

Diplomarbeit

Zusammenhang zwischen Knochenstoffwechsel und kardiovaskulärem Risiko bei Patientinnen und Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus

eingereicht von

Johann Martensen

zur Erlangung des akademischen Grades

Doktor(in) der gesamten Heilkunde

(Dr. med. univ.)

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an

Klinische Abteilung für Kardiologie/

Klinische Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie

unter der Anleitung von

Univ.-Ass.ⁱⁿ Priv.-Doz.ⁱⁿ Dr.ⁱⁿ med.univ. Astrid Fahrleitner-Pammer

Dr.med.univ. Nicolas Verheyen

Graz, 05.04.2018

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 05.04.2018

Johann Martensen eh.

Danksagungen

Mein Dank geht an meine Freundin, meine Tochter und meine Schwester, welche mir bei der Erstellung dieser Arbeit eine große Stütze waren.

Danke auch an meine Betreuer für ihre fachliche Unterstützung.

Nicht zuletzt danke ich meinen Eltern, die mir dieses Studium überhaupt erst ermöglicht haben.

Zusammenfassung

Diverse Beobachtungsstudien haben auf eine mögliche Verbindung zwischen Erkrankungen des Knochens und der linksventrikulären Funktion hingewiesen. Verstärkt hat sich dieser Zusammenhang im Rahmen von Erkrankungen mit erhöhten Parathormonwerten gezeigt.

Vor diesem Hintergrund versuchten wir die Hypothese zu überprüfen, dass Labormarker für Knochenstoffwechsel mit der linksventrikulären Funktion korrelieren. Um diese besonderen Zusammenhänge beim Hyperparathyreoidismus genauer zu untersuchen, verwendeten wir eine Kohorte von 155 Patientinnen und Patienten mit einem bekannten primären Hyperparathyreoidismus (pHPT).

Die Untersuchung bestand in multivariaten linearen Regressionsanalysen zwischen der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) oder der frühen diastolischen Mitralanulusgeschwindigkeit (e') als abhängige Variablen und P1NP (Prokollagen Typ 1 aminoterminales Propeptid), BALP (Bone-specific alkaline phosphatase), OC (Osteocalcin) oder β -Crosslaps (CTX, C-terminales quervernetztes Bruchstück der I-Tripelhelix) als jeweilige unabhängige Variable. Mögliche beeinflussende Variablen wurden als Kovariaten in den Regressionsanalysen berücksichtigt.

Unabhängige signifikante Korrelationen fanden sich zwischen P1NP und LVEF und e' .

Osteocalcin und BALP korrelierten jeweils unabhängig mit der diastolischen Funktion (e').

Der Labormarker für Knochenresorption CTX zeigte keine Korrelationen mit der kardialen Funktion.

Wir schlussfolgerten, dass Labormarker für erhöhten Knochenaufbau in dieser großen Kohorte an Patientinnen und Patienten mit pHPT unabhängig mit sowohl verbesserter linksventrikulärer diastolischer, und teilweise auch systolischer Funktion korrelieren. Mögliche kardioprotektive Eigenschaften der aktivierten Knochenbildung im Rahmen von pHPT sollten weiter beforscht werden.

Abstract

Several studies showed a possible correlation between bone diseases and the function of the left ventricle. Among patients suffering from hyperparathyroidism this correlation seemed to be even stronger.

Our hypothesis was that patients with primary hyperparathyroidism (pHPT) show a significant correlation between left ventricular function and laboratory measurements of the activity of bone turnover.

To achieve a better understanding of this particular behavior among pHPT we chose a study cohort of 155 patients diagnosed with pHPT.

The calculations were done by the means of a multivariate linear regression analysis. We analyzed correlations between different laboratory parameters of bone turnover with the echocardiographic left ventricular ejection fraction (LVEF) as a parameter for the systolic function, or the peak early transmitral filling velocity (e') as a parameter for the diastolic function.

These included, as markers of bone turnover, procollagen type 1 n-terminal propeptide (P1NP), bone-specific alkaline phosphatase (BALP), osteocalcin (OC) reflecting bone formation, and β -crosslaps (CTX) reflecting bone resorption.

Analyses were adjusted for important potentially confounding parameters.

Significant correlations between P1NP and LVEF as well as e' were demonstrated. Additional correlations were found between OC and BALP with e', while CTX did not correlate with parameters of cardiac function.

We conclude that in this relatively large cohort of pHPT, laboratory parameters of increased bone formation correlated with both a better LV diastolic function and partially with a better LV systolic function.

More studies are needed to evaluate a possible cardio-protective effect of increased stimulation of bone formation in patients diagnosed with hyperparathyroidism.

Bereits erfolgte Veröffentlichungen

Tomaschitz A, Verheyen N, Meinitzer A. Effect of eplerenone on parathyroid hormone levels in patients with primary hyperparathyroidism: results from the EPATH randomized, placebo-controlled trial. *J Hypertens.* 2016;34:1347–56.

Verheyen N, Fahrleitner-Pammer A, Belyavskiy E, Gruebler MR, Dimai HP, Amrein K, et al. Relationship between bone turnover and left ventricular function in primary hyperparathyroidism: The EPATH trial. *PLoS One.* 2017;12(4):1–10.

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung	i
Danksagungen.....	ii
Zusammenfassung.....	iii
Abstract.....	iv
Bereits erfolgte Veröffentlichungen	v
Inhaltsverzeichnis	vi
Abkürzungsverzeichnis	viii
Abbildungsverzeichnis	ix
Tabellenverzeichnis	x
1 Einleitung.....	1
1.1 Physiologie	1
1.1.1 Parathormon.....	1
1.1.2 Knochenstoffwechsel.....	3
1.1.3 Labormarker	6
1.2 Hyperparathyreoidismus	9
1.2.1 Epidemiologie und Einteilung.....	10
1.2.2 Symptomatik, klinisches Bild.....	11
1.2.3 Leitlinien der Diagnostik und Therapie	12
1.2.4 Knochenstoffwechsel bei HPT	16
1.2.5 Kardiales Remodeling.....	18
2 Hypothese	21
3 Methodik	22
3.1 EPATH Studienkohorte inkl. pHPT Definition.....	22
3.2 Labormethoden	24
3.3 Echokardiographie	25
3.4 24-Stunden Blutdruckmessung.....	26
3.5 Statistik	27
4 Ergebnisse.....	28
4.1 Charakterisierung der Kohorte.....	28
4.1.1 Demographie	28

4.1.2	Knochenmarker	29
4.1.3	Primärer Hyperparathyreoidismus	30
4.1.4	Kardiovaskulärer Status.....	30
4.2	Knochenmarker und Parathormon/Calcium	31
4.2.1	Univariate Analysen.....	31
4.2.2	Multivariate Analysen.....	32
4.3	Knochenmarker und linksventrikuläre Funktion.....	33
4.3.1	Univariate Analysen.....	33
4.3.2	Multivariate Analysen.....	34
4.4	Vergleich hypercalcämischer und normocalcämischer primärer Hyperparathyreoidismus.....	35
5	Diskussion	36
5.1	Zusammenfassung.....	36
5.2	Stärken	37
5.3	Schwächen	37
5.4	Conclusio.....	38
5.5	Ausblick in die Zukunft, weitere Studienansätze	38
6	Literaturverzeichnis	39

Abkürzungsverzeichnis

AS	Aminosäure
ATP	Adenosintriphosphat
BALP	Bone-specific alkaline phosphatase, knochenspezifische alkalische Phosphatase
BMD	Bone mineral density, Knochendichte
CASR	calciumsensitiver Rezeptor
CT	Computertomographie
CTX	β -Crosslaps, C-terminales quervernetztes Bruchstück der I-Tripelhelix
DXA	Dual Energy X-ray Absorptiometry
e'	frühe diastolische Mitralanulusgeschwindigkeit
ECLIA	Elektrochemilumineszenz-Immunoassay
ELISA	Enzyme-Linked Immunosorbent Assay
EPATH	Effect of eplerenone on parathyroid hormone levels in patients with primary hyperparathyroidism
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
HbA _{1c}	Hämoglobin A _{1c}
HPT	Hyperparathyreoidismus
KHK	Koronare Herzkrankheit
LVEF	linksventrikuläre Ejektionsfraktion
LWS	Lendenwirbelsäule
NINS	Niereninsuffizienz
NSD	Nebenschilddrüse
NT-proBNP	N-terminales Prohormon von Brain natriuretic Peptide
OC	Osteocalcin
P1NP	Prokollagen Typ 1 aminoterminales Propeptid
pHPT	primärer Hyperparathyreoidismus
PTH	Parathormon
TBS	Trabecular Bone Score

Abbildungsverzeichnis

ABBILDUNG 1: 3D STRUKTUR VON PARATHORMON (PTH) FRAGMENT 1-391	
ABBILDUNG 2: QUERSCHNITT EINES KNOCHENS	3
ABBILDUNG 3: VERLAUF DER ALTERSABHÄNGIGEN KNOCHENDICHTE	16

Tabellenverzeichnis

TABELLE 1: ERGEBNISSE DER KNOCHENMARKERLABORWERTE DER KOHORTE	29
TABELLE 2: UNIVARIATE KORRELATIONEN ZWISCHEN PARATHORMON/CALCIUM UND KNOCHENMARKERN	31
TABELLE 3: MULTIVARIATE REGRESSIONSANALYSEN ZWISCHEN PARATHORMON/CALCIUM UND KNOCHENMARKERN	32
TABELLE 4: UNIVARIATE KORRELATIONSANALYSEN ZWISCHEN KNOCHENMARKER UND LINKSVENTRIKULÄREN PARAMETERN	33
TABELLE 5: MULTIVARIATE REGRESSIONSANALYSEN ÜBER DIE KORRELATIONEN ZWISCHEN KNOCHENMARKERN UND LINKSVENTRIKULÄREN PARAMETERN	34

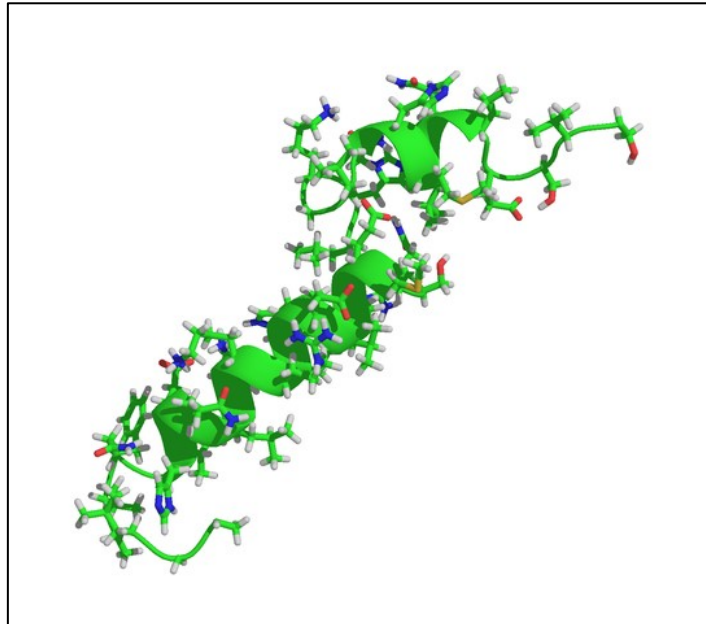
1 Einleitung

1.1 Physiologie

1.1.1 Parathormon

Das Parathormon (PTH) ist ein wichtiges Hormon in der Regulierung des Calcium- und Knochenstoffwechsels.

Hierbei ist seine Hauptaufgabe die Aufrechterhaltung einer physiologischen Konzentration von Calcium und Phosphat im Blut. Die Produktion und Sekretion erfolgt in den Hauptzellen der Nebenschilddrüsen (NSD), welche auch als *Glandulae parathyroideae* bezeichnet werden



und dem PTH somit seinen Namen geben. In einer Vorstufe wird es als PräPro-Hormon mit einer Größe von

Abbildung 1: 3D Struktur von Parathormon (PTH), aktives Fragment 1-39

Quelle: https://de.wikipedia.org/wiki/Parathormon#/media/File:Parathormon_1BWX.png

115 Aminosäuren hergestellt. In der Folge wird in der Prozession am N-Terminus abgespalten, und es entsteht das Pro-Parathormon mit einer Länge von 90 AS. Im letzten Synthesisierungsschritt entsteht die funktionelle Form des Parathormons durch eine Abspaltung von weiteren sechs Aminosäuren im Golgi-Apparat. Die Halbwertszeit dieses nun 84 Aminosäuren große PTH im Serum liegt bei ca. vier Minuten(1).

Die Sekretion von PTH aus den Hauptzellen der NSD wird gesteuert über den calciumsensitiven Rezeptor (CASR). Ein hoher Calcium-Spiegel wirkt hemmend, während ein niedriger Calcium-Spiegel zur Sekretion führt. Calcium bindet an den CASR auf der Zelloberfläche der Hauptzellen, welche die Calcium-Konzentration messen und in der Folge die Sekretion von PTH erhöhen oder senken können.

Spiegel von ionisiertem Calcium $<1,0$ mmol/l führen zur maximalen Stimulierung der Parathormon-Sekretion, während ab $1,25$ mmol/l Ca^{2+} lediglich eine basale Sekretion von 10% des Maximums erfolgt.

Im Zusammenspiel wirkt Vitamin D ebenfalls über Rezeptoren der Hauptzellen hemmend auf die intrazelluläre Produktion des PTH.

Erhöhte Phosphatwerte hingegen führen zu einer Induktion der Bildung und Sekretion von PTH durch Hypertrophiestimulation der Hauptzellen.

Calcium spielt nicht nur in seiner gebundenen Form im Knochen, sondern vor allem auch in seiner freien Form eine wichtige Rolle bei der Steuerung der Nervenreizleitung, Muskelkontraktionen oder auch der Hämostase.

Um Calcium in seiner physiologisch engen Spiegelbreite zu halten, wirkt Parathormon auf seine drei wichtigsten Zielorgane. Diese sind das Knochengewebe, die Nieren und der Darm. Im Bereich des Knochengewebes führt das Hormon zur Osteoklastenaktivierung und damit Freisetzung von vorher im Knochen gebundenem Calcium. Seinen hormonellen Befehl hierzu führt es über seine Wirkung auf die Osteoblasten aus, welche dann mittels Zytokinfreisetzung die Osteoklasten aktivieren(1).

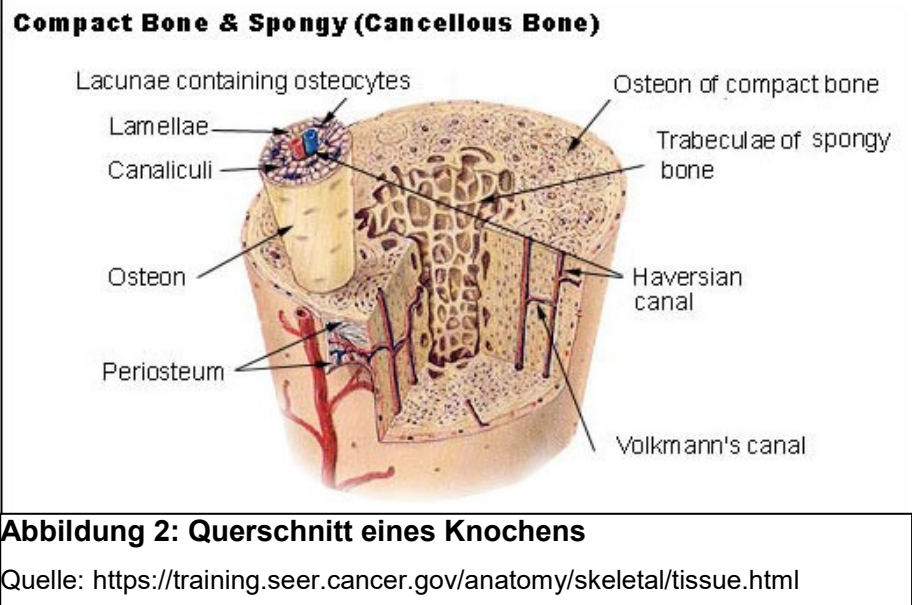
Auf die Nieren hat Parathormon im Bereich des distalen Tubulus einen Calcium re-absorbierenden Einfluss und erhält somit bereits im Blut zirkulierende Calcium Ionen.

Parallel wird die Rückresorption von Phosphat im proximalen und distalen Tubulus unterdrückt, was indirekt zu einem zugunsten Calcium erhöhten Calcium/Phosphat Verhältnis führt um eine erneute Auskristallisation und somit fehlende freie Verfügbarkeit des Calcium zu verhindern.

Indirekt wirkt Parathormon auch auf die Aufnahme von Nahrungscalcium im Darmlumen. Diesen Effekt übt es über die aktivierende Wirkung auf Vitamin D aus.

1.1.2 Knochenstoffwechsel

Der Knochen ist ein lebendiges Gewebe, welches kontinuierlich umgebaut wird. Dies erfolgt durch ein komplexes Zusammenspiel zwischen Knochenauf- und Knochenabbau regulierenden



Prozessen, welche aneinander gekoppelt sind. Dieses balancierte Gleichgewicht ist notwendig, um schnell auf wechselnde Verfügbarkeit von Knochenbestandteilen, wie zum Beispiel Calcium in der Nahrung, reagieren zu können. Zudem kann durch Veränderung der Knochenbauweise die Festigkeit des Gewebes an die lokal verschiedenen Anforderungen angepasst werden.

Das Knochengewebe ist demnach in der Lage, auf äußere Stimuli zu reagieren und sich entsprechend der Anforderungen an Statik, wie Zug- oder Druckbelastungen, umzubauen. Wird ein Knochen über längere Zeit weniger belastet, so nimmt seine Masse ab. Bei zunehmender Belastung auf einen Knochen wird er strukturell gestärkt (2).

Zudem bringt der dauerhafte Stoffwechsel der Knochenstruktur den Vorteil, dass Traumata, ob in Form größerer Brüche oder auch sehr kleiner Risse, zügig wieder repariert – sprich der überalterte Knochen durch neugebildeten ersetzt werden kann.

Das Knochengewebe kommt in zwei Aufbauarten vor. Die eine ist sehr dicht gebaut und wird in dieser Form *Substantia compacta* genannt. Meist wird die äußere Schicht eines Knochens aus dieser Art Gewebe gebildet.

Die zweite Form des Knochenbaus bezeichnet man als *Substantia spongiosa*. Diese folgt einem, wie der Name bereits sagt, eher schwammartigen Aufbau. Die hier aufeinander aufbauenden miteinander vernetzten Trabekel können hohe

Kräfte bei gleichzeitiger Leichtbauweise gut aufnehmen und sich durch raschen Umbau an die Belastungen anpassen (3).

Das Knochengewebe besteht zunächst einmal aus den lebenden Zellen, welche für den Auf- und Umbau zuständig sind. Die Knochengewebeproduktion führen Osteoblasten aus, während Osteoklasten Knochenabbau durchführen. Hat sich ein Osteoblast vollständig in das um ihn liegende Gewebe hineingebaut, wird er als Osteozyt bezeichnet.

Bekannt ist ein Verbindungsnetzwerk der Osteozyten über Zellfortsätze, welche Ionenaustausch über gap junctions ermöglichen (1). Über ihre Zellverbindungen sind die mechanosensiblen Osteozyten in der Lage den Knochenstoffwechsel belastungsabhängig zu steuern.

Der Osteoblast produziert die sogenannte Knochengrundsubstanz, auch als Osteoid bezeichnet. Hierbei handelt es sich um die organische Komponente des Knochengewebes, welches zu 90% aus Kollagen Typ I besteht. Wirklich zuverlässige Festigkeit kann die Grundsubstanz jedoch nur durch Mineralisierung erhalten. Eine wichtige Rolle spielt bei diesem Schritt das Protein Osteocalcin, welches für eine Auskristallisation der anorganischen Mineralien (vornehmlich Hydroxylapatit, $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3(\text{OH})$) in der Knochensubstanz verantwortlich ist. Die Knochengewebe produzierenden Osteoblasten schütten eine hohe Menge an Calcium und Phosphat in die soeben hergestellte Grundsubstanz aus. Durch diese punktuelle Konzentration kommt es zur Mineralisation des organischen Gewebes durch Hydroxylapatit.

Während das mineralische Hydroxylapatit die Fähigkeit besitzt hohen Druckbelastungen zu widerstehen, halten die Kollagenfasern das gesamte Konstrukt in Form und nehmen Zugbelastungen auf den Knochen auf.

Aufgrund dieser ineinander verschachtelten Knochenbestandteile müssen im Falle von Knochenverletzungen auch die umgebenden Bereiche zunächst gelöst werden, um dann eine sichere Vernetzung der Fasern mit folgender Mineralisation zu erreichen und somit eine stabile Knochenstruktur herzustellen.

Die als Osteoklasten bezeichneten Zellen führen zu Knochenabbau, welcher auch als Knochenresorption bezeichnet wird, und dadurch auch zur Freisetzung der zuvor gebundenen Mineralien. Der Osteoklast dockt an die abzubauen Stelle des mineralisierten Knochengewebes an und führt mittels H^+ Abgabe in das Gewebe zu starker Ansäuerung des Bereiches. Das Löslichkeitsprodukt der aus

Calcium und Phosphat gebildeten Kristalle wird dadurch nun wieder unterschritten und die Ionen freigesetzt(1).

Dieses soeben beschriebene Gleichgewicht aus Knochenaufbau und Knochenabbau wird hauptsächlich durch die Hormone Parathormon, Vitamin D und Calcitonin gesteuert. Parathormon kann innerhalb kurzer Zeit bei niedrigen Calciumspiegeln zur Freisetzung von Calcium über Knochenabbau durch Osteoklasten führen.

Die Wirkung von Vitamin D liegt mehr in der dauerhaften Erhaltung und erneuten Auffüllung des Calciumspiegels. Parathormon wird auch für den letzten Schritt der Produktion von Vitamin D ($1\alpha,25(\text{OH})_2\text{Vitamin D}_3$), Calcitriol) in den Nieren - der Aktivierung der 1 Alphahydroxylasen - benötigt. Das somit vermehrt produzierte Vitamin D verbessert in der Folge die Absorption des Calciums im Dünndarm durch sowohl passiven als auch aktiven Transport.

Steigende Vitamin D-Spiegel führen jedoch genauso wie erhöhte Calcium-Spiegel zu einer Hemmung der Parathormonausschüttung im Sinne einer negativen Rückkopplung.

Calcitonin kann als Gegenspieler zu den beiden soeben genannten Hormonen zu einer Absenkung des Calcium Spiegels führen. Diesen Effekt übt es durch Hemmung der Osteoklasten, vermehrte renale Calcium Ausscheidung und reduzierte Aufnahme über den Darm aus. Die Effektivität dieser Wirkung ist jedoch zumindest beim Menschen eher untergeordnet. Selbst bei fehlender Calcitoninproduktion kommt es zu keiner langfristigen Verschiebung des Calciumstoffwechsels(1).

Auch das Peptidhormon Somatotropin aus dem Hypophysenvorderlappen wirkt stimulierend auf die Knochenbildung.

1.1.3 Labormarker

Im Folgenden sollen kurz die gemessenen Laborwerte und ihre Bedeutung für das Krankheitsbild vorgestellt und erläutert werden.

PTH:

Bedingt durch seine kurze Halbwertszeit von wenigen Minuten sollte Parathormon baldmöglichst nach der Blutentnahme gemessen werden. In nicht zentrifugiertem Serum bei Raumtemperatur liegt die Stabilität der Messwerte bei gerade einmal 4 Stunden, dieser Wert lässt sich bei zentrifugiertem Serum auf 48 Stunden steigern, bei Temperaturen von 2-8°C (4).

Calcium:

In den Guidelines des Management des primären pHPT nimmt die Bestimmung des Calcium in der Diagnostik eine gewichtige Rolle ein. Hierbei wird die Bestimmung des Gesamtcalcium bevorzugt, da nicht jedes Zentrum die Kapazitäten für die Bestimmung der freien Form besitzt.

Auch sollte der Calcium-Wert auf die Albuminkonzentration korrigiert werden, um Abweichungen durch erhöhte Proteinbindung zu vermeiden. Empfohlen wird die Formel „Korrigiertes Calcium = gemessenes Gesamtcalcium in mg/dl + 0,8 x (4,0 - Serum Albumin Konzentration in g/dl)“ (5).

Spezielle Labormarker des Knochenstoffwechsels:

Generell lässt sich sagen, dass die messbaren Marker für den Knochenstoffwechsel einem circadianen Rhythmus unterliegen. Eine einheitliche Zeit der Blutabnahme sollte also nicht nur für Studien, sondern auch für Folgekontrollen gewählt werden (1).

P1NP (Prokollagen Typ 1 aminoterminales Propeptid):

Im Rahmen der Synthetisierung von Kollagen Typ 1, welches wie beschrieben den Hauptanteil der organischen Knochenmatrix ausmacht, wird von seinem Vorläufer Prokollagen Typ 1 an seinen beiden Enden je ein Propeptid abgespalten. Die Enden werden mit N (auch als Amino Ende bezeichnet) und C (Carboxy Ende) bezeichnet.

Durch den direkten Zusammenhang zwischen Kollagenaufbau im Knochen und P1NP Abspaltung im Rahmen davon, handelt es sich bei P1NP um einen direkten Marker für den Knochenaufbau. Er ist in der Blutprobe messbar.

Verwendung findet er häufig in der Verlaufskontrolle bei Patientinnen mit postmenopausal bedingter Osteoporose. Auch in der Behandlung der Osteodystrophia deformans spielt P1NP eine Rolle. Bekannt sind deutlich erhöhte Werte im Rahmen vom Nierenversagen, welches zu Fehlinterpretationen führen kann (6).

BALP (Bone-specific alkaline phosphatase):

BALP kommt als Glykopeptid in der Plasmamembran von Osteoblasten vor. Nach enzymatischer Abspaltung durch eine Phospholipase gelangt sie in den Blutkreislauf. Die BALP wird als guter Indikator für den Knochenaufbau gesehen. Gemessen wird sie entweder in ihrer Gesamtmasse oder in der Enzymaktivität. Hierüber spiegelt sie die Aktivität der Osteoblasten wieder. Beide Parameter werden als wertvoll in der Interpretation der Aktivität der Knochenformation gesehen. Meist wird die Bestimmung zur Verlaufskontrolle und Diagnostik von Osteoporose verwendet. (7).

OC (Osteocalcin):

Bei Osteocalcin handelt es sich um ein aus 49 Aminosäuren bestehendes Peptidhormon, das ausschließlich von Osteoblasten sezerniert wird. Verwendet wird es als Marker für Knochenbildung.

Osteocalcin hat großen Einfluss auf die Mineralisation des Knochens. Niedrige OC-Spiegel führen zu einer stark erhöhten Mineralisation des Knochens. In der Osteologie wird es daher unter anderem auch als Biomarker der Knochenmineralisation verwendet.

Osteocalcin kann sich an Hydroxylapatit und Calcium binden und eine Hemmung einer übermäßigen Knochenmineralisierung bewirken.

Gebildet wird es während der Knochenformation Vitamin K-abhängig und macht mit 1-2% einen kleinen Teil der nichtkollagenen Knochenmatrix aus. Auch Vitamin D fördert die Produktion.

Die Messung von Osteocalcin erfolgt mittels Chemilumineszenz-Immunoassay und besitzt eine gute diagnostische Spezifität.

Nach seiner Produktion hat es eine kurze HWZ von circa 4 min. Die Ausscheidung erfolgt renal, daher sind Messwerte bei bestehender NINS kaum verwertbar.

Die Bestimmung erfolgt aus dem Serum.

Erhöhte Werte sind bekannt bei der high-turnover Osteoporose oder auch Hyperparathyreoidismus. Das Gegenteil ist der Fall bei Hypoparathyreoidismus oder der low-turnover Osteoporose.

Verwendet wird die OC Bestimmung auch zur Messung der Effektivität einer Vitamin D oder Bisphosphonat Behandlung (8).

β -Crosslaps (CTX, C-terminales quervernetztes Bruchstück der I-Tripelhelix):

Es handelt sich bei CTX um Abbaufragmente des Kollagen Typ I. Es fällt im Rahmen der Knochenresorption durch die Osteoklasten an. Da es sich um direkte Spaltprodukte des Kollagens handelt, kann durch die Messung im Plasma auf die tatsächliche Aktivität der stattfindenden Knochenresorption geschlossen werden. Ebenso wie bei anderen Knochenmarkern ist eine einheitliche Zeit der (nüchternen) Blutabnahme zu empfehlen, da auch hier ein zirkadianer Rhythmus der Konzentration beschrieben ist (9).

1.2 Hyperparathyreoidismus

Die Erkrankung Hyperparathyreoidismus (HPT) ist definiert als Zustand erhöhter Parathormon-Spiegel im Blutkreislauf. Die Ursache besteht grundlegend in einer Überproduktion in den Nebenschilddrüsen. Bedingt sein kann diese entweder aufgrund einer endogenen Überproduktion oder durch exogene stimulierende Faktoren (10).

Der primäre Hyperparathyreoidismus (pHPT) ist die dritthäufigste endokrinologische Erkrankung, wobei die erhöhte Menge an Parathormon hier bedingt ist durch eine Autonomie in einer oder mehrerer der Nebenschilddrüsen, welche unkontrolliert - unabhängig vom Serumcalcium - PTH produziert und ausschüttet. Sekundärer Hyperparathyreoidismus entsteht im Rahmen von Erkrankungen, die zu erniedrigter Serumcalciumkonzentration führen. Dies können Erkrankung der Nieren, Leber oder des Darmes sein. Die erhöhte Produktion ist somit bedingt durch den negativen Rückkopplungsmechanismus in Folge des durch andere Faktoren erniedrigten Calcium-Spiegels.

Die Existenz und Definition eines tertiären Hyperparathyreoidismus ist umstritten. Beschrieben wird er als Folge eines über längere Zeit anhaltenden sekundären HPT, welcher sich als Ausbildung einer Autonomie des NSD-Gewebes zeigt. Beispielsweise im Falle von chronischen Nierenerkrankungen kann sich das Krankheitsbild manifestieren. Als ursächlich werden hier insbesondere die dauerhafte Stimulation des NSD-Gewebes aufgrund von langfristig erniedrigter Ca^{2+} -Spiegel, hohen Phosphatwerten und niedrigen Vitamin D Werten gesehen. Den tertiären HPT charakterisiert zudem ein Nichtansprechen auf künstlich medikamentöse Vitamin D oder Calcium Gaben. Vermutet wird auch eine verminderte Ausbildung des CASR als Mitursache des Entstehens der Erkrankung. Zumeist sind alle vier Epithelkörperchen von der Hyperplasie betroffen (11).

1.2.1 Epidemiologie und Einteilung

Die häufigste Form eines primären Hyperparathyreoidismus besteht in der Ausbildung eines einzelnen Adenoms in einer der vier Nebenschilddrüsen. Ungefähr 75-85% aller Fälle eines primären Hyperparathyreoidismus können dieser Krankheitsgruppe zugeordnet werden.

Gleichzeitig bestehende Autonomie in mehr als einem Epithelkörperchen macht 15% der Fälle aus.

Selten ist ein autonom PTH-produzierendes Carzinom der Nebenschilddrüse (1%).

Nebenschilddrüsenadenome führen meist zu einer Vervielfachung der Größe der normalerweise unsichtbaren und nur 30-35 mg wiegenden Organe (12). Größenzunahmen von Zentimetern und Gewichte von bis zu 5 g sind beschrieben. Häufiger treten die Adenome im Bereich der unteren Schilddrüse auf, jedoch ist auch eine Ektopie mit bis zu 16% der Fälle nicht selten (10).

Die Inzidenz eines primären Hyperparathyreoidismus wird auf ca. 1:500-1:1000 geschätzt. Diese steigt mit dem Alter stark an. Frauen sind doppelt so häufig betroffen wie Männer mit einer gesamten Verteilungsspitze bei Frauen zwischen 50-60 Jahren (13).

1.2.2 Symptomatik, klinisches Bild

Als klassischer Leitsatz für die Symptomentrias gilt der Spruch „Stein, Bein, Magenpein“. Beschreiben soll dies die Häufung von Nierensteinen im Rahmen der stark erhöhten tubulären Resorption von Calcium, Knochen- und Bewegungsschmerzen durch die erhöhte Entmineralisierung bei gesteigerter Knochenresorption und Beschwerden des Gastrointestinaltrakts.

In der Praxis zeigt sich jedoch sehr häufig ein asymptomatischer Verlauf. Bei geschätzt 70-80% der Patientinnen und Patienten handelt es sich um eine Zufallsdiagnose im Rahmen von Routinelaboruntersuchungen, welche den erhöhten Calcium-Spiegel zeigen. Am ehesten werden die Patientinnen und Patienten aufgrund von Nephrolithiasis symptomatisch (10). Durch die erhöhte Calciumresorption kann es bei schweren Verläufen zur Nephrokalzinose kommen. Gastrointestinale Beschwerden äußern sich meist in der Form von Nausea, Erbrechen oder auch Obstipation.

Polydipsie und Polyurie sind ebenso beschrieben.

Nicht klassische Manifestationen des pHPT können auch im Bereich des kardiovaskulären Systems liegen.

Beeinträchtigungen der neurologisch-kognitiven Fähigkeiten wie Konzentrationsfähigkeit, Depressionen oder Lebensqualität werden von manchen Autoren ebenso als mögliche Effekte eines pHPT gesehen (5). Besserungen der neurokognitiven Funktionen nach einer Parathyreoidektomie wurden berichtet (14) (15).

1.2.3 Leitlinien der Diagnostik und Therapie

Im Jahr 2014 wurden Leitlinien zur Behandlung von asymptomatischem primärem Hyperparathyreoidismus veröffentlicht (5).

Hypercalcämie ist ein klassisches Symptom des pHPT.

Als wichtigster Wert in der Erkennung der Erkrankung wird hier zunächst eine Bestimmung des Serum Calcium empfohlen. Die Adjustierung auf den Albuminwert sollte erfolgen.

Auch der Parathormonspiegel selbst sollte bestimmt werden. Referenzwerte schwanken hier, da er beeinflusst wird von der normalen Vitamin D Sättigung der jeweiligen Population, welche regional bedingt schwankt.

Auch gibt es Hinweise auf eine verstärkte Auswirkung der Erkrankung bei gleichzeitigem Vitamin D Mangel.

Es muss ebenso abgeklärt werden, ob die vermehrte PTH Ausschüttung ursprünglich durch Vitamin D Mangel im Sinne eines sekundären HPT entstanden ist. Die Messung des Calcidiol zum Erheben des Vitamin D Speichers wird empfohlen.

Auch Patientinnen und Patienten mit normalen Calcium-Spiegeln können an einem primären Hyperparathyreoidismus erkrankt sein. Diese als **normocalcämischer primärer Hyperparathyreoidismus** bezeichnete Form der Erkrankung hat in den letzten Jahren vermehrt Anerkennung gefunden (5). Das fehlende Leitsymptom Hypercalcämie bei gleichzeitigem Ausschluss sekundärer Ursachen des PTH ist hierfür diagnosestellend. Patientinnen und Patienten mit normocalcämischem pHPT können ebenso wie bei der hypercalcämischen Form die Zeichen der Endorganschädigung aufweisen. Bei dieser Gruppe von Erkrankten sollte jährlich Calcium und PTH bestimmt werden, und 1-2 jährlich eine Knochendichtemessung durchgeführt werden. Bei Übergang in einen hypercalcämischen pHPT werden dessen Leitlinien befolgt. Sollte unter weiterhin niedrigen Calciumwerten eine Krankheitsprogression auftreten wie beispielsweise Knochenbrüche, Abnahme der Knochendichte (BMD) oder eine Nierenbeteiligung, so wird die Operationsindikation gestellt.

Asymptomatische Patientinnen und Patienten bleiben häufig über lange Zeit stabil. Jedoch ist auch eine Progression der Erkrankung mit ca. einem Drittel der Erkrankten über eine Zeitspanne von 15 Jahren als häufig anzusehen. Eine erniedrigte Knochendichte wurde bei dieser Gruppe von Patientinnen und Patienten auffällig (16).

Folgende Untersuchungen werden als Standarduntersuchungen in der Kontrolle von Patientinnen und Patienten mit asymptomatischem pHPT empfohlen (5):

1. Laborchemische Bestimmung von Calcium, Phosphat, Aktivität der alkalischen Phosphatase, Kreatinin, Vitamin D3
2. Parathormon-Spiegel
3. Knochendichtemessung mittels DXA (LWS, Hüfte, distaler Radius)
4. 24-h Urin mit Bestimmung von Calcium, Kreatinin, Kreatinin-Clearance, Harnsteine
5. Bildgebung des Abdomens mittels Röntgen, Ultraschall oder CT

Die Knochendichtemessung mittels Dual Energy X-ray Absorptiometry (DXA) wurde über längere Zeit als ausschlaggebend für die radiologische Bewertung der Knochenstruktur angesehen. Hauptsächlich lässt sich mit diesem Verfahren jedoch die Kortikalis des Knochens darstellen, eine Aussage über die Festigkeit der Trabekelstruktur konnte die Untersuchung bisher nicht verlässlich geben.

Neue Verfahren wie der Trabecular Bone Score (TBS) widerspiegeln die Trabekelstruktur der Spongiosa besser.

Um Patientinnen und Patienten mit **Nierenbeteiligung** im Sinne einer Nephrolithiasis oder sogar beginnender Nephrocalcinose erkennen zu können, empfiehlt die Behandlungsleitlinie ausführlichere bildgebende Verfahren wie Ultraschall, Abdomen-Röntgen oder sogar CT.

Die Haupteckdaten der Leitlinie liegt in einer deutlich **offensiveren Indikationsstellung zur operativen Intervention** als zuvor.

Als Grenzwert gilt eine Calciumerhöhung von >1 mg/dl über dem oberen Normalwert. In der Knochendichtemessung gelten für Frauen in oder nach der

Menopause und Männer über 50 Jahren ein T-Wert unter -2,5 der LWS, Oberschenkelhals, Hüfte oder distalem Radius als Empfehlung zur chirurgischen Intervention. Für Männer unter 50 Jahren und Frauen vor der Menopause wird ein Z-Wert gleich oder unter -2,5 als Empfehlung zur OP gesehen. Gewünscht wäre auch hier eine genauere Bewertung der Knochensubstanz mittels tiefer gehender Verfahren wie TBS.

Wirbelfrakturen führen sofort zur Operationsempfehlung.

Im Bereich der Nierenfunktion gilt eine Kreatinin Clearance <60 ml/min als OP Empfehlung. Gleiches gilt bei Nephrolithiasis oder Nephrocalcinose in bildgebenden Verfahren.

Die Parathyreoidektomie gilt bei entsprechender Indikation als empfohlene langfristige Therapie. Es zeigt sich eine rasche Besserung der BMD mit reduzierter Frakturhäufigkeit und eine Abnahme von Nierensteinen bei Betroffenen.

Bildgebende Verfahren haben zu sicheren Operationsverfahren mit besserer Übersicht geführt, auch radioaktive Markierungen mit Technetium werden angewendet (17).

Mittels minimalinvasiver Verfahren mit gleichzeitiger Messung des Parathormonspiegels konnten Operationsausmaße und -zeiten reduziert werden.

Durch die kurze Halbwertszeit von Parathormon im Blutstrom kann häufig bei Entfernung des Adenoms eine Halbierung der PTH Werte innerhalb von 10-15 Minuten beobachtet werden.

Die Leitlinie weist explizit darauf hin, dass nur mit dem Eingriff voll vertraute und hocherfahrene Chirurginnen und Chirurgen diesen durchführen sollte.

Nicht alle Erkrankte erfüllen die Operationsindikation und nicht alle die sie erfüllen, können und möchte die Operation auch durchführen lassen.

Asymptomatische Patientinnen und Patienten können über Jahre mit Kontrollen überwacht werden.

Die Intervalle sollten von der Ärztin oder dem Arzt gewählt werden. Besonderer Fokus wird bei diesem Vorgehen erneut auf den Vitamin D Spiegel gelegt. Als untere Grenze wird ein Wert von >20 ng/dl Calcidiol empfohlen, wobei auch ein

Wert von >30 ng/dl sinnvoll sein kann, da unter Vitamin D Gabe beim pHPT die PTH Serumspiegel abnehmen.

Im Bereich der medikamentösen Intervention empfiehlt die Leitlinie ein Vorgehen nach Zielorgan. Bei erniedrigter Knochendichte wird die Einleitung einer Bisphosphonattherapie mit vorzugsweise Alendronat empfohlen, welche jedoch kaum Auswirkungen auf den Calcium- und Parathormon-Spiegel hat. Steht der erhöhte Calcium-Spiegel im Vordergrund, so wird das Calcimimeticum Cinacalcet als möglicher Weg gesehen, diesen in vielen Fällen wieder in die Norm zu bringen. Der Einfluss von Cinacalcet auf den Parathormon-Spiegel wird als sehr begrenzt bezeichnet.

Für Kombinationstherapie sei die Datenlage noch sehr gering.

1.2.4 Knochenstoffwechsel bei HPT

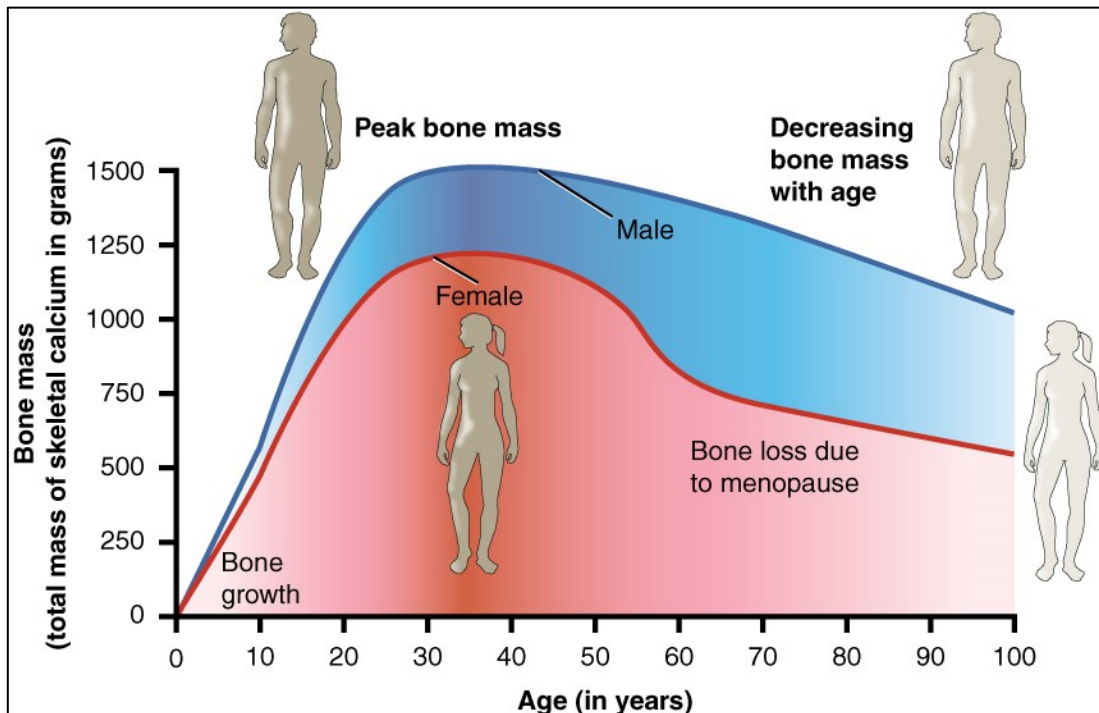


Abbildung 3: Verlauf der altersabhängigen Knochendichte

Quelle: <http://cnx.org/content/col11496/1.6/>

In der dritten und vierten Lebensdekade erreicht die Knochenmasse ihr Maximum. In seiner Gesamtheit nimmt das Verhältnis von Knochenauf- und -abbau dann ab. Osteoporose ist in der Regel eine Erkrankung des älteren Menschen. Als ursächlich gesehen werden ein Rückgang der körperlichen Aktivität und damit einhergehend eine geringere Stimulation des Knochenaufbaus. Der wichtigste Faktor in der Entstehung des Krankheitsbildes ist zudem ein im Alter fallender Spiegel von Östrogen und Androgenen und eine Abnahme des Vitamin D Spiegels. Da diese hormonelle Umstellung bei der Frau bekanntermaßen deutlich früher auftritt als beim Mann, ist die vermehrte Betroffenheit von Frauen an Osteoporose erklärlich. Zunächst tritt die Phase von vermehrtem Abbau durch aktivere Osteoklasten (high turnover bone loss) von 5-10 Jahren postmenopausal ein. Im späteren Verlauf dominiert die geringere Osteoblastenaktivität beim sogenannten „low turnover bone loss“ (1).

Insbesondere in Regionen mit niedriger Sonnenexposition (z.B. Nordeuropa) ist zudem die Vitamin D Produktion herabgesetzt und ein Mangel daher häufig.

Die Gefahr der Osteoporose liegt in höherer Anfälligkeit für Knochenbrüche. Schenkelhalsbrüche oder sogar Impressionsfrakturen der Wirbel können die Folge sein.

Im Gegensatz zu der altersbedingten, primären Osteoporose spricht man im Falle von pHPT von sekundärer Osteoporose.

Die dauerhafte Stimulation des Parathormons zur Bereitstellung von Calcium aus den Knochen führt hierbei zur vermindert starken Knochenstruktur mit einhergehender Frakturgefährdung.

Mehrere Studien zeigen eine Rückkehr zur ursprünglichen Knochendichte (BMD) und auch Normalisierung der Labormarker für den Knochenstoffwechsel ausschließlich bei durchgeführter Parathyreoidektomie (18) (19) (20).

1.2.5 Kardiales Remodeling

Kardiales Remodeling beschreibt Umbauprozesse des Herzmuskels bei fortschreitender Herzinsuffizienz. Das Herz wird bei dieser Erkrankung von Sauerstoff unterversorgt.

Zur Kompensation wird die Katecholaminausschüttung erhöht und auch das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System wird vermehrt stimuliert. Zusammen bewirken diese Mediatoren einen Anstieg des Blutdruckes. Dauerhaft erhöhter Blutdruck hingegen schädigt nicht nur das Endothel, sondern führt über seine Druckbelastung auf die Ventrikel zur kompensatorischen Hypertrophie.

Die Zeichen des kardialen Remodeling sind erkennbar auf sowohl makroskopischer als auch mikroskopischer Ebene.

Bei Ultraschalluntersuchungen fallen hierbei beispielsweise eine Zunahme der Ventrikelwanddicke und ein allgemein vergrößertes Herz auf. Auch die Pumpfunktion nimmt ab.

Mikroskopisch lässt sich das kardiale Remodeling an verschiedenen zellulären Veränderungen erkennen.

So kommt es bei vermehrter Belastung des Herzens zu einer Zellhypertrophie, welche jedoch nicht alle Kardiomyozyten betrifft.

Im Rahmen der Herzinsuffizienz kommt es ebenso zur Apoptose vieler Herzmuskelzellen. Diese Zellen können nicht mehr ersetzt werden. Daher zeigt sich im Verlauf das mikroskopische Bild von verhältnismäßig wenigen, jedoch hypertrophen Kardiomyozyten.

Auch die bindegewebigen Zellen des Myokards verändern sich in der Herzinsuffizienz. Es wird vermehrt Kollagen produziert und vernetzt, wodurch die Fähigkeit zur Dehnung zunehmend verloren geht. Durch den Mechanismus der Myokardfibrose lässt sich somit teilweise auch die diastolische Funktionsstörung herleiten (21).

In den letzten Jahren wiesen Forschungsergebnisse vermehrt auf einen möglicherweise verstärkten Verlauf der Erkrankung bei gleichzeitigem Hyperparathyreoidismus hin.

So identifizierte eine Studie PTH als wichtigen Mediator des kardialen Remodeling bei Hyperaldosteronismus.

Erhöhte PTH-Werte führten hier zu hohen intrazellulären Calcium-Spiegeln, welche laut den Autoren zu oxidativem Stress und verminderter ATP-Produktion führten. Die Folge davon waren Apoptosen der Muskelzellen, Nekrosen und im gesamten linken und rechten Herzmuskel verteilter fibrotischer Umbau (22).

Eine große Übersichtsarbeit mit über 37.000 Patientinnen und Patienten zeigte bei pHPT ein signifikant erhöhtes Vorkommen von Herzinsuffizienz, KHK (koronare Herzkrankheit) und Niereninsuffizienz. Nach Anpassung auf Modifikatoren blieb pHPT ein unabhängiger Risikofaktor für arteriellen Hypertonus (23).

Autoren einer weiteren Übersichtsarbeit sehen eine direkte Wirkung von PTH mittels G-Protein-gekoppelten Rezeptoren im Herzmuskel. Diese beeinflusst die Kontraktilität der Kardiomyozyten und deren Hypertrophie.

Assoziationen von erhöhten PTH-Spiegeln sehen sie mit arteriellem Hypertonus, Hypertrophie insbesondere des linken Ventrikels, Arrhythmien, calcifizierenden Klappenerkrankungen und Herzinsuffizienz.

Auch im Gefäßsystem verursacht PTH demnach eine Endothelschädigung welche zusammen mit den soeben beschriebenen Veränderungen zu erhöhter Morbidität und auch Mortalität führt. Eine chirurgische oder medikamentöse Intervention könne hier zum Vermeiden und auch Umkehren der schädigenden Prozesse führen (24).

Im Kollektiv der EPATH Studie (25) fand sich bei 73% der 136 Teilnehmerinnen und Teilnehmer mit pHPT eine linksventrikuläre Hypertrophie. Statistisch signifikante Korrelationen zeigten sich bei diesen Patientinnen und Patienten auch mit dem Entzündungswert CRP (C-Reaktives-Protein) (26).

Eine weitere Studie zeigte auch in einem Kollektiv von normocalcämischem pHPT ähnlich erhöhte Wahrscheinlichkeiten für ein metabolisches Syndrom mit Insulinresistenz und bestehenden arteriellen Hypertonus, wie bei der hypercalcämischen Form der Erkrankung.

PTH-Werte wurden hier in einer signifikanten Korrelation mit Glucoseintoleranz, erhöhten Triglyzeriden und Taillenumfang erkannt (17).

Diese Faktoren sind bekannt dafür, das kardiovaskuläre Risiko zu erhöhen.

2 Hypothese

Rezente Studien haben ergeben, dass eine Verbindung zwischen Knochenerkrankungen und der Funktion des Herzens zu vermuten ist. Bei bestehendem primärem Hyperparathyreoidismus scheint dieses Verhalten verstärkt zu sein.

Patientinnen und Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz zeigen gehäuft erniedrigte Knochendichtewerte und sogar Wirbelfrakturen.

Die Datenlage deutet darauf hin, dass erhöhte Parathormon-Werte als Risikofaktor für Herzversagen betrachtet werden können (27). Dazu passend zeigen Patientinnen und Patienten, welche an primärem Hyperparathyreoidismus leiden, zusätzlich zu ihrem erhöhten Knochenstoffwechsel auch Schwächen der linksventrikulären Pumpfunktion (LVEF) (28). Statistisch lässt sich hierbei nicht nur die erhöhte Morbidität, sondern sogar eine erhöhte Mortalität nachweisen (29).

Um diesen sich bereits abzeichnenden Zusammenhang genauer zu verstehen, testeten wir die Hypothese, dass Labormarker des Knochenstoffwechsels mit sowohl der systolischen als auch der diastolischen Pumpfunktion des Herzens bei Patientinnen und Patienten mit pHPT korrelieren.

3 Methodik

3.1 EPATH Studienkohorte inkl. pHPT Definition

Die verwendeten Daten der vorliegenden Arbeit stammen aus der doppelblinden, randomisierten und Plazebo-kontrollierten EPATH Studienkohorte.

Inklusionskriterien waren hierbei die laborchemische Diagnose des primären Hyperparathyreoidismus, ein Mindestalter von 18 Jahren und eine schriftliche Einwilligung im Sinne eines „informed consent“.

Die Diagnose hypercalcämischer pHPT wurde hier bei einem Screening Wert von > 46 pg/ml iPTH (serumintaktes Parathormon) bei gleichzeitig bestehender Hypercalcämie ($> 2,55$ mmol/l Gesamtcalcium oder $> 1,35$ mmol/l ionisiertes Plasma Calcium oder dauerhafte Cinacalcettherapie) gestellt.

Ein Wert > 65 pg/ml iPTH bei einem Calcium-Wert über dem mittleren Referenzwert von $2,35$ mmol/l führte zur Diagnosestellung normocalcämischer pHPT. Ursachen eines sekundären HPT wie Vitamin D Mangel (< 20 ng/dl Calcidiol), NINS (GFR ≤ 40 ml/min per 1.73m^2) wurden ausgeschlossen (25).

Von der Teilnahme ausgeschlossen wurden Probandinnen und Probanden welche an einer akuten Erkrankung litten oder krankheitsbedingt eine geschätzte Lebenserwartung unter einem Jahr aufwiesen. Auch eine laufende Radio- oder Chemotherapie führte zum Ausschluss. Die Verwendung der Daten zum Forschungszweck dieser Arbeit wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz bewilligt (# 24-031 ex 11/12). Die Studie wurde nach den Richtlinien der Good Clinical Practice (GCP) und der Erklärung von Helsinki durchgeführt.

Das Studiendesign der EPATH Kohorte umfasste eine achtwöchige Behandlungszeit. Es erfolgte eine Randomisierung der Teilnehmerinnen und Teilnehmer in eine Placebogruppe und eine Interventionsgruppe. Die Kohorte der Experimentalgruppe nahm über acht Wochen täglich den Mineralkortikoidrezeptorblocker Eplerenon ein. In den ersten vier Wochen betrug die Dosis 25 mg täglich, nach vier Wochen wurde diese dann verdoppelt auf 50 mg.

Insgesamt bestand die Datenerhebung aus fünf Besuchsterminen. Die ersten Messungen erfolgten zur Erhebung der Baseline. Weitere Termine nach 1, 4, 5, und 8 Wochen sollten Veränderungen dokumentieren.

Der primäre Endpunkt der EPATH Studie bestand darin, einen Effekt des Eplerenon auf den Parathormonspiegel laborchemisch zu erkennen und zu untersuchen.

3.2 Labormethoden

Die Patientinnen und Patienten wurden angewiesen, nüchtern zur Blutentnahme am ersten Untersuchungsbesuch zu erscheinen. Zwischen 7-11 Uhr morgens wurden den Teilnehmenden Blutproben entnommen. Eine Ruhephase in sitzender Position von mindestens 10 Minuten vor der Blutentnahme wurde eingehalten.

Die Lagerung vor der Analyse erfolgte zunächst bei Raumtemperatur, im Fall der PTH-Proben bei 4° C. Innerhalb einer Stunde wurden die Proben zentrifugiert und bei -80°C eingefroren.

Die Blutproben zur Bestimmung von Parathormon wurden nicht eingefroren, sondern umgehend mittels ECLIA (Elektrochemilumineszenz-Immunoassay) bestimmt. Als Normalwerte galten hierbei 15-65 pg/ml PTH.

Die Labormarker für Osteoblastenaktivität P1NP, OC, knochenspezifische alkalische Phosphatase (BALP) und die Osteoklastenaktivität β -Crosslaps (CTX) wurden mittels ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) bestimmt.

Weitere Laborparameter wurden mittels konventionellen Methoden gemessen. Die Werte für gesamtes Plasma-Calcium wurden für eventuelle Hypoalbuminämie (< 4 g/dl) mit der Formel „Korrigiertes Calcium = gemessenes Gesamtcalcium in mg/dl + 0,2 x (4,0 - Serum Albumin Konzentration in g/dl)“ angepasst.

3.3 Echokardiographie

Für eine echokardiographische Untersuchung im Rahmen der Baseline-Untersuchung wurden Vivid 7 oder Vivid 9 Ultraschallgeräte der Firma GE Healthcare genutzt.

Die Analyse erfolgte im Echocardiography CoreLab (Abteilung für Kardiologie, Medizinische Universität Graz). Hier wurden die aufgenommenen Bilder und Videos von einem einzigen Forscher analysiert. Der Analysierende war hierbei verblindet gegen die individuellen Patientinnen- und Patientendaten und den Randomisierungsarm.

Untersucht wurde unter anderem die diastolische Funktion des linken Herzens im Sinne der durchschnittlichen e' mittels Gewebsdoppler Echokardiographie.

Als Messwert für die systolische Linksherzfunktion wurde die linksventrikuläre Ejektionsfraktion (LVEF) gemessen.

3.4 24-Stunden Blutdruckmessung

Der Blutdruck der Patientinnen und Patienten wurde im Rahmen einer 24-Stundenmessung gemessen. Zur korrekten Anbringung der Blutdruckmanschette wurde bei jeder Patientin und jedem Patienten der Armumfang bestimmt. Als Messgerät wurde der tragbare Mobil-O-Graph eingesetzt (I.E.M. GmbH, Stolberg, Deutschland). Dieser entspricht den Kriterien der britischen Gesellschaft für Bluthochdruck.

Zwischen 06:00 und 10:00 Uhr wurde der Blutdruck und die Herzfrequenz alle 20 Minuten gemessen. Zwischen 10:00 und 06:00 erfolgte die Messung der zwei Parameter alle 30 Minuten.

Nach der Orientierung an der ESC (European Society of Cardiology) wurden die Daten in Tag- (09:00 – 21:00 Uhr), Abend- (21:00 – 01:00 Uhr) und Nachtmessungen (01:00 – 06:00 Uhr) eingeteilt.

3.5 Statistik

Um eine statistische Power von 80% und ein Signifikanzniveau von 5% zu erlangen, wurde ein Korrelationskoeffizient zwischen Knochen- und Herzparametern von 0.225 angenommen, sodass eine Stichprobengröße von 153 Patientinnen und Patienten nötig war.

Die kontinuierlichen Variablen werden als Mittelwert (M) +/- Standardabweichung (SD), oder bei einer schiefen Verteilung als Mediane und interquartile Range (IQR) aufgeführt. Zahlen und Prozente werden für kategoriale Variablen verwendet.

Mittels des Kolmogorow-Smirnow-Tests wurde die Verteilung der kontinuierlichen Variablen hinsichtlich der Konkordanz zwischen Mittelwert und Median, Wölbung und Schiefe evaluiert und eine visuelle Inspektion durchgeführt.

Nicht-normal verteilte Variablen wurden 10er logarithmiert, quadriert (nur LVEF) oder Ln-logarithmiert (nur CTX) vor der Verwendung in Berechnungen.

Assoziationen zwischen Parathormon, Calcium, LVEF und e' mit dem Knochenstoffwechsel wurden mittels Pearson Korrelationsanalyse durchgeführt.

Mittels schrittweiser multivariater linearer Regressionsanalyse mit jedem Knochenmarker als jeweilige unabhängige Variable beinhaltete Model 1 als zusätzliche unabhängige Parameter PTH und Calcium.

In Model 2 wurden zusätzlich Anpassungen vorgenommen für solche Parameter, welche als klassische Modifikatoren für Knochenstoffwechsel oder Herzfunktion bekannt sind. Diese beinhalteten Alter, Geschlecht, HbA1c, BMI, mittlerer 24-Stunden systolischer Blutdruck, Rauchstatus und geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR), laufende antihypertensive oder Osteoporosemedikation, Calcidiol und NT-proBNP.

Schrittweise multivariate lineare Regressionsmodelle mit der LVEF oder e' als abhängige Variable und P1NP, OC, BALP oder CTX als jeweilige unabhängige Variable wurden durchgeführt. Weitere Anpassungen sind oben beschrieben.

Für alle schrittweisen multivariaten linearen Regressionsanalysen wurde ein P-Wert <0,05 für Inklusion, und ein P-Wert >0,1 als Ausschluss verwendet.

Für die statistischen Analysen wurde das Programm SPSS 22.0 (SPSS, Inc, Chicago, IL) verwendet. Als statistisch signifikant galt ein zweiseitiger p-Wert von <0.05.

4 Ergebnisse

4.1 Charakterisierung der Kohorte

4.1.1 Demographie

Von den n = 155 Teilnehmerinnen und Teilnehmern in der Kohorte waren 122 (78.7%) weiblich und 33 (21.3%) männlich. Der Altersdurchschnitt lag bei 67.0 (+/- 10.6) Jahren. Der BMI betrug 27.8 (+/- 5.0) kg/m². Von den 155 Personen in der Kohorte waren 59 (38.1%) Raucherinnen und Raucher. Des Weiteren lag die geschätzte GFR (eGFR) bei 76.9 (+/- 16.4) ml/min/1.73 m². Der durchschnittliche HbA_{1c} lag bei 37.0 (35.0-40.0) mmol/mol. Im Mittel betrug der Cholesterinspiegel innerhalb der Kohorte 203.0 (+/- 42.3) mg/dl.

15.5 % der Patientinnen und Patienten erhielten zum Zeitpunkt der Datenerhebung eine Osteoporose Therapie.

4.1.2 Knochenmarker

In der Untersuchungskohorte zeigten sich folgender Status der Labormarker für Knochenstoffwechsel:

Parameter (exemplarische Normalwerte)	Gemessene Werte
PTH (10-65 pg/ml)	99.1 (81.5-124.6) pg/ml
P1NP (16-96 ng/ml)	48.0 (31.2-71.3) ng/ml
BALP (Frauen 50-76a: 5.6-29 µg/ml)	19.1 (14.7-25.8) µg/ml
OC (Frauen >18a: 2-15 ng/ml)	22.8 (16.0-35.1) ng/ml
CTX (Frauen >18a: <0.556 ng/ml)	0.44 (0.23-0.71) ng/ml

Tabelle 1: Ergebnisse der Knochenmarkerlaborwerte der Kohorte

4.1.3 Primärer Hyperparathyreoidismus

Alle Patientinnen und Patienten der Untersuchungskohorte hatten einen laborchemisch gesicherten primären Hyperparathyreoidismus. Von diesen wiesen 113 (72.9%) einen erhöhten Calciumspiegel im Sinne eines hypercalcämischen pHPT auf. Im Mittel betrug der PTH-Wert 99.1 pg/ml (81.5-124.6).

4.1.4 Kardiovaskulärer Status

In der Kohorte betrug die linksventrikuläre Ejektionsfraktion 63.0% (59.0-67.7). Die diastolische Funktion im Sinne der e' lag bei 7.1 (+/- 2.3) cm/s. Im Mittel lag der systolische Blutdruck über 24 Stunden bei 125.5 (+/- 12.2) mmHG, während der diastolische mittlere Wert der 24 Stundenblutdruckmessung bei 76.4 mmHG (+/- 8.6) betrug. Eine medikamentöse antihypertensive Therapie erhielten 83 der 155 Teilnehmenden (53.5%).

4.2 Knochenmarker und Parathormon/Calcium

PTH wurde direkt und unabhängig mittels einer multivariaten Regressionsanalyse mit verschiedenen Markern für Knochenstoffwechsel korreliert. Die Ergebnisse zeigen, dass PTH mit P1NP korreliert (adjustierter β -Koeffizient = 0.210, $P = 0.013$), mit OC ($\beta = 0.321$, $P = 0.001$), mit BALP ($\beta = 0.270$, $P = 0.002$) und mit CTX ($\beta = 0.378$, $P = 0.001$).

Ebenso wurden die erhobenen Serumcalciumspiegel direkt und unabhängig mit den Knochenparametern korreliert. Im Gegensatz zu PTH korreliert Calcium nicht mit OC ($\beta = 0.105$, $P = 0.210$) und CTX ($\beta = 0.065$, $P = 0.440$), aber es besteht eine signifikante Korrelation zwischen Calcium und P1NP ($\beta = 0.179$, $P = 0.035$) und BALP ($\beta = 0.182$, $P = 0.038$).

4.2.1 Univariate Analysen

Abhängige Variable	Erklärende Variable	Analyse der Pearson Korrelation	
		r	P
P1NP	PTH	0.145	0.073
	Calcium	0.299	0.001
OC	PTH	0.271	0.001
	Calcium	0.199	0.014
BALP	PTH	0.259	0.001
	Calcium	0.308	0.001
CTX	PTH	0.339	0.001
	Calcium	0.249	0.002

Tabelle 2: Univariate Korrelationen zwischen Parathormon/Calcium und Knochenmarkern

4.2.2 Multivariate Analysen

Abhängige Variable	Erklärende Variable	Multivariate lineare Regressionsanalyse			
		Model 1		Model 2	
		β	P	β	P
P1NP	PTH	0.149	0.074	0.210	0.013
	Calcium	0.268	0.002	0.179	0.035
OC	PTH	0.298	0.001	0.321	0.001
	Calcium	0.108	0.193	0.105	0.210
BALP	PTH	0.236	0.004	0.270	0.002
	Calcium	0.243	0.003	0.182	0.038
CTX	PTH	0.318	0.001	0.378	0.001
	Calcium	0.131	0.128	0.065	0.440

Tabelle 3: Multivariate Regressionsanalysen zwischen Parathormon/Calcium und Knochenmarkern

4.3 Knochenmarker und linksventrikuläre Funktion

4.3.1 Univariate Analysen

In der univariaten Regressionsanalyse mit Anpassung für PTH und Calcium, zeigte sich eine unabhängige Korrelation zwischen P1NP mit der e' und der LVEF. Auch zwischen Osteocalcin, BALP und CTX mit e' zeigte sich eine signifikante Korrelation, welche sich hingegen bei der LVEF so nicht bestätigen ließ.

Abhängige Variable	Erklärende Variable	Analyse der Pearson Korrelation	
		r	P
e'	P1NP	0.190	0.021
	OC	0.224	0.006
	BALP	0.147	0.076
	CTX	0.168	0.047
LVEF	P1NP	0.077	0.347
	OC	0.061	0.460
	BALP	0.072	0.381
	CTX	0.085	0.314

Tabelle 4: Univariate Korrelationsanalysen zwischen Knochenmarker und linksventrikulären Parametern

4.3.2 Multivariate Analysen

In Model 2 zeigte sich in der multivariaten Anpassung folgendes Verhalten.

P1NP blieb eine unabhängige Determinante von sowohl e' als auch der LVEF.

Sowohl Osteocalcin, als auch BALP waren nun unabhängig und signifikant abhängig von der e'. In dieser Rechenform konnte die zuvor in Model 1 gezeigte Abhängigkeit von CTX und e' nun nicht mehr bestätigt werden.

Abhängige Variable	Erklärende Variable	Multivariate lineare Regressionsanalyse			
		Model 1		Model 2	
		β	P	β	P
e'	P1NP	0.212	0.021	0.188	0.042
	OC	0.264	0.004	0.192	0.039
	BALP	0.191	0.042	0.198	0.030
	CTX	0.217	0.022	0.146	0.133
LVEF	P1NP	0.182	0.043	0.201	0.035
	OC	0.149	0.100	0.138	0.158
	BALP	0.165	0.072	0.108	0.248
	CTX	0.121	0.197	0.102	0.310

Tabelle 5: Multivariate Regressionsanalysen über die Korrelationen zwischen Knochenmarkern und linksventrikulären Parametern

4.4 Vergleich hypercalcämischer und normocalcämischer primärer Hyperparathyreoidismus

In der Subgruppe der Patientinnen und Patienten der hypercalcämischen Form des pHPT wurde eine erneute Analyse durchgeführt. Diese bestand aus 113 Teilnehmenden. Es zeigten sich folgende Ergebnisse:

Osteocalcin korrelierte in Model 2 signifikant mit der e' ($P=0.031$), das gleiche Verhalten zeigte sich für e' und BALP ($P=0.044$).

Auffällig war hierbei, dass in dieser Subgruppe die zuvor in der gesamten Population gezeigte Korrelation des P1NP mit sowohl der e' ($P=0.098$) als auch der LVEF ($P=0.261$) nun nicht mehr als signifikant gewertet werden konnte.

Bei erneuter Berechnung der Parameter in der Untergruppe bei bestehendem hypocalcämischem pHPT konnten keinerlei signifikante Korrelationen zwischen den Labormarkern des Knochenstoffwechsels mit der diastolischen oder systolischen Pumpfunktion des Herzens gezeigt werden.

5 Diskussion

5.1 Zusammenfassung

Durch die zuvor durchgeführte EPATH Studie ergab sich der Zugriff auf eine große Kohorte von Patientinnen und Patienten mit der Diagnose pHPT. Diese wurden im Screening der Studie ausführlich und mit verlässlichen und einheitlichen Methoden untersucht.

In der statistischen Untersuchung der Daten zeigte sich eine Korrelation zwischen Labormarkern für den Knochenaufbau und der diastolischen Funktion des linken Ventrikels e' . Im Falle des Parameters P1NP konnte eine signifikante Korrelation auch mit der linksventrikulären systolischen Funktion gezeigt werden.

Durch die verhältnismäßig große Studienkohorte konnten bekannte Kovariaten herausgerechnet werden.

Die Ergebnisse der Untersuchung zeigen demnach bei Patientinnen und Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus einen direkten Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Funktion und dem Knochenaufbau.

Zusätzlich korrelierten die Laborparameter für den Knochenaufbau mit dem PTH-Spiegel und der Höhe des Calcium-Spiegel.

Interessanterweise konnten diese Korrelationen nur in der Untergruppe des hypercalcämischen pHPT gezeigt werden.

Die signifikanten Untersuchungsergebnisse sollten also hauptsächlich im Rahmen von autonomiebedingt erhöhten Parathormonwerten betrachtet werden.

Fraglich ist, ob möglicherweise die erhöhten Parathormon-Spiegel eine so zuvor nicht erwartete kardioprotektive Wirkung haben könnten.

Von der anderen Seite betrachtet ist ebenso bekannt, dass eine verbesserte linksventrikuläre Funktion selbst den Knochenaufbau stärken kann. So zeigte eine Studie, dass bei Implantation eines ventrikulären Herzunterstützungssystems bei Patientinnen und Patienten mit Herzinsuffizienz der Spiegel von P1NP anstieg (30).

5.2 Stärken

Die Basisdaten der Untersuchung wurden im Rahmen einer randomisierten kontrollierten klinischen Studie erhoben und sind daher als verlässlich zu bewerten.

Untersuchungsdaten wurden nicht im Rahmen des Krankenhausalltags, sondern in einem für einheitliche und standardisierte Bedingungen dienenden Studiensetting erhoben. Eine höchstmögliche Einheitlichkeit der Datenerfassung und Datenauswertung wurde angestrebt.

Zudem konnte eine für das Krankheitsbild große Kohorte von 155 Teilnehmerinnen und Teilnehmern untersucht werden, eine Tatsache welche die Aussagekraft der Ergebnisse stützt. Zusätzlich wurde es dadurch ermöglicht, Störfaktoren herauszurechnen.

5.3 Schwächen

In der Studienkohorte zeigte sich eine Dysbalance der Geschlechterverteilung mit einem Frauenanteil von 78,7%. Dies mag als Schwäche ausgelegt werden, jedoch spiegelt es die tatsächliche Verteilung des Krankheitsbildes in der Bevölkerung wieder.

Die Patientinnen und Patienten wurden in einem einzigen Zentrum untersucht. Dadurch ergibt sich natürlicherweise ein sehr regionaler Blick auf die Erkrankung und ihre Epidemiologie. Alle Patientinnen und Patienten der Studienkohorte waren Kaukasier.

Letztendlich muss erwähnt werden, dass auch mit diesen Analysen nicht geklärt werden konnte, ob Veränderungen der Herzfunktion ausgelöst sind durch den veränderten Knochenstoffwechsel bei pHPT, oder ob Ursache und Wirkung sich hier auch umgekehrt darstellen könnten.

5.4 Conclusio

In einer großen Studienkohorte von Patientinnen und Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus konnte gezeigt werden, dass es eine signifikante Korrelation zwischen der linksventrikulären diastolischen Funktion mit Labormarkern für den Knochenaufbau gibt. Im Falle des Labormarkers P1NP konnte dieses Verhalten ebenfalls bei der linksventrikulären systolischen Funktion gezeigt werden.

5.5 Ausblick in die Zukunft, weitere Studienansätze

Ein interessanter Ansatz wäre die Untersuchung, ob sich die Ergebnisse in anderen Ländern mit ähnlichen Methoden in einem anderen Kollektiv von Patientinnen und Patienten bestätigen lassen, oder anders ausfallen.

Die Ergebnisse der Untersuchung wiesen auf eine verbesserte Herzfunktion bei hohen Messwerten des Knochenaufbaus bei Patientinnen und Patienten mit primärem Hyperparathyreoidismus hin. Diese Form eines möglichen Zusammenhanges zwischen Erkrankungen des Knochenstoffwechsels und kardiovaskulären Parametern war so vorher nicht bekannt. Die Grundlagen dieses Verhaltens und die Frage, ob der erhöhte Knochenaufbau möglicherweise positive Auswirkungen auf das Herzkreislaufsystem ausübt, sollten detaillierter untersucht werden.

6 Literaturverzeichnis

1. Helmberg A. Knochenstoffwechsel [Internet]. 2014. p. 1–30. Available from: <http://www.helmberg.at/knochen-stoffwechsel.htm>
2. Schmidt R, Lang F, Heckmann M. Physiologie des Menschen. 31st ed. Springer; 2010. 688-689 p.
3. Welsch U. Lehrbuch Histologie. 2nd ed. Sobotta; 2005. 97-105 p.
4. Stokes FJ, Ivanov P, Bailey LM, Fraser WD. The effects of sampling procedures and storage conditions on short-term stability of blood-based biochemical markers of bone metabolism. *Clin Chem*. 2011;57(1):138–40.
5. Bilezikian JP, Brandi ML, Eastell R, Silverberg SJ, Udelsman R, Marcocci C, et al. Guidelines for the Management of Asymptomatic Primary Hyperparathyroidism: Summary Statement from the Fourth International Workshop. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):3561–9.
6. Tirol Kliniken. Parameter-Datenbank - P1NP - Zentralinstitut für med. u chem. Labordiagnostik [Internet]. [cited 2018 Mar 15]. Available from: <https://zimcl.tirol-kliniken.at/page.cfm?vpath=parameterdetails&genericpageid=688>
7. Avbersek-Luznik I, Gmeiner Stopar T, Marc J. Activity or mass concentration of bone-specific alkaline phosphatase as a marker of bone formation. *Clin Chem Lab Med*. 2007;45(8):1014–8.
8. Tirol Kliniken. Parameter-Datenbank - Osteocalcin - Zentralinstitut für med. u chem. Labordiagnostik [Internet]. [cited 2018 Mar 15]. Available from: <https://zimcl.tirol-kliniken.at/page.cfm?vpath=parameterdetails&genericpageid=687>
9. Tirol Kliniken. Parameter-Datenbank - Beta-Crosslaps (CTX) - Zentralinstitut für med. u chem. Labordiagnostik [Internet]. [cited 2018 Mar 15]. Available from: <https://zimcl.tirol-kliniken.at/page.cfm?vpath=parameterdetails&genericpageid=744>
10. Fraser WD. Hyperparathyroidism. *Lancet*. 2009;374(9684):145–58.
11. Kennel KA, Clarke BL. Tertiary hyperparathyroidism. *Hyperparathyroidism A Clin Caseb*. 2016;139:179–88.

12. Johnson SJ, Sheffield EA, Mcnicol AM. Examination of parathyroid gland specimens. 2005;(183):338–43.
13. Suter-Widmer I, Kraenzlin ME, Meier C. [Primary hyperparathyroidism]. *Ther Umsch.* 2011;68(6):321–6.
14. Casella C, Pata G, Di Betta E, Nascimbeni R. [Neurological and psychiatric disorders in primary hyperparathyroidism: the role of parathyroidectomy]. *Ann Ital Chir.* 79(3):157-61-3.
15. Trombetti A, Christ ER, Henzen C, Gold G, Brändle M, Herrmann FR, et al. Clinical presentation and management of patients with primary hyperparathyroidism of the Swiss Primary Hyperparathyroidism Cohort: a focus on neuro-behavioral and cognitive symptoms. *J Endocrinol Invest.* 2016;39(5):567–76.
16. Rubin MR, Bilezikian JP, McMahon DJ, Jacobs T, Shane E, Siris E, et al. The natural history of primary hyperparathyroidism with or without parathyroid surgery after 15 years. *J Clin Endocrinol Metab.* 2008;93(9):3462–70.
17. Yener Ozturk F, Erol S, Canat MM, Karatas S, Kuzu I, Dogan Cakir S, et al. Patients with normocalcemic primary hyperparathyroidism may have similar metabolic profile as hypercalcemic patients. *Endocr J.* 2016;63(2):111–8.
18. Szymczak J, Bohdanowicz-Pawlak A. Osteoprotegerin, RANKL, and Bone Turnover in Primary Hyperparathyroidism: The Effect of Parathyroidectomy and Treatment with Alendronate. *Horm Metab Res.* 2013;45(10):759–64.
19. Maser RE, Lenhard MJ, Pohlig RT, Balagopal PB, Abdel-Misih R. Effect of parathyroidectomy on osteopontin and undercarboxylated osteocalcin in patients with primary hyperparathyroidism. *Endocr Res.* 2018;43(1):21–8.
20. Rajeev P, Movseysan A, Baharani A. Changes in bone turnover markers in primary hyperparathyroidism and response to surgery. *Ann R Coll Surg Engl.* 2017;99(7):559–62.
21. Weil J, Schunkert H. Pathophysiologie der chronischen Herzinsuffizienz. *Clin Res Cardiol.* 2006;4:1–12.
22. Rutledge MR, Farah V, Adeboye AA, Seawell MR, Bhattacharya SK, Weber KT. Parathyroid hormone, a crucial mediator of pathologic cardiac remodeling in Aldosteronism. *Cardiovasc Drugs Ther.* 2013;27(2):161–70.
23. Kalla A, Krishnamoorthy P, Gopalakrishnan A, Garg J, Patel NC, Figueredo

- VM. Primary hyperparathyroidism predicts hypertension: Results from the National Inpatient Sample. *Int J Cardiol.* 2017;227:335–7.
24. Brown SJ, Ruppe MD, Tabatabai LS. The Parathyroid Gland and Heart Disease. *Methodist Debakey Cardiovasc J.* 2017;13(2):49–54.
 25. Tomaschitz A, Verheyen N, Meinitzer A. Effect of eplerenone on parathyroid hormone levels in patients with primary hyperparathyroidism: results from the EPATH randomized, placebo-controlled trial. *J Hypertens.* 2016;34:1347–56.
 26. Verheyen N, Meinitzer A, Grüber MR, Ablasser K, Kolesnik E, Fahrleitner-Pammer A, et al. Low-grade inflammation and tryptophan-kynurenine pathway activation are associated with adverse cardiac remodeling in primary hyperparathyroidism: the EPATH trial. *Clin Chem Lab Med.* 2017;55(7).
 27. Marx UC, Adermann K, Bayer P, Forssmann WG, Rösch P. Solution structures of human parathyroid hormone fragments hPTH(1-34) and hPTH(1-39) and bovine parathyroid hormone fragment bPTH(1-37). *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;267(1):213–20.
 28. Ozdemir D, Kalkan GY, Bayram NA, Onal ED, Ersoy R, Bozkurt E, et al. Evaluation of left ventricle functions by tissue Doppler, strain, and strain rate echocardiography in patients with primary hyperparathyroidism. *Endocrine.* 2014;47(2):609–17.
 29. Yu N, Donnan PT, Flynn RW V, Murphy MJ, Smith D, Rudman A, et al. Increased mortality and morbidity in mild primary hyperparathyroid patients. The Parathyroid Epidemiology and Audit Research Study (PEARS). *Clin Endocrinol (Oxf).* 2010;73(1):30–4.
 30. Wu C, Kato TS, Pronschinske K, Qiu S, Naka Y, Takayama H, et al. Dynamics of bone turnover markers in patients with heart failure and following haemodynamic improvement through ventricular assist device implantation. *Eur J Heart Fail.* 2012;14(12):1356–65.