol* 1997 Jul 1;502 (Pt 1)(Pt 1):31-44.
- (29) Scherubl H, Kleppisch T, Zink A, Raue F, Krautwurst D, Hescheler J. Major role of dihydropyridine-sensitive Ca²⁺ channels in Ca(2+)-induced calcitonin secretion. *Am J Physiol* 1993 Mar;264(3 Pt 1):E354-60.
- (30) Yatabe MS, Yatabe J, Takano K, Murakami Y, Sakuta R, Abe S, et al. Effects of a high-sodium diet on renal tubule Ca²⁺ transporter and claudin expression in Wistar-Kyoto rats. *BMC Nephrol* 2012 Dec 2;13:160-2369-13-160.
- (31) Grieff M, Bushinsky DA. Diuretics and disorders of calcium homeostasis. *Semin Nephrol* 2011 Nov;31(6):535-541.
- (32) Nijenhuis T, Vallon V, van der Kemp AW, Loffing J, Hoenderop JG, Bindels RJ. Enhanced passive Ca²⁺ reabsorption and reduced Mg²⁺ channel abundance explains thiazide-induced hypocalciuria and hypomagnesemia. *J Clin Invest* 2005 Jun;115(6):1651-1658.
- (33) Bonny O, Edwards A. Calcium reabsorption in the distal tubule: regulation by sodium, pH, and flow. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013 Mar 1;304(5):F585-600.
- (34) Wagner CA, Mohebbi N. Urinary pH and stone formation. *J Nephrol* 2010 Nov-Dec;23 Suppl 16:S165-9.
- (35) Ulrich K, Joachim B, Friedrich C. L, Mark Dominik A, Ulrich K. *Nephrologie - Pathophysiologie, Klinik, Nierenersatzverfahren*. 6. Auflage ed. Stuttgart: Georg Thieme Verlag; 2015.
- (36) Khashayar S, Orson W. M. Urolithiasis. In: Karl S, Glenn M. C, Philip A. M, Maarten W. T, Alan S. L. Y, editors. *Brenner & Rector's the Kidney*. 10. Auflage ed. Philadelphia: Elsevier; 2016. p. 1322-1361.
- (37) Coe FL, Evan A, Worcester E. Kidney stone disease. *J Clin Invest* 2005 Oct;115(10):2598-2608.
- (38) Renkema KY, Bindels RJ, Hoenderop JG. Role of the calcium-sensing receptor in reducing the risk for calcium stones. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011 Aug;6(8):2076-2082.
- (39) Renkema KY, Velic A, Dijkman HB, Verkaart S, van der Kemp AW, Nowik M, et al. The calcium-sensing receptor promotes urinary acidification to prevent nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* 2009 Aug;20(8):1705-1713.
- (40) James H.F. R, John R. D, Peter L. W. *Atherosclerotic Biology and Epidemiology of Disease*. In: Eric J. T, editor. *Textbook of Cardiovascular Medicine*. 3rd ed. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins; 2007. p. 2-12.

- (41) Wang Y, Zhang Y, Li Y, Zhou X, Wang X, Gao P, et al. Common variants in the ATP2B1 gene are associated with hypertension and arterial stiffness in Chinese population. *Mol Biol Rep* 2013 Feb;40(2):1867-1873.
- (42) J Rodney L. *An Introduction to Cardiovascular Physiology*. 5th ed. London: Hodder Arnold; 2010.
- (43) Tomas L editor. *Hypertonie in Klinik und Praxis*. 1st ed. Stuttgart: Schattauer GmbH; 2008.
- (44) Laurent S, Cockcroft J, Van Bortel L, Boutouyrie P, Giannattasio C, Hayoz D, et al. Expert consensus document on arterial stiffness: methodological issues and clinical applications. *Eur Heart J* 2006 Nov;27(21):2588-2605.
- (45) Kollias A, Stergiou GS, Dolan E, O'Brien E. Ambulatory arterial stiffness index: a systematic review and meta-analysis. *Atherosclerosis* 2012 Oct;224(2):291-301.
- (46) Kips JG, Vermeersch SJ, Reymond P, Boutouyrie P, Stergiopoulos N, Laurent S, et al. Ambulatory arterial stiffness index does not accurately assess arterial stiffness. *J Hypertens* 2012 Mar;30(3):574-580.
- (47) Peterlik M, Kallay E, Cross HS. Calcium nutrition and extracellular calcium sensing: relevance for the pathogenesis of osteoporosis, cancer and cardiovascular diseases. *Nutrients* 2013 Jan 22;5(1):302-327.
- (48) Borghi L, Meschi T, Guerra A, Briganti A, Schianchi T, Allegri F, et al. Essential arterial hypertension and stone disease. *Kidney Int* 1999 Jun;55(6):2397-2406.
- (49) Abate N, Chandalia M, Cabo-Chan AV, Jr, Moe OW, Sakhaee K. The metabolic syndrome and uric acid nephrolithiasis: novel features of renal manifestation of insulin resistance. *Kidney Int* 2004 Feb;65(2):386-392.
- (50) Araujo M, Wilcox CS. Oxidative stress in hypertension: role of the kidney. *Antioxid Redox Signal* 2014 Jan 1;20(1):74-101.
- (51) Resnick LM. Cellular ions in hypertension, insulin resistance, obesity, and diabetes: a unifying theme. *J Am Soc Nephrol* 1992 Oct;3(4 Suppl):S78-85.
- (52) Houston MC, Harper KJ. Potassium, magnesium, and calcium: their role in both the cause and treatment of hypertension. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2008 Jul;10(7 Suppl 2):3-11.
- (53) Bukoski RD, Bian K, Wang Y, Mupanomunda M. Perivascular sensory nerve Ca²⁺ receptor and Ca²⁺-induced relaxation of isolated arteries. *Hypertension* 1997 Dec;30(6):1431-1439.
- (54) Xiao Q, Murphy RA, Houston DK, Harris TB, Chow WH, Park Y. Dietary and supplemental calcium intake and cardiovascular disease mortality: the National Institutes of Health-AARP diet and health study. *JAMA Intern Med* 2013 Apr 22;173(8):639-646.

- (55) Pilz S, Gaksch M, Kienreich K, Grubler M, Verheyen N, Fahrleitner-Pammer A, et al. Effects of vitamin D on blood pressure and cardiovascular risk factors: a randomized controlled trial. *Hypertension* 2015 Jun;65(6):1195-1201.
- (56) Wilkinson IB, Fuchs SA, Jansen IM, Spratt JC, Murray GD, Cockcroft JR, et al. Reproducibility of pulse wave velocity and augmentation index measured by pulse wave analysis. *J Hypertens* 1998 Dec;16(12 Pt 2):2079-2084.
- (57) Williams B, Lacy PS, Thom SM, Cruickshank K, Stanton A, Collier D, et al. Differential impact of blood pressure-lowering drugs on central aortic pressure and clinical outcomes: principal results of the Conduit Artery Function Evaluation (CAFE) study. *Circulation* 2006 Mar 7;113(9):1213-1225.
- (58) Boutouyrie P, Fliser D, Goldsmith D, Covic A, Wiecek A, Ortiz A, et al. Assessment of arterial stiffness for clinical and epidemiological studies: methodological considerations for validation and entry into the European Renal and Cardiovascular Medicine registry. *Nephrol Dial Transplant* 2014 Feb;29(2):232-239.
- (59) Hofmann B, Riemer M, Erbs C, Plehn A, Navarrete Santos A, Wienke A, et al. Carotid to femoral pulse wave velocity reflects the extent of coronary artery disease. *J Clin Hypertens (Greenwich)* 2014 Sep;16(9):629-633.
- (60) van Sloten TT, Schram MT, van den Hurk K, Dekker JM, Nijpels G, Henry RM, et al. Local stiffness of the carotid and femoral artery is associated with incident cardiovascular events and all-cause mortality: the Hoorn study. *J Am Coll Cardiol* 2014 May 6;63(17):1739-1747.
- (61) Bosworth C, Sachs MC, Duprez D, Hoofnagle AN, Ix JH, Jacobs DR, Jr, et al. Parathyroid hormone and arterial dysfunction in the multi-ethnic study of atherosclerosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2013 Sep;79(3):429-436.
- (62) van Ballegooijen AJ, Kestenbaum B, Sachs MC, de Boer IH, Siscovick DS, Hoofnagle AN, et al. Association of 25-hydroxyvitamin D and parathyroid hormone with incident hypertension: MESA (Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis). *J Am Coll Cardiol* 2014 Apr 1;63(12):1214-1222.
- (63) Rhee MY, Kim JH, Na SH, Chung JW, Bae JH, Nah DY, et al. Elevation of heart-femoral pulse wave velocity by short-term low sodium diet followed by high sodium diet in hypertensive patients with sodium sensitivity. *Nutr Res Pract* 2016 Jun;10(3):288-293.
- (64) Lenders M, Hofschroer V, Schmitz B, Kasprzak B, Rohlmann A, Missler M, et al. Differential response to endothelial epithelial sodium channel inhibition ex vivo correlates with arterial stiffness in humans. *J Hypertens* 2015 Dec;33(12):2455-2462.