

Aus der Klinik für Endokrinologie und Diabetologie  
Funktionsbereich Endokrinologie der  
Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf  
Ärztlicher Leiter: Univ.-Prof. Dr. med. Matthias Schott

Endothelin-1- und Adrenomedullin-Plasmaspiegel bei  
Patienten mit primärem Aldosteronismus  
(Conn-Syndrom) vor und nach Durchführung  
verschiedener Funktionsteste

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

Vorgelegt von  
Sarah Maria Vogt

2016

Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der  
Medizinischen Fakultät der Heinrich-Heine-Universität Düsseldorf

gez.:

Dekanin/Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. J. Windolf

Referentin/Referent: Prof. Dr. med. H. S. Willenberg

Korreferentin/Korreferent: Prof. Dr. med. S. A. Topp

**Meinem Vater gewidmet**

Teile dieser Arbeit wurden veröffentlicht:

Vogt S, Winkler E, Hermsen D, Schott M, Schinner S, Scherbaum WA, Willenberg HS. Endothelin-1 and adrenomedullin plasma levels after exposure to fludrocortisone, dexamethasone, and spironolactone. *Clin Exp Hypertens* 2012;34:582-587

# Zusammenfassung

Das menschliche Gefäßsystem sezerniert eigenständig vasoaktive Substanzen und ist unter anderem an der Synthese verschiedener Hormone und damit an der Regulation des Blutdrucks beteiligt. Faktoren wie Endothelin-1 (ET-1) sowie Adrenomedullin (ADM) können auch als Hormone aufgefasst werden, die an der Blutdruckregulation im menschlichen Körper beteiligt sind und überwiegend im Gefäßsystem produziert werden. In vielen Studien wird eine Interaktion der Hormone ET-1 und ADM mit dem Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) postuliert. Mit dieser Studie wurde die Frage untersucht, inwieweit die Synthese und Sekretion der Hormone ET-1 und ADM von unterschiedlichen Aktivitätszuständen des RAAS beeinflusst werden. Hierzu wurden die Plasmakonzentrationen von ET-1 und ADM in Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus (PA), essentieller Hypertonie (EH) sowie Nebenniereninsuffizienz (AI) kontrolliert. Die Plasmawerte der Hormone wurden zum einen im basalen Zustand bestimmt, zum anderen nach Exposition der Patienten gegenüber verschiedenen Substanzen wie Fludrocortison, Dexamethason und Spironolacton. Während sich die Aldosteron- und Reninwerte zwischen den Patientengruppen signifikant unterschieden, konnten bezüglich der ET-1- und ADM-Konzentrationen nur geringfügige Differenzen festgestellt werden. Nach Durchführung der Funktionsteste, mit Hilfe derer ein Wechsel im Aktivitätszustand des RAAS provoziert wurde, konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden.

Zusammenfassend zeigen unsere Ergebnisse, dass das RAAS keinen für den klinischen Alltag relevanten Einfluss auf die Synthese und Sekretion der Hormone ET-1 und ADM auszuüben scheint. Die vorliegende Arbeit ist allerdings auf Grund der niedrigen Patientenzahl bei negativem Ergebnis in ihrer Aussagekraft limitiert. Auch auf das Fehlen einer gesunden Kontrollgruppe sei in diesem Zusammenhang hingewiesen.

# Inhaltsverzeichnis

## Seite

1. Einleitung.....	1
1.1    Hypertonie.....	1
1.1.1    Allgemeine Bemerkungen.....	1
1.1.2    Hypertonieformen.....	2
1.2    Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System.....	3
1.2.1    Renin, Angiotensin-1 und -2, Angiotensin-Converting-Enzym.....	3
1.2.2    Aldosteron.....	4
1.2.3    Störungen im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System.....	5
1.3    Das Endothelin-1 und Adrenomedullin- System.....	8
1.3.1    Endotehlin-1.....	8
1.3.2    Adrenomedullin.....	10
1.3.3    Endothlin-1 und Adrenomedullin.....	12
1.4    Ziele der Arbeit.....	12
2    Patienten und Methoden.....	13
2.1    Patienten.....	13
2.1.1    Charakterisierung der Patientenkollektive.....	13
2.1.2    Patientenscreening.....	14
2.2    Methoden.....	16

2.2.1	Behandlung der Patienten.....	16
2.2.2	Bestimmung des Aldosteron-Renin-Quotienten.....	16
2.2.3	Fludrocortisonsuppressionstest.....	17
2.2.4	Dexamethasonhemmtest.....	17
2.2.5	Spironolactongabe.....	18
2.3	Hormonbestimmung.....	18
2.4	Assay zur Bestimmung der ET-1- und ADM- Plasmaspiegel.....	18
2.4.1	Materialien.....	18
2.4.2	Durchführung.....	19
2.5	Statistische Analyse.....	19
3	Ergebnisse.....	20
3.1	Patienten.....	20
3.2	Endothelin-1-und Adrenomedullin-Plasmaspiegel.....	21
4	Diskussion.....	25
5	Schlussfolgerung.....	30
6	Literaturverzeichnis.....	31

# 1. Einleitung

## 1.1 Hypertonie

### 1.1.1 Allgemeine Bemerkungen

Die Hypertonie ist weltweit ein wichtiger Risikofaktor für die Entstehung von Herz-Kreislauf-Erkrankungen und damit von großer Bedeutung für Morbidität und Letalität von Schlaganfall, Herzinsuffizienz und koronarer Herzkrankheit (KHK) (Lawes, 2008). Das KHK - und Schlaganfall - Risiko steht in direktem Zusammenhang mit der Höhe des Blutdrucks (Collins, 1990), (MacMahon, 1990), (Lewington, 2002). Der frühe Beginn der therapeutischen Blutdruckeinstellung verbessert die Prognose des Patienten richtungsweisend durch die Verhinderung der Entwicklung von Folgekrankheiten (Law, 2009). Die Definition der Hypertonie sollte sowohl das individuelle kardiovaskuläre Risiko des Patienten als auch die möglichen therapeutischen Optionen berücksichtigen. So definierten Evans *et al.* bereits vor 30 Jahren die Hypertonie als die Blutdruckhöhe, ab welcher Diagnostik und Behandlung für den Patienten von Vorteil sind (Evans, 1971). Bei dieser Definition treten die reinen numerischen Einteilungen in den Hintergrund. Auch in den neuesten Leitlinien der *European Society of Hypertension* und der *European Society of Cardiology* wird auf die Bedeutung von Begleiterkrankungen wie asymptomatische Organschäden, Diabetes mellitus, chronische Nierenerkrankung und kardiovaskuläre Erkrankung bei der Indikationsstellung zur Einleitung einer blutdrucksenkenden medikamentösen Behandlung hingewiesen (Mancia, 2013). Da die betroffenen Personen oft unter keinen oder nur geringen Symptomen leiden, wird die Hypertonie auch heute noch nicht selten zufällig bei Routineuntersuchungen entdeckt (Horacek, 2012). Die weiterführende differentialdiagnostische Abklärung deckt dann im Einzelfall bereits zum Zeitpunkt der Diagnosestellung Folgeschäden wie Linksherzhypertrophie, eingeschränkte Nierenfunktion, Albuminurie und Karotisplaques auf (Watschinger, 2013). Das Ziel einer effektiven Blutdrucksenkung auf Werte  $< 140/90$  mmHg wird nur etwa bei der Hälfte der behandelten Personen erreicht (Joffres, 2013).



## 1.1.2 Hypertonieformen

Grundsätzlich werden primäre von sekundären arteriellen Hypertonieformen sowie Mischformen unterschieden.

### Essentielle Hypertonie

Die essentielle arterielle Hypertonie, auch als primäre oder idiopathische Hypertonie bezeichnet, ist definiert als Bluthochdruck, dem keine fassbare Einzelursache zugrunde liegt. Die essentielle Hypertonie tritt meist nach dem 30. Lebensjahr auf und ist eine polygene, multifaktorielle Erkrankung. Ihre Entstehung wird durch die Einflüsse von Übergewicht, Insulinresistenz, erhöhtem Alkoholkonsum, Nikotinabusus, und zunehmendem Lebensalter begünstigt.

### Sekundäre Hypertonieformen

Bei den sekundären Hypertonie-Formen kann eine spezifische Ursache für den Bluthochdruck identifiziert werden. An sekundären Hypertonie-Formen leiden wahrscheinlich mehr als 10 % der Hypertonie-Patienten.

Wesentlich beteiligt an der Blutdruckregulation im menschlichen Organismus ist das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). Die Aktivierung dieses komplexen Hormonsystems bewirkt letztendlich eine Salz- und Wasserretention und daraus resultierend eine Volumen- und Blutdrucksteigerung. Störungen im RAAS führen zu Erkrankungen, die mit Hypertonie (gesteigerte Aktivität des Systems) oder Hypotonie (verminderte Hormonaktivität), sowie Störungen im Elektrolythaushalt einhergehen. Funktionsstörungen des RAAS sind an der Entstehung einer sekundären Hypertonie häufig beteiligt.

Neben dem RAAS werden weitere Hormone beschrieben, die in die Blutdruckregulation eingreifen. So sollen auch Störungen im Endothelin-Adrenomedullin-System (ET-1-ADM-System) für Hypertonie und Erkrankungen des Herz-Kreislauf-Systems verantwortlich sein. Die Beteiligung der beiden Hormone Endothelin-1 (ET-1) und Adrenomedullin (ADM) an der Blutdruckregulation wird zunehmend betont (Ishiyama, 1993), (Kitamura, 1993), (Lainchbury, 1997), (Hinson, 1998), (Hopfner, 1999), (Miyachi, 1999), (Lainchbury, 2000), (Nagaya, 2000), (Dashwood, 2002), (Hamid, 2005).

## 1.2 Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

### 1.2.1 Renin, Angiotensin-1 , -2, Angiotensin konvertierendes Enzym

Der Zusammenhang zwischen Renin, Angiotensin (damals „Hypertensin“) und der Aldosteronsekretion, heute als Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS) bezeichnet, wurde erstmals im Jahre 1958 durch den Physiologen Franz Gross erkannt (Gross, 1958). Seither wurden die Kenntnisse über dieses, für die Blutdruckregulation so wichtige System ständig erweitert. Das RAAS existiert als zirkulierendes und möglicherweise auch gewebebeständiges System in verschiedenen Organen, einschließlich Nebenniere, Niere, Myokard und Gefäßwand. Ein wesentlicher Bestandteil ist Renin, ein proteolytisches Enzym, das aus den Granulosazellen des juxtaglomerulären Apparates in der Niere freigesetzt wird. Die Freisetzung wird durch einen Blutdruckabfall in den Nierenarterien (Natriumchloridmangel, Hypovolämie, verminderte Nierendurchblutung als Folge einer Nierenarterienstenose), sowie durch einen gesteigerten Sympathikotonus getriggert. Unterhalb des Schwellendrucks von 10-15 mmHg steigt die Reninaktivität im Blut drastisch an. Durch Abspaltung eines Dekapeptids bewirkt Renin die Bildung von Angiotensin-1 aus Angiotensinogen. Angiotensin-1 wird mit Hilfe des Angiotensin-Converting-Enzyms (ACE) durch Hydrolyse in das Oktapeptid Angiotensin-2 umgewandelt, ein für die Blutdruckregulation und die Elektrolytbilanzierung wichtiges Hormon. Angiotensin-2 wirkt vasokonstriktorisch, hemmt die Reninaktivität und stimuliert in der Nebenniere die Synthese und Sekretion von Aldosteron (siehe Abbildung (Abb.) 1 „Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)“).

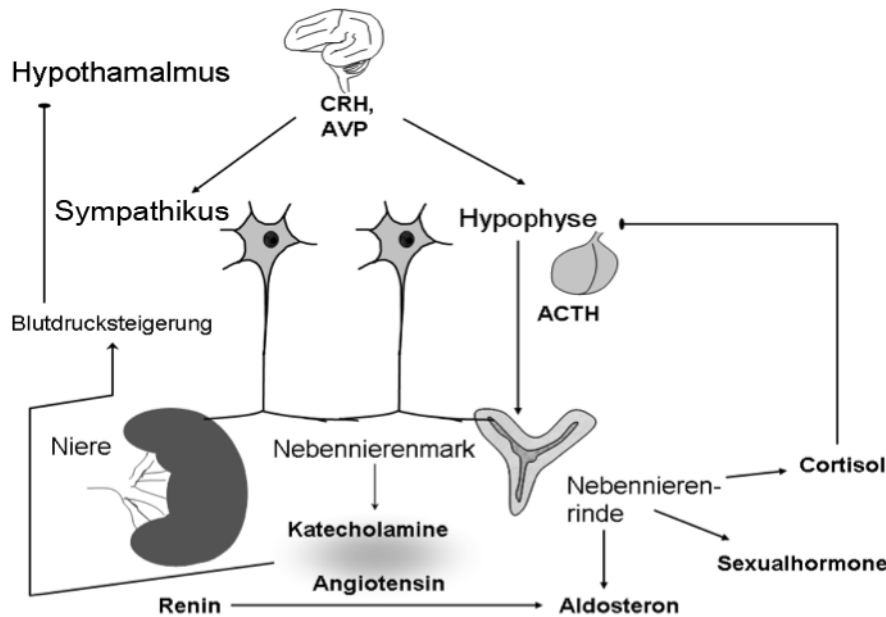


Abbildung 1: **Das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS)**. Der Hypothalamus kontrolliert als übergeordnetes Zentrum die Ausschüttung der Hormone Corticotropin-Releasing-Hormon (CRH) und Antidiuretisches Hormon (AVP) und damit die Sympathikusaktivierung mit Katecholaminausschüttung auf der einen Seite und die Reninausschüttung in der Niere auf der anderen Seite. Weiterhin aktiviert es den humoralen Schenkel des Stresssystems über die Ausschüttung sowie die Sekretion von Cortisol und –kurzfristig– auch Aldosteron (gesteuert über ACTH (adrenocorticotropes Hormon) der Hypophyse). Langfristig wird die Aldosteronausschüttung über Renin und Angiotensin gesteuert. Ein Blutdruckanstieg führt rückkoppelnd zu einer Reduktion der Sympathikusaktivität und zur Suppression von Renin.

## 1.2.2 Aldosteron

Aldosteron ist ein zur Gruppe der Mineralokortikoide gehörendes Hormon, welches in der *Zona glomerulosa* der Nebenniere produziert wird. Die Ausschüttung des Hormons wird in Abhängigkeit der Kaliumhomöostase hauptsächlich durch Angiotensin-2 als Reaktion auf Hypovolämie gefördert, aber auch – vor allem die ersten Syntheseschritte und die Sekretion – über das adrenocorticotrope Hormon (ACTH) der Hypophyse. Die entscheidenden Trigger der Aldosteronbiosynthese über die Aktivität des Kaliumkanals Kir3.4 (*KCNJ5*-Gen) sind Hyperkaliämie und Hyponatriämie (Choi, 2011). Das im Vorhof des Herzens produzierte Atriopeptin (atriales natriuretisches Peptid, ANP) wirkt dagegen hemmend auf die Ausschüttung von Aldosteron und die Natriumrückresorption aus dem Primärharn (Willenberg, 2008). Aldosteron wirkt an mehreren epithelialen Geweben wie dem Sammelrohr, dem Darmepithel, sowie an Speichel- und Schweißdrüsen. In Urin, Speichel, Schweiß und Darmsekret sinken die Natriumkonzentrationen, die Kaliumkonzentrationen steigen an. Die Natriumretention führt begleitend zur Wasserretention und über eine Hypervolämie zur Blutdruckerhöhung, die rückkoppelnd die Reninsynthese hemmt.

### 1.2.3 Störungen im Renin-Angiotensin-Aldosteron-System

Es können verschiedene Störungen innerhalb des RAASs auftreten. Erläutert werden im folgenden Abschnitt der primäre Hyperaldosteronismus (*Morbus Conn*), der mit einer gesteigerten Aldosteronfreisetzung einhergeht, sowie die primäre Nebenniereninsuffizienz (*Morbus Addison*), welche die Entwicklung einer Hypotonie begünstigt.

#### Primärer Hyperaldosteronismus (*Morbus Conn*)

Der primäre Hyperaldosteronismus ist die häufigste Ursache einer sekundären Hypertonie (Rossi, 2006), (Reincke 2009). Die Prävalenz beträgt bis zu 13 % in der Gruppe der hypertensiven Patienten (Hiramatsu, 1981), (Fardella, 2000), (Bernini, 2002), (Mulatero, 2004), (Rossi, 2006). Die Erkrankung wurde erstmals von Lipicki im Jahr 1953 erkannt (Rossi, 2011) und von Conn im Jahr 1955 umfangreich charakterisiert (Conn, 1955). Der primäre Hyperaldosteronismus ist eine Erkrankung, die mit einer für den Aktivitätszustand des Renins inadäquat hohen Aldosteronfreisetzung aus der Nebennierenrinde einhergeht.

#### Ursachen und Subtypen

Es werden verschiedene Ursachen für die Erkrankung angenommen und unterschiedliche Subtypen differenziert (siehe Tabelle 1 „Klassifikation des Hyperaldosteronismus“). Ein großer Teil ist Folge Aldosteron-produzierender Adenome (APA), Aldosteron- und Cortisol-sezernierender Adenome bzw. einseitiger Hyperplasien der Nebennierenrinde (Späth, 2011). Diese "unilateralen" Erkrankungen werden wegen des unterschiedlichen therapeutischen Ansatzes von der bilateralen Hyperplasie der *Zona glomerulosa* der Nebennierenrinde abgegrenzt. Hinzu kommen seltene Ursachen wie die familiären Hyperaldosteronismusformen Typ 1 bis 3 (Choi, 2011), (Funder, 2011). So ist der familiäre Hyperaldosteronismus Typ 1 beispielsweise ein durch Glukokortikoidgabe unterdrückbarer / vermeidbarer Hyperaldosteronismus (Sutherland, 1966), (New MI, 1973). Als Ergebnis chimärer Genduplikation wird Aldosteron ektop in Cortisol-sezernierenden Zellen der *Zona fasciculata* der Nebenniere unter Kontrolle von Adrenocorticotropin (ACTH) der Hypophyse produziert. Die Patienten leiden bereits in der Kindheit unter einer Hypertonie, die nur schlecht mit ACE-Hemmern oder Betablockern zu therapieren ist. Die Suppression der ACTH-Freisetzung mit Hilfe von Dexamethason ist ein nützlicher diagnostischer und therapeutischer Ansatz. Die Gabe der Aldosteronantagonisten Spironolacton und Eplerenon

stellen effektive Behandlungsoptionen dar. Die familiären Varianten Typ 2 und 3 sind hingegen nicht durch Dexamethasongabe supprimierbar. Die operative Therapie steht insbesondere beim Typ 3 im Vordergrund, der durch eine ausgeprägte Hypertrophie der *Zona fasciculata* der Nebennierenrinde gekennzeichnet ist und bei dem die Patienten schon früh von Organschäden auf Grund des massiven Aldosteronüberschusses betroffen sind (Quack, 2010).

Aldosteron produzierende Karzinome als Ursache eines Hyperaldosteronismus müssen als eine Rarität in seltenen Fällen in Erwägung gezogen werden (Kannan, 1988), (Allolio, 2009).

Subtyp	Häufigkeit in %
Aldosteron-produzierende Adenome	ca. 50 %
bilatere Nebennierenhyperplasie	ca. 40 %
Aldosteron- und Cortisol-produzierende Adenome	ca. 2–5 %
Primäre unilaterale Nebennierenrindenhyperplasie	3 %
Aldosteron-produzierende Ovarialtumoren	< 1 %
Familiärer Hyperaldosteronismus Typ 1	< 1 %
Familiärer Hyperaldosteronismus Typ 2	< 1 %
Familiärer Hyperaldosteronismus Typ 3	< 1 %

Tabelle 1 **Klassifikation des Hyperaldosteronismus**

## Klinische Symptome

Klinisch ist das Conn Syndrom klassischerweise durch die sogenannten „Conn-Trias“ Bluthochdruck, Hypokaliämie und metabolische Alkalose gekennzeichnet (Born-Frontsberg, 2009).

Die Patienten leiden oft unter einem trockenen Mund, klagen gelegentlich über salzigen Geschmack. Sie empfinden im Einzelfall ein gesteigertes Durstgefühl, trinken viel bei erhöhter Diurese mit Nykturie. Die Hypertonie kann gelegentlich durch Kopfschmerzen oder Nasenbluten symptomatisch werden. Der Blutdruck steigt nicht unbedingt auf überdurchschnittlich hohe Werte an, ist oft jedoch nur schwer kontrollierbar mit fehlendem

Dipping in der Nacht. Die typischen Symptome einer Hypokaliämie wie Muskelschwäche, Obstipation, EKG-Veränderungen oder Krämpfe bis hin zu steifen Paresen sollten an ein Conn Syndrom denken lassen, wobei normokaliämische Varianten der Erkrankung ebenfalls auftreten können.

## **Diagnosestellung**

Als Screening-Instrument eignet sich der Aldosteron-Renin-Quotient (ARQ), wobei Werte von  $> 20$  (ng/L : ng/L) weiter abgeklärt werden sollten und Werte  $> 33$  (ng/L : ng/L) in unserer Klinik als deutlich pathologisch und dringend verdächtig auf ein Conn-Syndrom gelten (Hiramatsu, 1981), (Funder, 2008), (Willenberg, 2009), (Diederich, 2012), (Willenberg, 2012).

Mit Hilfe des Kochsalzbelastungstestes (2000 ml 0,9 %ige NaCl-Infusion über 4 Stunden intravenös) und des Fludrocortisonhemmtestes lässt sich eine fehlende oder verminderte Aldosteronsuppression dokumentieren und die Diagnose bestätigen (Funder, 2008), (Willenberg, 2012).

## **Primäre Nebenniereninsuffizienz (*Morbus Addison*)**

Störungen in der Funktion der Nebenniere, die mit einer Beeinträchtigung der Hormonproduktion einhergehen, führen zu Hypotonie. An dieser Stelle sei die Erkrankung der primären Nebenniereninsuffizienz erwähnt (*Morbus Addison*), die zum Ausfall der adrenalen Hormonproduktion führt.

Während in der Vergangenheit die Tuberkulose als wichtigster Auslöser der Nebenniereninsuffizienz galt, ist die Erkrankung heutzutage in der Mehrzahl der Fälle Folge eines Autoimmunprozesses, der zur Destruktion und zum Untergang der Nebennierenrindenzellen führt (Oelkers, 1996).

Häufig findet man Autoantikörper gegen die *17alpha-Hydroxylase*, ein Schlüsselenzym der Steroidbiosynthese (Seißler, 1999).

Neben verschiedenen erregerbedingten Formen beispielsweise durch das Cytomegalievirus (CMV) oder das humane Immundefizienzvirus (HIV), sind Funktionsstörungen der Nebennierenrinde auf Grund von Einblutungen, Operationen, infiltrierenden Metastasen, Adrenogenitalem Syndrom (AGS) und Adrenoleukodystrophie (ALD) zu nennen (Oelkers, 1996). Medikamentös bedingte Erkrankungen treten vor allem im Rahmen einer Glukokortikoidtherapie auf (Oelkers, 1996). Die Zerstörung der Nebennierenrindenzellen

führt zu einem Ausfall der Glukokortikoidproduktion, einem Wegfall der Mineralkortikoidsynthese und einer fehlenden Produktion der Sexualhormonvorstufen. Es können auch einzelne, unterschiedliche, steroidproduzierende Enzyme betroffen sein, nicht alle Hormonsynthesewege fallen immer gleichzeitig aus. Durch kompensatorische Gegenregulation kann die Sekretion anderer Hormone gesteigert werden.

Therapeutisch können orientiert am individuellen Ausfallsmuster Hydrocortison, Fludrocortison, sowie Prednisolon verabreicht werden. Die Patienten benötigen ein klinisches und hormonelles Monitoring, insbesondere die Analyse der Natrium- / Kalium-Verhältnisse im Serum und Urin.

## **1.3 Das Endothelin-Adrenomedullin-System**

### **1.3.1 Endothelin-1**

Endothelin-1 (ET-1) ist ein aus 21 Aminosäuren bestehendes Peptid. Es besitzt einen hydrophoben C-Terminus und 2 Cystein-Brücken am N-Terminus. ET-1 ist Hauptmitglied der so genannten Endothelinfamilie, eine Gruppe von vasoaktiven Hormonen, die überwiegend von den Zellen des Endothels sezerniert werden (Yanagisawa, 1989). Auch ET-1 wird vor allem von Zellen des Gefäßendothels freigesetzt, daneben auch von Muskelzellen, dem respiratorischen Epithel, Makrophagen, Fibroblasten, Kardiomyozyten, sowie ZNS-Neuronen (Lüscher, 2000), (Kedzierski, 2001). Die Identifikation des Endothelins als Vasokonstriktor (Yanagisawa, 1988) und die Entdeckung seiner Freisetzung im Gefäßendothel lassen vermuten, dass das Hormon an der Kreislaufregulation im menschlichen Organismus sowie an der Entstehung des Hypertonus beteiligt ist (Iwasa, 2001).

### **Rezeptoren und Wirkung**

Bei tierexperimentellen Studien an Hunden zeigte sich 1989 erstmals seine blutdrucksteigernde Wirkung (Miller, 1989), (Hermán, 1989). Endothelin wirkt über Bindung an seine Rezeptoren ETA und ETB, deren Aktivierung unterschiedliche physiologische Prozesse in Gang setzt (Rossi, 1994), (Belloni, 1997). ETA Rezeptoren finden sich vor allem in den glatten Muskelzellen der Gefäße, während ETB Rezeptoren zusätzlich in den Zellen des Endothels lokalisiert sind (Masaki, 1991), (Haynes, 1995), (Dashwood, 2002). In der Nebennierenrinde kommen ETA-Rezeptoren ausschließlich in den Zellen der *Zona*

*glomerulosa* vor, wobei sich die Rezeptoren des Subtyps B über alle 3 Rindenzonen des Organs verteilen (*Zonae glomerulosa, reticulosa und fasciculata*) (Belloni, 1996), (Belloni, 1997), (Rossi, 1994).

Bindet ET-1 an seinen Rezeptor, kommt es zur Aktivierung des Phospholipase-C-Inositoltriphosphat-Signalwegs, resultierend in einem Anstieg an intrazellulärem Calcium, was wiederum zu einer Phosphorylierung der Myosinkinase in glatten Muskelzellen führt. Letztendlich resultiert daraus eine lang anhaltende Kontraktion glatter Muskelzellen (Miyachi, 1999), (Lüscher, 2000). Bindet das Hormon an den Rezeptor ETA, so ergibt sich eine vasokonstriktorische, zellproliferative, Angiogenese fördernde Wirkung (Yanagisawa, 1988). Über die Bindung an den Rezeptorsubtyp B hingegen wirkt es vasodilatatorisch, sowie antiproliferativ (Yanagisawa, 1988).

Daneben stimuliert es über den ETB Rezeptor auch die Aldosteronsekretion in den Zellen der *Zona glomerulosa* der Nebenniere (Belloni, 1996). Aldosteron soll die Endothelinfreisetzung stimulieren (Miller, 1989), (Hinson, 1991), (Rossi, 1999), (Delarue, 2004), (Stow, 2009). Aus dieser Wechselwirkung mit Aldosteron im Sinne einer gegenseitigen positiven Stimulation (*Feedforward-Mechanismus*) leitet sich die Hypothese ab, dass ET-1 an der Entstehung eines Conn-Syndroms beteiligt sein könnte (Hinson, 1998), (Rossi, 1999), (Delarue, 2004), (Stow, 2009).

Insgesamt steht vor allem die vasokonstriktorische Wirkung des Endothelins im menschlichen Organismus im Vordergrund, die zunehmend häufiger in einen Zusammenhang mit der Entstehung der arteriellen Hypertonie gebracht wird. Endothelin wird auf Grund seiner vasoaktiven Eigenschaften unabhängig von blutdrucksteigernden Effekten eine Beteiligung an der Pathogenese der Arteriosklerose zugeschrieben (Hopfner, 1999), (Miyachi, 1999), (Dashwood, 2002). Mechanismen sind beschrieben, die zu Wachstum von fibrosierenden Geweben führen und damit eine Arterioskleroseentstehung begünstigen können (Guarda, 1993). Auch eine hemmende Wirkung auf die endotheliale NO-Synthese geht mit einem Anstieg der intrazellulären ET-1-Konzentrationen einher, ein Mechanismus, der zur vasodilatatorischen Dysfunktion der Gefäße beiträgt (Lavalley, 2001). ET-1 soll die Chemotaxis von Leukozyten sowie Entzündungsreaktionen durch Stimulation der Zytokinproduktion, beispielsweise Interleukin (IL)-6 oder Tumornekrosefaktor (TNF)-*alpha*, sowie die Produktion proinflammatorischer Mediatoren wie *nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFκB)* fördern (Lüscher, 2000), (Schiffrin, 2001). Diese Mediatoren sind an der Entwicklung der Arteriosklerose beteiligt und spielen eine Rolle in der



Pathophysiologie der Hypertonie (Moreau, 1997), (Cardillo, 1999), (Cardillo, 2002), (McEniery, 2002), (Nohria, 2003), (Touyz, 2003).

Ein Einfluss auf die Glukokortikoidsynthese durch ET-1 über den Rezeptor ETA wird kontrovers diskutiert (Hinson, 1991), (Rossi, 1994), (Belloni, 1997), (Mazzocchi, 1997), (Nussdorfer, 1997), (Rossi, 1997), (Zeng, 1998), (Paramonova, 2010). Als Ergebnis einiger Studien wird eine stimulierende Wirkung auf die Cortisolausschüttung (via ETA-Rezeptor) in Nebennierenzellen postuliert (Hinson, 1991). Andere wissenschaftliche Arbeiten widersprechen der Hypothese einer steroidogenen Wirkung (Zeng, 1992), (Paramonova, 2010).

### 1.3.2 Adrenomedullin

Adrenomedullin (ADM) ist ein aus 52 Aminosäuren bestehendes Peptid. Cystein-Reste an Position 16 und 21 des N-Terminus verbinden sich über Disulfidbrücken und formen eine Ringstruktur, die sich aus 6 Aminosäuren zusammensetzt (Kitamura, 1993), (Sakata, 1993). ADM wurde ursprünglich 1993 aus menschlichen Phäochromozytomzellen isoliert (Kitamura, 1993). ADM wird in Zellen unterschiedlicher Gewebe unter anderem der Nebenniere, des Herzens, der Nieren und der Blutgefäße produziert (Kitamura, 1994). Im Rahmen tierexperimenteller Studien an Ratten zeigte sich die höchste Rezeptordichte in Herz und Lunge, gefolgt von Nebenniere, Niere und dem zentralen Nervensystem (Owji, 1995), (Juaneda, 2003). Im menschlichen Organismus ließ sich außerdem im Gefäßendothel, sowie in Zellen des immunogenen Gewebes des Gastrointestinaltraktes (*gastrointestinal immune cells*) die Expression spezifischer ADM-Rezeptoren nachweisen (Hagner, 2002).

### Rezeptoren und Wirkung

ADM entfaltet seine Wirkung über die Aktivierung von Rezeptorkomplexen aus *Calcitonin (CL)* und spezifischen *receptor activity modifying proteins (RAMP)* (McLatchie, 1998). Der ADM-Rezeptor ist an eine Adenylatzyklase gekoppelt und die vasodilatorische Wirkung wird unter anderem über zyklisches Adenosinmonophosphat (*cAMP*) vermittelt. Seine vasodilatorische Wirkung entfaltet das Hormon über eine Förderung der NO-Freisetzung durch Aktivierung der NO-Synthase. Darüber kommt es zu einem Anstieg von zyklischem Guanosinmonophosphat (*cGMP*). Nach Entfernen des Endothels und damit des Ortes der NO-Produktion, sowie ebenso nach Gabe eines NO-Synthase-Hemmers konnte eine Hemmung

der vasodilatatorischen ADM-Wirkung in Experimenten nachgewiesen werden (Feng, 1994), (Hayakawa, 1999). Im Rahmen von tierexperimentellen Studien an narkotisierten Ratten führte die Bolusinjektion von ADM zu einem Abfall des totalen peripheren Widerstandes und daraus resultierendem Blutdruckabfall (Kitamura, 1993). ADM soll eine Vasodilatation und damit einen Anstieg des Blutflusses bewirken, so zum Beispiel in den zerebralen, koronaren, pulmonalen und renalen Gefäßsystemen. Dies konnte im Rahmen tierexperimenteller Studien gezeigt werden (Lippton, 1994), (Lang, 1997), (Yoshimoto, 1998). Auch am Menschen konnte nach intravenöser ADM-Infusion eine dosisabhängige Reduktion des Blutdrucks nachgewiesen werden, resultierend in einem Abfall des peripheren arteriellen Widerstandes (Lainchbury, 1997), (Lainchbury, 2000), (Nagaya, 2000). Dieser hypotensive Effekt wurde bei physiologischen Plasmakonzentrationen festgestellt und führte nachhaltig zu einer reflexartigen Aktivierung des sympathischen Nervensystems und des RAAS, was die Vermutung aufkommen ließ, dass ADM diese neuroendokrinen Systeme möglicherweise hemmt (Lainchbury, 1997).

Auf Grund seiner vasodilatatorischen Eigenschaften kann ADM als physiologischer Antagonist des Endothelins im Hinblick auf die Blutdruckregulation betrachtet werden (Ishiyama, 1993), (Kitamura, 1993), (Hinson, 1998), (Hamid, 2005). ADM bewirkt demnach eine Vasodilatation, die mit einer Blutdrucksenkung einhergeht. Auf die Endothelinausschüttung soll es einen hemmenden Einfluss ausüben (Kita, 1998).

### **Adrenomedullin und das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System**

ADM soll Studien zufolge auch in das RAAS eingebunden sein. Eine hemmende Wirkung auf die Angiotensin-2-stimulierte Aldosteronsekretion in Zellen der *Zona glomerulosa* wird angenommen. Dieser Effekt wird über *Calcitonin gene-related peptide 1*-Rezeptoren vermittelt (Nussdorfer, 1997), (Hinson, 1998), (Hamid, 2005). Andererseits sind fördernde Effekte des Hormons auf die Aldosteronsekretion beschrieben (Nussdorfer, 1997). Dieser Mechanismus, der wiederum über die Aktivierung eines *Calcitonin gene-related peptide 1*-Rezeptors abläuft, wird indirekt über eine Katecholaminausschüttung in den chromaffinen Zellen des Nebennierenmarks kontrolliert (Nussdorfer, 1997). Aldosteron hat nach Studienlage einen fördernden Einfluss auf die ADM-Produktion (Kitamura, 2004), (Gombos, 2009). Patienten, die an arterieller Hypertonie oder auch an akutem oder chronischem Nierenversagen leiden, sollen erhöhte Spiegel des Hormons aufweisen (Ishimitsu, 1994). Auch bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz, sowie Patienten im Zustand einer Sepsis sind

Untersuchungen zufolge die ADM-Plasmaspiegel erhöht (Ishimitsu, 1994), (Nishikimi, 1995), (Hirata, 1996), (Nishio, 1997). Aus diesen Erkenntnissen wird abgeleitet, dass ADM in solche Regulationsmechanismen des Körpers eingebunden ist, die der Wiederherstellung oder der Aufrechterhaltung des kardiovaskulären Gleichgewichtes dienen (Ishimitsu, 1994). Die ADM-Produktion soll auch durch Hypoxie, oxidativen Stress, Entzündung und die Einwirkung von Zytokinen stimuliert werden (Ladoux, 2000), (Ogita, 2001), (Sandner, 2004).

### **1.3.3 Endothelin-1 und Adrenomedullin**

ET-1 und ADM sind, wie beschrieben, in Pathomechanismen eingebunden, die zur Entstehung der primären arteriellen Hypertonie, des primären Hyperaldosteronismus und der Nebenniereninsuffizienz beitragen. Die Hormone sind an der Blutdruckregulation beteiligt und spielen daher bei der Entstehung der genannten Krankheiten, die mit Störungen der körpereigenen Blutdruckhomöostase einhergehen, möglicherweise eine Rolle (Miller WL, 1989), (Ishiyama, 1993), (Kitamura, 1993), (Ishimitsu T, 1994), (Lainchbury, 1997), (Hinson, 1998), (Hopfner, 1999), (Miyachi, 1999), (Lainchbury, 2000), (Nagaya, 2000), (Schiffrin EL 2001), (Dashwood, 2002), (MC Eniery, 2002), (Touyz RM, 2003), (Hamid, 2005).

## **1.4 Ziele der Arbeit**

Einige Studien gehen davon aus, dass die Ausschüttung der Hormone ET-1 und ADM durch Aldosteron und Renin bzw. das RAAS insgesamt beeinflusst werden (Ishiyama, 1993), (Kitamura, 1993), (Ishimitsu, 1994), (Kita, 1998), (Rossi GP, 1999), (Charles CJ, 2003). Die vorliegende Arbeit versucht auf diesem Hintergrund eine Antwort auf die Frage zu finden, ob Änderungen im Aktivitätszustand des RAAS ET-1- und ADM-Plasmaspiegel beeinflussen. Drei verschiedene Gruppen von Patienten wurden untersucht, die auf Grund ihrer Erkrankungen mit unterschiedlichen Aktivitätszuständen des RAAS einhergehen.

In diesem Zusammenhang versuchten wir zu klären, ob eine Intervention in das RAAS mittels Fludrocortison, Dexamethason oder Spironolacton im Rahmen der Blutdruckregulation die Plasmaspiegel von ET-1 bzw. ADM verändert. Verglichen werden sollten die Blutspiegel von ADM und ET-1 vor und nach Intervention in das RAAS. Die vorliegende Studie hinterfragt die Hypothese, dass ET1- und ADM-Plasmaspiegel von unterschiedlichen Aktivitätszuständen des RAAS beeinflusst bzw. durch das RAAS reguliert werden.

## 2 Patienten und Methoden

### 2.1 Patienten

#### 2.1.1 Charakterisierung der Patientenkollektive

In der vorliegenden Studie wurden 3 Patientenkollektive untersucht: Patienten mit Hypertonus auf Grund eines primären Hyperaldosteronismus (PA,  $n=15$ , 9 Frauen und 6 Männer), Patienten mit essentieller Hypertonie (EH,  $n=15$ , 11 Frauen und 4 Männer) sowie Patienten mit Nebenniereninsuffizienz (AI,  $n=7$ , alle weiblich). Die Diagnosestellung erfolgte im Zeitraum von 2008-2010 am Universitätsklinikum Düsseldorf. Sie wurde im Rahmen der Studien zum Conn-Register seitens der Ethikkommission positiv begutachtet (Nr. 3027). Die Verteilung von Alter, Geschlecht, sowie Blutdruck innerhalb der Patientenkollektive zeigt Tabelle 2 „Patientenmerkmale“.

<b>Krankheit</b>	<b>Patienten</b> (Anzahl)	<b>Alter</b> (Jahre)	<b>Geschlecht</b> (Frauen in %)	<b>SBD</b> (mmHg)	<b>DBD</b> (mmHg)	<b>ARQ</b> (ng/L : ng/L)
<b>PA</b>	15	54,6±11,6	60±	158,9±21,3	94,4±11,0	101,2±72,8
<b>EH</b>	15	54,5±13,2	73±	154,9±21,7	92,9±13,8	26,4±27,5
<b>AI</b>	7	44,0±10,9	100±	120,0±8,1	78,0±2,6	4,4±4,1

Tabelle 2 **Patientenmerkmale (Mittelwerte)**. SBD–Systolischer Ruheblutdruck (nach 30minütiger Ruhe), DBD–diastolischer Ruheblutdruck (nach 30minütiger Ruhe), ARQ–Aldosteron-/Renin-Quotient, PA–primärer Hyperaldosteronismus, EH–essentielle Hypertonie, AI–Nebenniereninsuffizienz

## 2.1.2 Patientenscreening

Die Rekrutierung der Studienpatienten (siehe Abbildung 2 „Patientenscreening“) erfolgte zunächst durch Erfassung klinischer (zB. anamnestischer Angaben, Erfassung des Blutdrucks) und laborchemischer Daten und den Ausschluss anderer sekundärer Hypertonieformen beispielsweise bedingt durch chronische Nierenerkrankungen oder ein Phäochromozytom. Im Serum/Plasma der in die Studie eingeschlossenen 30 Patienten wurden jeweils eine Aldosteron-Renin-Quotient (ARQ)-, ADM- und ET-1-Bestimmung durchgeführt. Nach 4-tägiger Fludrocortisongabe im Rahmen des Fludrocortisonhemmtestes (FST, Durchführung siehe unten) erfolgte die Unterteilung in Patienten mit essentieller Hypertonie (EH,  $n=15$ ) und Patienten mit primären Hyperaldosteronismus (PA,  $n=15$ ). Beide Patientengruppen erhielten eine Dexamethasongabe über 3 Tage (Dexamethasonhemmtest, Durchführung siehe unten). Daraufhin wurden wiederum der ARQ sowie die ET-1- und ADM-Werte im Blut bestimmt. Die PA-Patienten wurden weiter mittels Computertomographie (CT) und Nebennierenvenen (NNV) -Katheter evaluiert und erhielten eine 6-wöchige Spironolactongabe. Anschließend wurden nochmals eine ARR-, ET-1- und ADM-Bestimmung durchgeführt. Die Diagnose des primären Hyperaldosteronismus wurde in Orientierung an einer Leitlinie gestellt (Funder, 2008), wenn nach Durchführung des FSTs das Aldosteron im Serum größer als 50 ng/L war (DPC Siemens, Bad Nauheim, Germany) und Renin unter 5 ng/L (DiaSorin, Saluggia, Italien) supprimiert war.

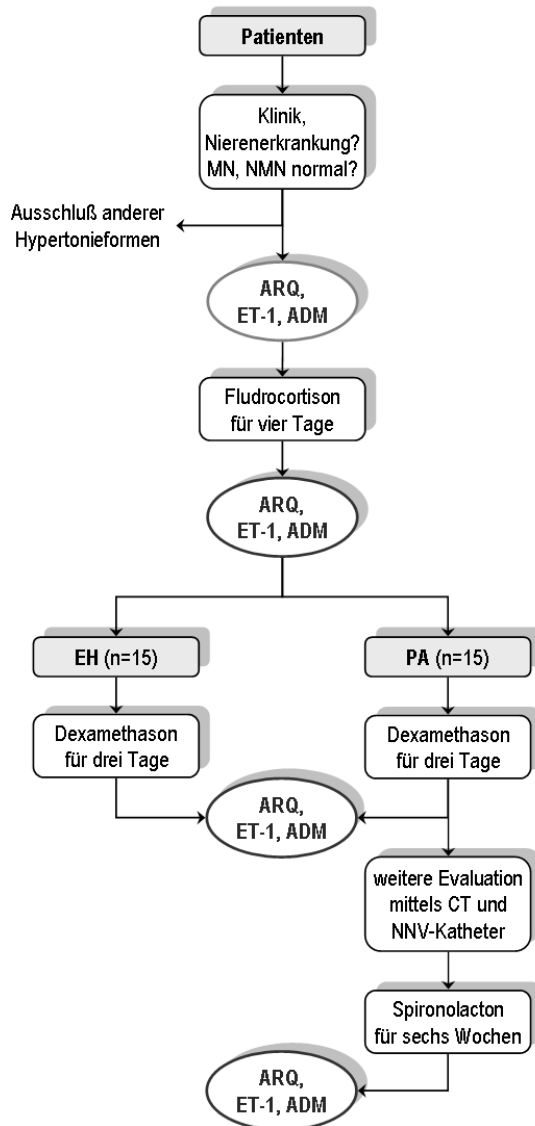


Abbildung 2: **Patientenscreening** (Vogt, 2012). ADM–Adrenomedullin ARQ–Aldosteron-Renin-Quotient (zum Zeitpunkt des Screenings nach Medikamentenumstellung, sofern möglich), CT–Computertomographie, EH–Essentielle Hypertonie, ET-1–Endothelin-1, MN–Metanephrin, n–Anzahl, NMN–Normetanephrin, NNV–Nebennierenvene, PA–Primärer Hyperaldosteronismus

Bei den 7 Studienpatienten, die unter Nebenniereninsuffizienz litten, ließ sich die fehlende adrenale Hormonproduktion mit Hilfe von Hormonbestimmungen im Blut dokumentieren. Daneben wurden klinische Daten erfasst und die ARR-, ET-1-, ADM-Werte im Blut bestimmt.

## 2.2 Methoden

### 2.2.1 Behandlung der Patienten

Vor Durchführung der Funktionsteste wurden alle Patienten medikamentös umgestellt. Medikamente, die das RAAS beeinflussen, wie beispielsweise Betablocker, ACE-Hemmer und Reninantagonisten wurden abgesetzt, um die Renin-, Aldosteron-, ET-1- und ADM-Plasmaspiegel nicht zu beeinflussen. Stattdessen erhielten die Patienten zur Blutdruckeinstellung *Alpha*-Blocker sowie Calciumantagonisten (zum Beispiel Verapamil). Nur in Ausnahmefällen wurde die Primärmedikation in deutlich reduzierter Dosis beibehalten. Das Vorliegen einer Nierenarterienstenose wurde mit Hilfe von Ultraschall und im Einzelfall mit entsprechender Bildgebung via Magnetresonanztomographie (MRT) ausgeschlossen. Zudem mussten bei allen Patienten die Metanephrine (MN) und Normetanephrine (NMN) im Plasma zum Ausschluss eines Phäochromozytoms im Normbereich liegen.

Die Blutdruckmessung erfolgte am Patienten nach 30-minütigem Sitzen in Ruhe, morgens zwischen 8 und 10 Uhr.

### 2.2.2 Bestimmung des Aldosteron-Renin-Quotienten

Zur Diagnosestellung des primären Hyperaldosteronismus (PA) wurde der Aldosteron-Renin-Quotient (ARQ) aus der Serumaldosteronkonzentration (SAC) und der Plasmareninkonzentration (PRC) bestimmt. Da die Höhe der Aldosteron- und Reninspiegel im Serum/Plasma durch die antihypertensive Medikation der Patienten beeinflusst werden (Funder, 2008) (Tomaschitz, 2010), wurde wie bereits oben erwähnt die bisherige medikamentöse Therapie der Patienten vor Bestimmung des ARQs entsprechend aktueller Leitlinien umgestellt (Funder 2008). Die Studienteilnehmer erhielten zur Normalisierung des Blutdrucks *Alpha*-Blocker oder Calciumantagonisten, beides Medikamente, die nicht wesentlich in die Mechanismen des RAAS eingreifen. Die Blutentnahme zur ARQ-Bestimmung erfolgte nach einer Umstellungsphase von mindestens 1 Woche zwischen 9.00 Uhr und 10.00 Uhr nach vorangegangener 15-minütiger Ruhepause. Weiterhin sollten die Patienten bereits mindestens zwei Stunden wach gewesen sein.

Als Hinweis auf einen vorliegenden PA galt ein  $ARQ > 20$  (ng/L : ng/L), als dringend abklärungsbedürftig Werte  $> 33$  (ng/L : ng/L), in Anlehnung an hauseigene Daten (Willenberg, 2009).

### 2.2.3 Fludrocortisonsuppressionstest

Zur Beeinflussung des RAAS wurde ein Fludrocortisonsuppressionstest (FST) durchgeführt. Zur Durchführung des Testes wurden die Patienten ambulant einbestellt. Es erfolgte die Gabe von 100 µg Fludrocortison alle 6 Stunden über 4 Tage. Zusätzlich erhielten die Patienten alle 12 Stunden eine Tablette „Kalinor Brause“, um den Kaliumspiegel im Serum bei 4.0 mmol/l zu halten. Außerdem wurde eine kochsalzreiche Diät verordnet, sowie darauf geachtet, die renale Natriumausscheidung im Bereich von 3 mmol/kg KG/d zu halten. Zur Kontrolle der Natriumausscheidung wurde eine 24 h-Sammelurinuntersuchung von Tag 4 auf Tag 5 durchgeführt. Die Hormonbestimmungen von Renin, Aldosteron, ET-1 und ADM erfolgten schließlich ab dem 5. Tag morgens zwischen 8 und 10 Uhr in sitzender Körperhaltung.

Zusammenfassend sei das zeitliche Vorgehen bei der Durchführung des Funktionstestes dargestellt:

- Tag 1: Fludrocortisoneinnahme ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr
- Tag 2: Fludrocortisoneinnahme ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr
- Tag 3: Fludrocortisoneinnahme ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr
- Tag 4: Fludrocortisoneinnahme ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr  
Beginn der Urinsammlung für den 24-Sammelurin um ca. 8.00 Uhr
- Tag 5: Blutentnahme zur Hormonbestimmung um ca. 8.00 Uhr
- Ende der Urinsammlung um ca. 8.00 Uhr

### 2.2.4 Dexamethasonhemmtest

Zur weiteren Untersuchung der Aktivitätszustände des RAAS bzw. des glucocorticoiden Einflusses auf die ET-1- und ADM- Plasmaspiegel, sowie zum Ausschluss des primären Hyperaldosteronismus Typ 1 bei Patienten mit PA wurden die Patienten einem Dexamethasonhemmtest unterzogen. Hierzu erhielten die Patienten über 3 Tage alle 6 Stunden 500 µg Dexamethason (4× täglich). Die Blutentnahme zur Bestimmung der Hormone erfolgte am 4. Tag um ca. 8.00 Uhr morgens am nüchternen Patienten.

- Tag 1: Dexamethasongabe ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr
- Tag 2: Dexamethasongabe ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr
- Tag 3: Dexamethasongabe ca. um 6.00, 12.00, 18.00 und 24.00 Uhr
- Tag 4: Blutentnahme um ca. 8.00 für die Bestimmung von Serumcortisol



## 2.2.5 Spironolactongabe

Alle Patienten mit PA wurden über einen Zeitraum von ca. 6 Wochen vor erneuter Blutentnahme mit Spironolacton behandelt (siehe Abbildung 2). Die Patienten erhielten 25-50 mg Spironolacton oral, täglich, so lange, bis die Reninspiegel im Plasma messbar im Bereich über 5 ng/L lagen.

## 2.3 Hormonbestimmung

Die Bestimmung der Plasma- bzw. Serumkonzentrationen der Hormone Renin und Aldosteron erfolgten sofort nach der Blutentnahme. Die Reninkonzentration wurde im Patientenplasma (DiaSorin, Saluggia, Italien), die Aldosteronkonzentration im Serum mit Hilfe eines Radioimmunoassays (RIA, DPC Siemens, Bad Nauheim, Deutschland) bestimmt. Danach wurden die Patientenproben bei  $-20^{\circ}\text{C}$  tief gefroren und die Plasmakonzentrationen von ET-1 und ADM zu einem späteren Zeitpunkt mit Hilfe eines *Sandwich Luminescence Immunoassays* von B.R.A.H.M.S nachgewiesen (Hennigsdorf/Berlin, Deutschland). Im folgenden Abschnitt soll die Durchführung des B.R.A.H.M.S Assays beschrieben werden.

## 2.4 Assay zur Bestimmung der Endothelin-1- und Adrenomedullin-Plasmaspiegel

### 2.4.1 Materialien

Reagenzien	Menge
Beschichtete 96-Well-Platte	1
Standardlösung verdünnt	1 × 20 ml
Detektionslösung A (grün) und B (rot)	Je 1 × 120 $\mu\text{l}$
Assaylösung A (2fach konzentriert) und B (2fach konzentriert)	Je 1 × 6 ml
TMB Substrat-Stopplösung	1 × 9 ml
Stopplösung	1 × 6 ml
Waschpuffer (30fach konzentriert)	1 × 20 ml

Tabelle 3 Materialien

---

Microplate reader mit 450 nm  $\pm$  10 nm Filter  
Verschiedene Pipetten u.a. Single- und *Multichannel*-Pipetten  
Eppendorf Gefäße zum Verdünnen der Proben  
Deionisiertes oder destilliertes Wasser  
Saugfähiges Papier zum Blotten der Mikrotiter-Platte  
Behälter für die Waschlösung

---

Tabelle 4 weitere Materialien zur Durchführung des Immunoassays

## 2.4.2 Durchführung

Zur Bestimmung der ET-1- und ADM-Plasmaspiegel wurde ein *Sandwich Luminescence Immunoassay* von B.R.A.H.M.S verwendet (Hennigsdorf/ Berlin, Germany). Zunächst wurde eine Standardlösung hergestellt. Nach 15 minütiger Wartezeit und Herstellung der Nachweislösung A wurde diese der Standardreihe in entsprechenden Konzentrationen zugegeben. Daraufhin wurden die Proben für ca. eine Stunde bei Raumtemperatur inkubiert. Anschließend wurden insgesamt 4 Waschschrirte mit der zuvor hergestellten Waschlösung durchgeführt. Nach dem letzten Waschvorgang wurde den Proben die zuvor hergestellte Nachweislösung B hinzugefügt. Die Lösungen wurden wiederum für ca. 30 Minuten inkubiert. Nach Einhalten der Inkubationszeit folgten nochmals 5 Waschschrirte. Zuletzt wurde die Substratlösung hinzugefügt. Nach Sichtbarwerden eines blauen Farbumschlags (nach einer Inkubationszeit von ca. 15-25 Minuten) wurde die Stopplösung hinzugefügt. Nach Auftreten eines gelben Farbumschlags wurden die Proben in einen *Microplate reader* gelegt und die Plasmakonzentrationen von ET-1 und ADM bei 450 nm gemessen. Schließlich wurden die Eichkurven für die ET-1- und ADM-Plasmaspiegel erstellt.

## 2.5 Statistische Analyse

Die statistische Analyse wurde unter Verwendung von *GraphPad Prism for Windows*, Versionen 4.1 und 5 (*GraphPad Software*, San Diego, CA, USA) durchgeführt. Zum Vergleich zwischen kontinuierlichen Variablen zwischen 2 Gruppen kam bei deren Normalverteilung der *two-tailed Student's t-test* zur Anwendung, ansonsten der nicht-parametrische *Mann-Whitney-Test*. Zum Vergleich derselben Parameter innerhalb der

gleichen Patientengruppe vor und nach Intervention in das RAAS wurde der gepaarte *Student's t-test* verwendet. Die Analyse kategorischer Daten wurde mit Hilfe des *Fisher's Exact Test* herausgearbeitet. *P*-Werte unter 0,05 wurden als statistisch signifikant betrachtet. Die Variablen werden als Mittelwerte  $\pm$  Standardabweichung angegeben.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Patienten

Die vorliegende Studie umfasst ein Kollektiv von 37 Patienten, 15 Patienten mit essentieller Hypertonie (EH,  $n=15$ ), 15 Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus (PA,  $n=15$ ), sowie 7 Patienten mit Nebenniereninsuffizienz (AI,  $n=7$ ).

Die Gruppe der Patienten mit AI war insgesamt jünger als die EH- bzw. PA-Patienten. Zudem bestand sie nur aus weiblichen Studienteilnehmern. Signifikante Unterschiede ließen sich in den systolischen und diastolischen Blutdruckwerten zwischen den Patientenkollektiven der AI- und PA- bzw. AI- und EH- Gruppe feststellen. Der Aldosteron-Renin-Quotient (ARQ) zeigte zwischen den Patienten mit AI und PA bzw. AI und EH signifikante Unterschiede ( $P=0,0001$  für PA vs. AI und  $P=0,006$  für EH vs. AI, bei ARQ-Werten der AI-Patienten im Bereich von  $4,4 \pm 4,1$  ng/L pro ng/L) (siehe Abbildung 3). Zwischen den Patienten mit PA und den Patienten mit EH bestand kein signifikanter Unterschied bezüglich der Alters- bzw. Geschlechtsverteilung. Auch die Blutdruckwerte zwischen beiden Patientenkollektiven zeigten keine signifikanten Unterschiede.

Letztendlich sind Aldosteronserumspiegel, sowie der ARQ als signifikante Unterscheidungsmerkmale zwischen den EH- und PA-Patienten zu erwähnen (siehe Abbildung 3). Die Aldosteronserumspiegel lagen in der PA-Gruppe ( $220,5 \pm 99,2$  ng/l) signifikant höher im Vergleich zur EH-Gruppe (EH-Gruppe  $94,5 \pm 63,4$  ng/l,  $P=0,00034$ ). Die Reninplasmaspiegel zeigten in der EH-Gruppe (Renin  $10,8 \pm 27,5$  ng/l) höhere Werte im Vergleich zur PA-Gruppe ( $3,6 \pm 3,3$  ng/l). Dieser Unterschied war jedoch nicht signifikant ( $P=0,7414$ )

Der ARQ zeigte bei der Gruppe der PA-Patienten signifikant höhere Werte im Gegensatz zu den Patienten mit EH ( $P=0,002$ , PA-Gruppe im Bereich von  $101,2 \pm 72,8$  ng/L pro ng/L, EH-Patientenkollektiv im Bereich von  $26,4 \pm 27,5$  ng/L pro ng/L).

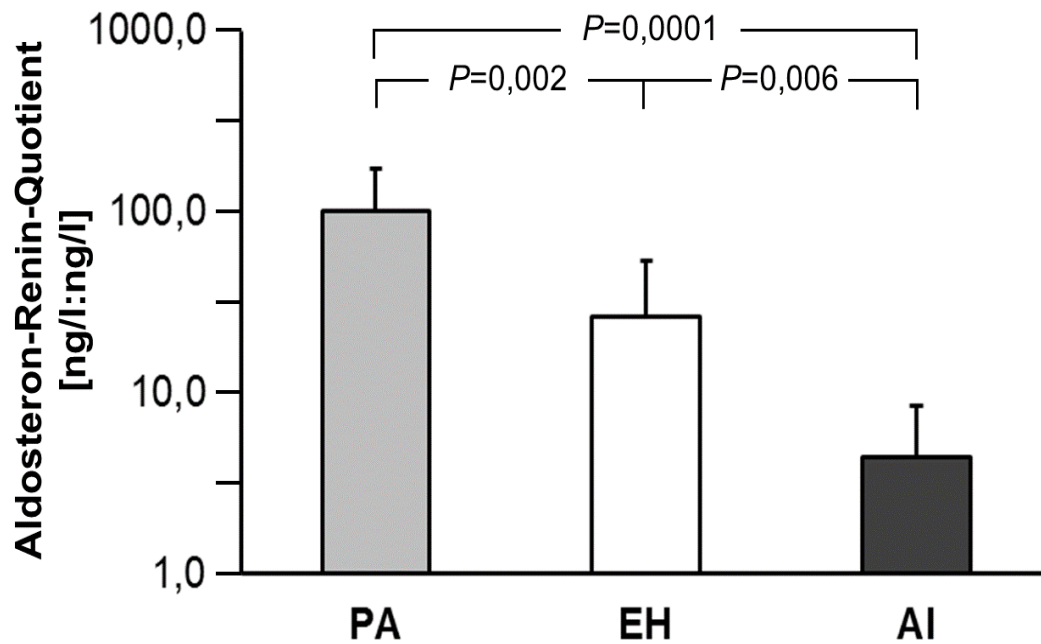


Abbildung 3: Aldosteron-Renin-Quotienten (ng/L:ng/L) (ARQ) bei Patienten mit PA-primärem Hyperaldosteronismus, EH-essentieller Hypertonie, AI-Nebenniereninsuffizienz (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

### 3.2 Endothelin-1- und Adrenomedullin-Plasmaspiegel

Die Ergebnisse der Studie bezüglich der ET-1- und ADM-Plasmaspiegel werden in den Abbildungen 4 bis 9 dargestellt.

Die basalen ET-1- und ADM-Plasmaspiegel waren in allen 3 Gruppen vergleichbar (PA-Patienten  $54,30 \text{ pmol/L} \pm 25,56$ , sowie  $0,45 \text{ pmol/L} \pm 0,16$ , EH-Patienten  $62,40 \pm 16,30$ , sowie  $0,45 \text{ pmol/L} \pm 0,16$  und AI-Patienten  $47,90 \text{ pmol/L} \pm 11,92$ , sowie  $0,42 \text{ pmol/L} \pm 0,04$ ). Es konnten keine signifikanten Unterschiede bei den ET-1- und ADM-Plasmakonzentrationen innerhalb der 3 Gruppen festgestellt werden ( $P=0,84$  und  $P=0,99$  für PA vs. EH,  $P=0,18$  und  $P=0,58$  für PA vs. AI,  $P=0,10$  und  $P=0,54$  für EH vs. AI) (siehe Abbildungen 4 und 5).

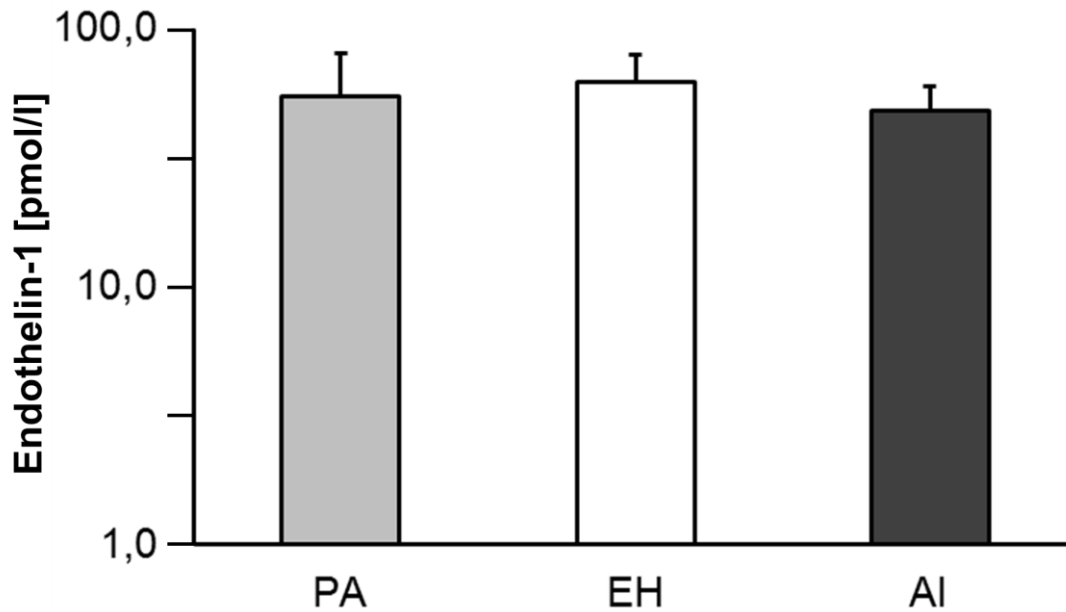


Abbildung 4: Basale Endothelin-1-Plasmaspiegel (pmol/L) bei Patienten mit PA-Primärem Hyperaldosteronismus, EH-essentieller Hypertonie, AI-Nebenniereninsuffizienz (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

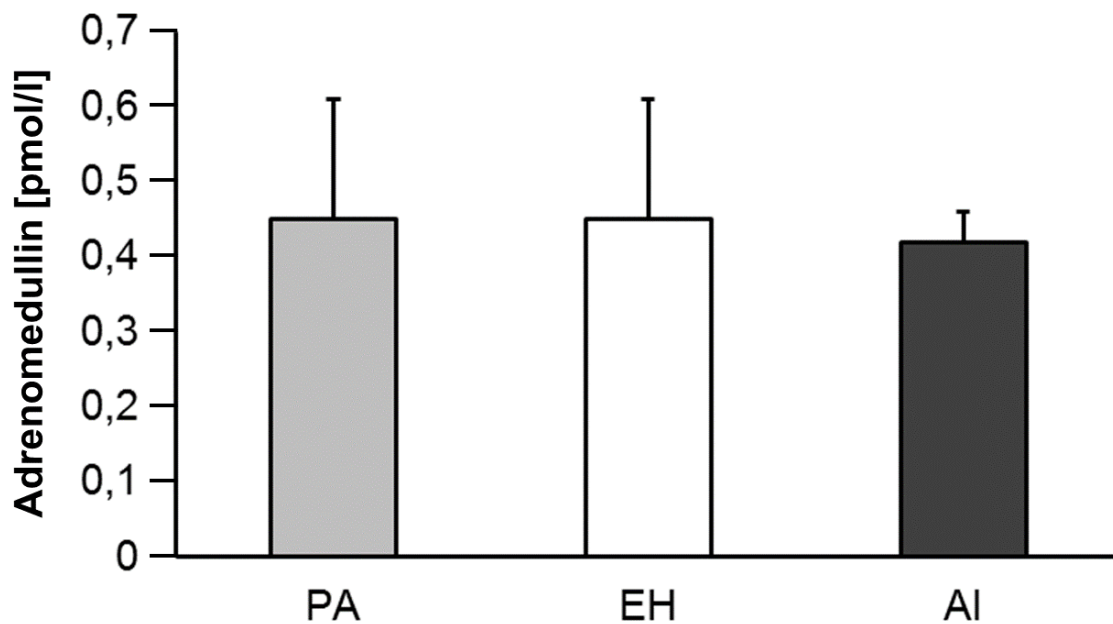


Abbildung 5: Basale Adrenomedullin-Plasmaspiegel (pmol/L) bei Patienten mit PA-Primärem Hyperaldosteronismus, EH-essentieller Hypertonie, AI-Nebenniereninsuffizienz (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

Nach Durchführung des Fludrocortisonbelastungstestes zeigten sich in den PA- sowie EH-Patientengruppen keine signifikanten Veränderungen in den ET-1- und ADM-Plasmakonzentrationen (PA-Patienten  $50,40 \text{ pmol/L} \pm 25,17$  und  $0,47 \text{ pmol/L} \pm 0,15$ ,  $P=0,79$  und  $P=0,91$ , sowie Patienten mit EH  $53,00 \text{ pmol/L} \pm 17,56$  und  $0,46 \text{ pmol/L} \pm 0,15$ ,  $P=0,86$  und  $P=0,30$ ) (siehe Abbildungen 6 bis 9).

Die dreitägige Zufuhr von Dexamethason führte ebenso zu keiner signifikanten Änderung bei den ET-1- und ADM-Plasmawerten in den beiden hypertonen Patientengruppen (Patienten mit PA  $50,30 \text{ pmol/L} \pm 21,29$ , sowie  $0,45 \text{ pmol/L} \pm 0,07$ ,  $P=0,12$  und  $P=0,79$  und Patienten mit EH  $49,30 \text{ pmol/L} \pm 16,87$ , sowie  $0,45 \text{ pmol/L} \pm 0,02$ ,  $P=0,30$  und  $P=0,31$ ) (siehe Abbildungen 6 bis 9).

Zuletzt wurde die Behandlung mit Spironolacton in der Gruppe der PA-Patienten durchgeführt. Auch in diesem Fall konnte keine signifikante Beeinflussung der ET-1- und ADM-Plasmakonzentrationen festgestellt werden ( $49,20 \text{ pmol/L} \pm 25,61$ , sowie  $0,45 \text{ pmol/L} \pm 1,04$ ,  $P=0,49$  und  $P=0,15$ ) (siehe Abbildungen 6 und 7)

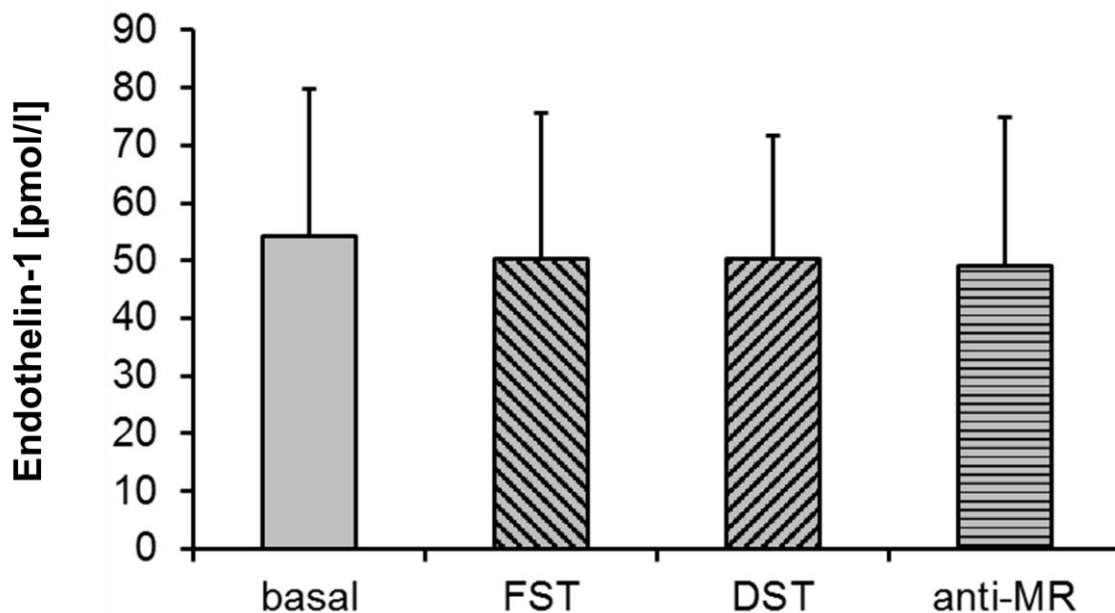


Abbildung 6: Endothelin-1-Plasmaspiegel (pmol/L) bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus nach Durchführung verschiedener Funktionsteste; FST-Fludrocortison, DST-Dexamethason, anti-MR-Mineralokortikoidantagonist (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

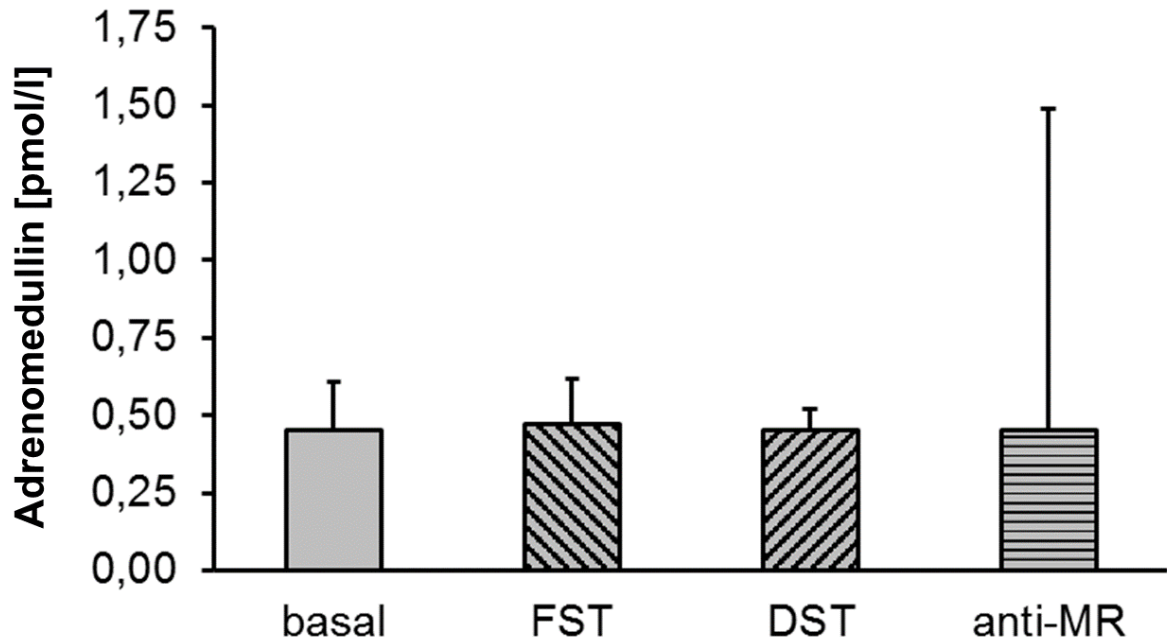


Abbildung 7: Adrenomedullin-Plasmaspiegel (pmol/L) bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus nach Durchführung verschiedener Funktionsteste; FST-Fludrocortison, DST-Dexamethason, anti-MR-Mineralokortikoidantagonist (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

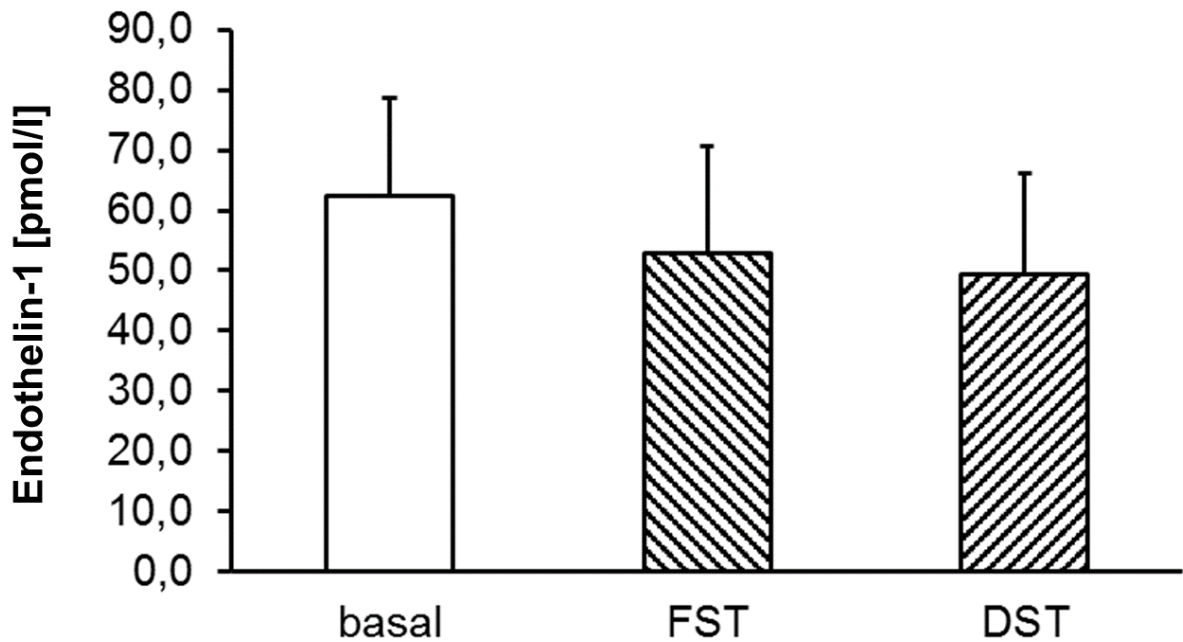


Abbildung 8: Endothelin-1-Plasmaspiegel (pmol/L) bei Patienten mit essentieller Hypertonie nach Durchführung verschiedener Funktionsteste; FST-Fludrocortison, DST-Dexamethason (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

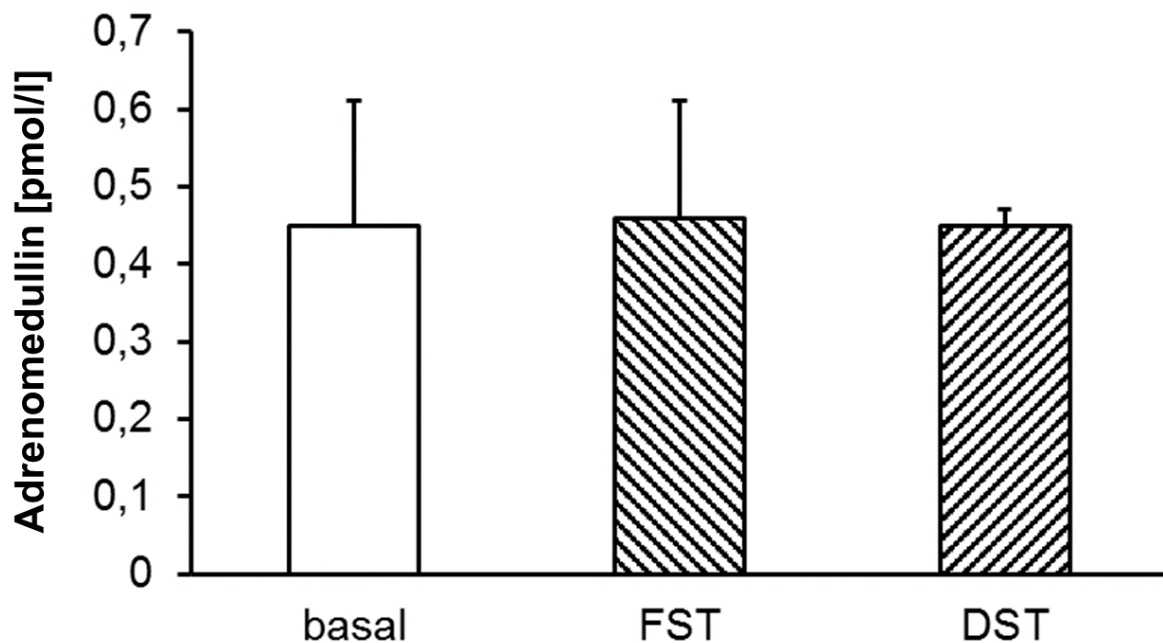


Abbildung 9: Adrenomedullin (ADM)-Plasmaspiegel (pmol/L) bei Patienten mit essentieller Hypertonie nach Durchführung verschiedener Funktionsteste; FST-Fludrocortison, DST-Dexamethason (Mittelwert, Standardabweichung; Vogt, 2012)

## 4 Diskussion

Die Blutdruckregulation im menschlichen Organismus wird nach neueren Vorstellungen neben dem sympathischen Nervensystem vor allem durch das RAAS und das ET-1-ADM-System gesteuert. Beide Hormonsysteme sollen unterschiedliche blutdruckregulierende Wirkung ausüben (Miller WL, 1989), (Ishiyama Y, 1993), (Kitamura K, 1993), (Ishimitsu T, 1994), (Lainchbury, 1997), (Miyachi T, 1999), (Nagaya N, 2000), (Schiffrin EL, 2001), (MC Enery, 2002), (Touyz RM, 2003).

In dieser Arbeit wurde untersucht, inwieweit die Synthese und Sekretion der Hormone ET-1 und ADM von unterschiedlichen Aktivitätszuständen des RAAS beeinflusst werden und ob ein regulatorisches Zusammenwirken der beiden Hormonsysteme, ET-1-ADM-System und RAAS, im menschlichen Organismus existiert. Es wurden Patientengruppen untersucht, die auf Grund ihrer Grunderkrankung unterschiedliche Aktivitätszustände des RAAS aufwiesen. Nach Verabreichung von Substanzen, die in die regulatorischen Mechanismen des RAAS eingreifen, wurden Renin-, Aldosteron-, ET-1- und ADM- Plasmaspiegel in den Patientenpopulationen bestimmt, um einen möglichen Zusammenhang zwischen beiden Hormonsystemen



nachzuweisen. Die Ergebnisse ließen eine solche Interaktion zwischen beiden Systemen nicht erkennen, weshalb die vorliegende Arbeit die gängige Annahme einer wechselseitigen Interaktion der Hormonsysteme (Ishiyama, 1993), (Kitamura, 1993), (Ishimitsu, 1994), (Kita, 1998) nicht bestätigt.

Während sich Aldosteron- und Reninspiegel signifikant zwischen den Patienten mit Hypertonus auf Grund eines primären Hyperaldosteronismus, Patienten mit essentieller Hypertonie, sowie Patienten mit Nebenniereninsuffizienz unterschieden, ein Ergebnis, das Studien zufolge zu erwarten war (Willenberg, 2009), zeigten sich im Vergleich dazu nur geringe Unterschiede in den ET-1-Plasmawerten. Dieses Ergebnis unserer Studie stimmt von der Kernaussage her mit den Resultaten anderer Arbeiten überein. So verglichen Morello *et al.* ET-1-Plasmaspiegel bei Patienten mit primären Hyperaldosteronismus im Nebennierenvenenblut der betroffenen Tumorseite mit den Plasmawerten des Hormons in der unteren *Vena cava*. Hierbei konnten ebenfalls keine signifikanten Unterschiede festgestellt werden (Morello, 2009). Veglio *et al.* untersuchten ET-1-Plasmawerte bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus. Verglichen mit gesunden Studienteilnehmern konnten auch hier keine signifikanten Unterschiede dokumentiert werden (Veglio, 1994). *In vitro* Daten von Paramonova *et al.* zeigten, dass ET-1 keine prominente Rolle in der Beeinflussung der Aldosteronsekretion durch das Endothel spielt (Paramonova, 2010).

Interessanterweise existieren *in vitro* und *in vivo* Experimente, die einen hemmenden Einfluss von ET-1 auf die *cAMP*-regulierte Reninproduktion postulieren (Moe, 1991), (Krämer, 1994), (Ritthaler, 1995), (Rossi, 1999). Zudem soll die Blockade mit dem ET-1-Antagonist Bosentan zu einer Stimulation der Reninproduktion führen (Bo Yang, 2010). Diese Beobachtungen machen theoretisch unter dem Gesichtspunkt Sinn, dass ET-1 Blocker durch ihre antivasopressive Wirkung das Gefäßsystem weiten mit daraus resultierendem relativem Volumenmangel, was wiederum zu einer Stimulation des RAAS führt. Die Frage, ob die Unterdrückung der Reninausschüttung durch ET-1 einer möglichen Stimulation der Aldosteronproduktion entgegenwirkt, bleibt offen und wurde mit unserem Studienansatz nicht beantwortet. Ein klassischer endokriner Effekt von ET-1 auf Renin oder Aldosteron scheint jedenfalls keine relevante Rolle bei der Entstehung des primären Hyperaldosteronismus zu spielen, da die ET-1-Plasmawerte von Patienten mit primären Hyperaldosteronismus in unserer Studie vergleichbar waren mit denen der essentiellen Hypertoniker. Die Hypothese verschiedener Studien, dass ET-1 die Aldosteronsekretion und das Wachstum der Nebenniere stimuliert (Miller, 1989), (Hinson, 1991), (Nussdorfer, 1997), (Delarue, 2004), wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit nicht unterstützt.

Neben der Beeinflussung des RAAS durch ET-1 gibt es auch Studien zur umgekehrten Wechselbeziehung, das heißt den Einfluss des RAAS auf ET-1 (Hahn, 1990), (Scott-Burden, 1991), (Imai, 1992), (Chua, 1993), (Sung, 1994), (Pecci, 1994), (Charles, 2003). So wurde ein stimulierender Einfluss von Angiotensin-2 auf die ET-1-Produktion postuliert (Rossi, 1999). In der vorliegenden Studie hätte demnach die Gabe von Fludrocortison die Angiotensin-2-Produktion unterdrücken, die Verabreichung von Spironolacton die Angiotensin-2-Produktion stimulieren müssen. Auch wenn keine Angiotensin-2-Blutspiegel in die eigenen Untersuchungen miteinbezogen wurden, scheint die vorliegende Arbeit die Hypothese einer klinisch relevanten Beeinflussung von ET-1 durch Angiotensin-2 indirekt zu widerlegen. Die ET-1-Plasmaspiegel werden weder durch Fludrocortison, noch durch Spironolacton signifikant beeinflusst.

Anderen Arbeiten zufolge sollen Patienten mit Nebenniereninsuffizienz (AI) erhöhte ET-1-Plasmaspiegel aufzeigen, was zum Teil wiederum durch den Einfluss von Angiotensin-2, das bei diesen Patienten erhöht zu sein scheint, erklärt wird (Letizia, 1996). In einer *in vitro* Studie konnte gezeigt werden, dass Aldosteron die ET-1-Produktion erhöht (Stow, 2009). Ein *Feedforward*-Mechanismus bei der Entstehung des primären Hyperaldosteronismus wird darüber hinaus in mehreren Veröffentlichungen diskutiert (Hinson, 1998), (Rossi, 1999), (Delarue, 2004), (Stow, 2009). Obwohl die hier vorgelegten Daten und die Ergebnisse anderer Arbeiten (Veglio, 1994), (Morello, 2009) solch eine Hypothese nicht unterstützen, sollte darauf hingewiesen werden, dass im Gegensatz zu Letizia *et al.* keine unbehandelten, gesunden Patienten in die vorliegende Studie miteinbezogen wurden (Letizia, 1998). Die Auswertung der Plasmaspiegel von Aldosteron, Renin, ET-1 und ADM in einer gesunden Kontrollgruppe im Vergleich mit den Plasmaspiegeln der Patientengruppen in der vorliegenden Arbeit hätte die Aussagekraft der Studie steigern sowie das Spektrum der Ergebnisauswertung erweitern können.

Die Gabe von Dexamethason in der Gruppe der Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus führte zu keiner Beeinflussung der ET-1-Spiegel. Aus diesem Ergebnis lässt sich ableiten, dass Glukokortikoide ebenfalls keinen wesentlichen Einfluss auf die ET-1-Sekretion auszuüben scheinen. Dennoch kann nicht ausgeschlossen werden, dass die Glukokortikoid-Behandlung von Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus zu einer Erniedrigung der ET-1-Plasmaspiegel im Verlauf der Behandlung führt, da nur bereits therapierte Patienten in die Studie miteinbezogen wurden. Die Patienten der vorliegenden Studie waren nicht ausschließlich neu diagnostiziert und standen zum Teil schon länger unter medikamentöser Therapie. Es kann schlussfolgernd keine grundsätzliche Aussage über den Einfluss von Glukokortikoiden auf die Höhe der ET-1-Plasmaspiegel auf Grundlage der vorliegenden Studie getroffen werden, da die basalen

Ausgangswerte der ET-1-Plasmaspiegel vor der medikamentöser Behandlung der Patienten nicht bestimmt wurden.

In unserem Patientenkollektiv zeigen auch die ADM-Plasmaspiegel keine signifikanten Unterschiede zwischen den verschiedenen Patientengruppen. Die durchgeführten Funktionsteste lösten keine signifikanten Änderungen in den ADM-Konzentrationen aus. Kürzlich wurde berichtet, dass Patienten mit Nebenniereninsuffizienz im Vergleich zu gesunden Personen erniedrigte ADM-Plasmawerte zeigten (Letizia, 2005). Eine Korrelation zwischen systolischem Blutdruck und ADM-Plasmakonzentrationen wird ebenso postuliert (Letizia, 2005). Auch unter Berücksichtigung der Tatsache, dass die Anzahl der untersuchten Patienten in der vorliegenden Studie relativ klein war, können unsere Ergebnisse die Hypothese, dass ADM-Plasmawerte bei Patienten mit Nebenniereninsuffizienz erhöht sind, nicht unterstützen. Einschränkend sollte jedoch wiederum bedacht werden, dass in der vorliegenden Arbeit keine gesunde Kontrollgruppe mitgeführt wurde, was die Ergebnisse und Interpretationen in ihrer Aussagekraft limitiert. Es existieren Studien, in denen erhöhte ADM-Plasmawerte bei Patienten mit Hypertonie und Niereninsuffizienz beschrieben werden (Ishimitsu, 1994). Patienten mit Nierenerkrankungen wurden aus der vorliegenden Studie ausgeschlossen, weshalb zu dieser Frage keine Aussagen getroffen werden können.

Unterschiedliche Hypothesen existieren über die Wechselbeziehungen zwischen ADM und dem RAAS. Eine Beziehung zwischen ADM und Angiotensin-2 wurde im Rahmen von klinischen und experimentellen Studien untersucht (Yamaguchi, 1995), (Mazzocchi, 1996), (Andreis, 1997). So soll ADM einen direkt hemmenden Einfluss auf die Angiotensin-2-regulierte Aldosteronsekretion bei entsprechend präparierten Nebennierenzellen *in vitro* ausgeübt haben (Yamaguchi, 1996), (Andreis, 1997), (Hinson, 1998), (Hamid, 2005). Im Gegensatz dazu gibt es Hypothesen, die einen proliferativen Einfluss des ADM auf Zellen der *Zona glomerulosa* postulieren (Andreis, 2000). Ebenso wurde herausgefunden, dass unter dem Einfluss des ADMs die Aldosteronplasmakonzentration bei Ratten, denen experimentell Flüssigkeit entzogen wurde und die beidseits nephrektomiert wurden, sanken (Yamaguchi, 1996). Im Gegensatz zu diesen Ergebnissen wurde in einem *in situ*-perfundierten Nebennierenmodell der Ratte ein stimulierender Einfluss des ADMs auf die Aldosteronproduktion festgestellt (Mazzocchi, 1996).

Die Tatsache, dass ADM primär aus Phäochromozytomzellen isoliert wurde (Kitamura, 1993), veranlasste verschiedene Wissenschaftler zur Analyse des Zusammenhangs zwischen der Höhe der ADM-Blutkonzentrationen und der Aktivität des sympathischen Nervensystems. ADM-Plasmaspiegel sollen demnach abhängig von der Aktivität des

sympathischen Nervensystems und dem Flüssigkeitshaushalt bei Patienten mit Bluthochdruck und Niereninsuffizienz ansteigen (Ishimitsu, 1994). Ein Anstieg der ADM-Plasmawerte wird zudem im Zusammenhang mit einer Volumenexpansion im Blut gebracht (Ishimitsu, 1994). Patienten mit essentieller Hypertonie sollen höhere ADM-Plasmawerte aufweisen als gesunde Kontrollpersonen (Ishimitsu, 1994). Zur Einordnung dieser Aussagen liefert die vorliegende Studie keine neuen Gesichtspunkte, da wir lediglich erkrankte Patienten untersuchten.

Basierend auf seiner hypotensiven Wirkung wird ADM eine Teilhabe an den physiologischen Mechanismen zugeschrieben, die den pathogenen Blutdruck steigernden Prozessen bei Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus entgegenwirken (Kato, 1995). Diese Spekulation wird unterstützt durch die Tatsache, dass Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus auf Grund eines Nebennierenadenoms postoperativ niedrigere ADM-Werte aufwiesen als zum Diagnosezeitpunkt (Letizia, 1998).

Unsere Studienergebnisse stützen diese Annahmen einer blutdruckregulierenden Wirkung des ADMs bei Hyperaldosteronismus nicht. Es konnten keine signifikanten Unterschiede bezüglich der ADM-Werte bei den 3 untersuchten Patientengruppen festgestellt werden. Patienten mit primärem Hyperaldosteronismus oder essentieller Hypertonie zeigten keine erhöhten ADM-Plasmawerte. Die Interventionen in das RAAS, die mit Hilfe von Fludrocortison, Dexamethason und Spironolacton durchgeführt wurden, führten zu keiner signifikanten Beeinflussung der ADM-Blutwerte. Dies ist ein eher unerwartetes Ergebnis, verglichen mit den Hypothesen vieler der oben zitierten Arbeiten. Einschränkend sollte auf diesem Hintergrund bedacht werden, dass die Studienkohorten hier möglicherweise zu klein waren, um feine Unterschiede zu erkennen und die getroffenen Negativaussagen hinreichend abzusichern. Zudem hätte das Miteinbeziehen einer gesunden Kontrollgruppe im Rahmen der Studiendurchführung die Aussagekraft und das Spektrum der Ergebnisauswertung erweitern können.

## 5 Schlussfolgerung

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie sprechen gegen die Annahme, dass ADM und ET-1 an der Pathogenese der essentiellen Hypertonie und des primären Hyperaldosteronismus beteiligt sind bzw. direkt regulierend in die Blutdrucksteuerung bei Vorliegen einer Nebenniereninsuffizienz eingreifen. Es konnten keine signifikanten Unterschiede in den Plasmawerten der Hormone ET-1 und ADM innerhalb der Patientengruppen und nach den jeweiligen Interventionen in das RAAS mittels Exposition der Patienten gegenüber den Substanzen Fludrocortison, Dexamethason sowie Spironolacton festgestellt werden. Wir folgern aus unseren Resultaten, dass beide Hormone, ADM und ET-1, scheinbar unabhängig vom RAAS an der Regulation des Blutdrucks beteiligt sind und ihre Verknüpfung indirekter Natur ist. Die existierende Hypothese, dass beide Hormone an der Entstehung von Krankheiten wie dem primären Hyperaldosteronismus oder der Nebenniereninsuffizienz beteiligt sind, wird durch unsere Untersuchungsergebnisse nicht gestützt. Sie sprechen gegen den therapeutischen klinischen Einsatz von ET-1-Antagonisten zur Behandlung des primären Hyperaldosteronismus, sodass der Einsatz der Substanzen in dieser Patientengruppe kritisch zu hinterfragen ist. Die vorliegende Studie ist allerdings auf Grund der geringen Patientenzahl und ihrer Negativaussage bezüglich des Ergebnisses in ihrer Aussagekraft limitiert. Auch die Tatsache, dass keine gesunde Kontrollgruppe in die Studie miteinbezogen wurde, könnte einen limitierenden Faktor darstellen. Eine Stärke der vorliegenden Studie resultiert aus der Tatsache, dass die Interventionen in ein- und denselben Patientengruppen stattfanden und die Auswertungen gepaart erfolgen konnten.

## 6 Literaturverzeichnis

1. Allolio B, Fassnacht M. Clinical Review: Adrenocortical Carcinoma: Clinical Update. *J. Clin. Endocrinol. Metab* **2009**; 91(6): 2027–2037.
2. Andreis PG, Markowska A, Champion HC, Mazzocchi G, Malendowicz LK, Nussdorfer GG. Adrenomedullin enhances cell proliferation and deoxyribonucleic acid synthesis in rat adrenal zona glomerulosa: receptor subtype involved and signaling mechanism. *Endocrinology* **2000**; 141: 2098-104
3. Andreis PG, Neri G, Prayer-Galetti T, Rossi GP, Gottardo G, Malendowicz LK, Nussdorfer GG. Effects of adrenomedullin on the human adrenal glands: an in vitro study. *J Clin Endocrinol Metab* **1997**; 82:1167-70
4. Belloni AS, Pacheco YG, Markowska A, Andreis PG, Meneghelli V, Malendowicz LK, Nussdorfer GG. Distribution and functional significance of the endothelin receptor subtypes in the rat adrenal gland. *Cell Tissue Res* **1997**; 288: 345 – 52
5. Belloni AS, Rossi GP, Andreis PG, Neri G, Albertin G, Pessina AC, Nussdorfer GG. Endothelin adrenocortical secretagogue effect is mediated by the B receptor in rats. *Hypertension* **1996**; 27(5): 1153-9
6. Bernini G, Moretti A, Argenio G, Salvetti A. Primary aldosteronism in normokalemic patients with adrenal incidentalomas. *Eur J Endocrinol* **2002**; 146 (4): 523-9
7. Born-Frontsberg E, Reincke M, Beuschlein F, Quinkler M; Participants of German Conn's Registry. Tumor size of Conn's adenoma and comorbidities. *Horm Metab Res* **2009**; 41(10): 785-8
8. Bo Yang, Chen YD, Li TD, Feng QZ. Endothelin-1 receptor blockade induces upregulation of renin-angiotensin-aldosterone system expression in terms of blood pressure regulation. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst* **2010**; 11: 119-123
9. Cardillo C, Campia U, Kilcoyne CM, Bryant MB, Panza JA. Improved endothelium-dependent vasodilation after blockade of endothelin receptors in patients with essential hypertension. *Circulation* **2002**; 105(4): 452-6
10. Cardillo C, Kilcoyne CM, Waclawiw M, Cannon RO 3rd, Panza JA. Role of endothelin in the increased vascular tone of patients with essential hypertension. *Hypertension* **1999**; 33: 753-8

11. Charles CJ, Lainchbury JG, Nicholls MG, Rademaker MT, Richards AM, Troughton RW. Adrenomedullin and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Regul Pept* **2003**; 112: 41-9
12. Choi M, Scholl UI, Yue P, Björklund P, Zhao B, Nelson-Williams C, Ji W, Cho Y, Patel A, Men CJ, Lolis E, Wisgerhof MV, Geller DS, Mane S, Hellman P, Westin G, Åkerström G, Wang W, Carling T, Lifton RP. K<sup>+</sup> channel mutations in adrenal aldosterone-producing adenomas and hereditary hypertension. *Science* **2011**; 331(6018): 768-72
13. Chua BH, Chua CC, Diglio CA, Siu BB. Regulation of endothelin-1 mRNA by angiotensin II in rat heart endothelial cells. *Biochim Biophys Acta* **1993**; 1178: 201-6
14. Collins R, Peto R, MacMahon S, Hebert P, Fiebach NH, Eberlein KA, Godwin J, Qizilbash N, Taylor JO, Hennekens CH. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 2, Short-term reductions in blood pressure: overview of randomised drug trials in their epidemiological context. *Lancet* **1990**; 335(8693): 827-38
15. Conn JW. Presidential address. Part I. Painting background. Part II. Primary aldosteronism, a new clinical syndrome. *J Lab Clin Med* **1955**; 45: 3 – 17
16. Dashwood MR, Tsui JC. Endothelin-1 and atherosclerosis: potential complications associated with endothelin-receptor blockade. *Atherosclerosis* **2002**; 160: 297–304
17. Delarue C, Conlon JM, Remy-Jouet I, Fournier A, Vaudry H. Endothelins as local activators of adrenocortical cells. *J Mol Endocrinol* **2004**; 32: 1-7
18. Diederich, S. Diagnostik und Therapie bei primärem Hyperaldosteronismus. *Diagnosis and therapy of primary hyperaldosteronism* **2012**; 52(2): 2890020-9570
19. Evans JG, Rose G. Hypertension. *Br Med Bull* **1971**; 27(1): 37-42
20. Fardella CE, Mosso L, Gómez-Sánchez C, Cortés P, Soto J, Gómez L, Pinto M, Huete A, Oestreicher E, Foradori A, Montero J. Primary hyperaldosteronism in essential hypertensives: prevalence, biochemical profile, and molecular biology. *J Clin Endocrinol Metab* **2000**; 85: 1863-7
21. Feng CJ, Kang B, Kaye AD, Kadowitz PJ, Nossaman BD. L-NAME modulates responses to adrenomedullin in the hindquarters vascular bed of the rat. *Life Sci* **1994**; 55(22): 433-8
22. Funder JW, Carey RM, Fardella C, Gomez-Sanchez CE, Mantero F, Stowasser M, Young WF Jr, Montori VM; Endocrine Society. Case detection, diagnosis, and treatment of patients with primary aldosteronism: an endocrine society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* **2008**; 93: 3266-81

23. Funder JW. GPR30 Mineralocorticoid receptors, and the rapid vascular effects of aldosterone. *Hypertension* **2011**; 57: 370-72
24. Gombos T, Förhécz Z, Pozsonyi Z, Wallentin S, Papassotiriou J, Kunde J, Morgenthaler NG, Jánoskúti L, Prohászka Z. Adrenomedullin and endothelin-1 are related to inflammation in chronic heart failure. *Inflamm Res* **2009**; 58: 298-305
25. Gross F. Renin und Hypertensin, physiologische oder pathologische Wirkstoffe? *Klin Wschr* **1958**; 36: 693 – 706
26. Guarda E, Katwa LC, Myers PR, Tyagi SC, Weber KT. Effects of endothelins on collagen turnover in cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Res* **1993**; 27: 2130-34
27. Hagner S, Stahl U, Knoblauch B, McGregor GP, Lang RE. Calcitonin receptor-like receptor: identification and distribution in human peripheral tissues. *Cell Tissue Res* **2002**; 310(1): 41-50
28. Hahn AW, Resink TJ, Scott-Burden T, Powell J, Dohi Y, Bühler FR. Stimulation of endothelin mRNA and secretion in rat vascular smooth muscle cells: a novel autocrine function. *Cell Regul* **1990**; 1: 649-59
29. Hamid SA, Baxter GF. Adrenomedullin: regulator of systemic and cardiac homeostasis in acute myocardial infarction. *Pharmacol Ther* **2005**; 105: 95-112
30. Hayakawa H, Hirata Y, Kakoki M, Suzuki Y, Nishimatsu H, Nagata D, Suzuki E, Kikuchi K, Nagano T, Kangawa K, Matsuo H, Sugimoto T, Omata M. Role of nitric oxide-cGMP pathway in adrenomedullin-induced vasodilation in the rat. *Hypertension* **1999**; 33(2): 689-93
31. Haynes WG, Strachan FE, Gray GA, Webb DJ. Forearm vasoconstriction to endothelin-1 is mediated by ETA and ETB receptors in vivo in humans. *J Cardiovasc Pharmacol* **1995**; 26(3): 40–3
32. Hermán F, Magyar K, Chabrier PE, Braquet P, Filep J. Prostacyclin mediates antiaggregatory and hypotensive actions of endothelin in anaesthetized beagle dogs. *Br J Pharmacol* **1989**; 98(1): 38-40
33. Hinson JP, Kapas S, Teja R, Vinson GP. Effect of the endothelins on aldosterone secretion by rat zona glomerulosa cells in vitro. *J Steroid Biochem Mol Biol* **1991**; 40: 43743 – 49
34. Hinson JP, Kapas S. The role of endothelial cell products in the regulation of adrenocortical function: actions of endothelin, nitric oxide, adrenomedullin and PAMP. *Horm Metab Res* **1998**; 30: 334-340



35. Hiramatsu K, Yamada T, Yukimura Y, Komiya I, Ichikawa K, Ishihara M, Nagata H, Izumiyama T. A screening test to identify aldosterone-producing adenoma by measuring plasma renin activity. Results in hypertensive patients. *Arch Intern Med* **1981**; 141(12): 1589-93
36. Hirata Y, Mitaka C, Sato K, Nagura T, Tsunoda Y, Amaha K, Marumo F. Increased circulating adrenomedullin, a novel vasodilatory peptide, in sepsis. *J Clin Endocrinol Metab* **1996**; 81(4): 1449-53
37. Hopfner RL, Gopalakrishnan V. Endothelin: emerging role in diabetic vascular complications. *Diabetologia* **1999**; 42(12): 1383-94
38. M. Horacek, S. Möhlenkamp, A.A. Mahabadi, S. Churzidse, S. Moebus, K.-H. Jöckel, R. Erbel. Prävalenz der arteriellen Hypertonie in der westdeutschen Bevölkerung. *Herz* **2012**; 37: 721-727
39. Imai T, Hirata Y, Emori T, Yanagisawa M, Masaki T, Marumo F. Induction of endothelin-1 gene by angiotensin and vasopressin in endothelial cells. *Hypertension* **1992**; 19: 753-57
40. Ishimitsu T, Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Eto T, Kangawa K, Matsuo H, Omae T, Matsuoka H. Plasma levels of adrenomedullin, a newly identified hypotensive peptide, in patients with hypertension and renal failure. *J Clin Invest* **1994**; 94: 2158-61
41. Ishiyama Y, Kitamura K, Ichiki Y, Nakamura S, Kida O, Kangawa K, Eto T. Hemodynamic effects of a novel hypotensive peptide, human adrenomedullin, in rats. *Eur J Pharmacol* **1993**; 241: 271-73
42. Iwasa S, Fan J, Miyauchi T, Watanabe T. Blockade of endothelin receptors reduces diet-induced hypercholesterolemia and atherosclerosis in apolipoprotein E-deficient mice. *Pathobiology* **2001**; 69(1) : 1-10
43. Joffres M, Falaschetti E, Gillespie C. Hypertension prevalence, awareness, treatment and control in national surveys from England, the USA and Canada, and correlation with stroke and ischaemic heart disease mortality: a cross-sectional study. *BMJ Open* **2013**; 3: e003423.
44. Juaneda C, Dumont Y, Chabot JG, Fournier A, Quirion R. Adrenomedullin receptor binding sites in rat brain and peripheral tissues. *Eur J Pharmacol.* **2003**; 474(2-3) : 165-74
45. C.R. Kannan M.D, Adrenocortical carcinoma. The Adrenal gland Clinical surveys in *Endocrinology*. Volume 2, **1988**; 393-422

46. Kato K, Kitamura K, Kuwasako K, Tanaka M, Ishiyama Y, Shimokubo T, Ichiki Y, Nakamura S, Kangawa K, Eto T. Plasma adrenomedullin in patients with primary aldosteronism. *Am J Hypertens* **1995**; 8: 997-1000
47. Kedzierski RM, Yanagisawa M. Endothelin system: the double-edged sword in health and disease. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* **2001**; 41: 851-76
48. Kita T, Kitamura K, Kuwasako K, Kawamoto M, Eto T. Short-term modulation of the renin-angiotensin system does not alter plasma adrenomedullin concentration in humans. *J Hypertens* **1998**;16: 2057-62
49. Kitamura K, Kangawa K, Kawamoto M, Ichiki Y, Nakamura S, Matsuo H, Eto T. Adrenomedullin: a novel hypotensive peptide isolated from human pheochromocytoma. *Biochem Biophys Res Commun* **1993**; 192: 553-60
50. Kitamura K, Sakata J, Kangawa K, Kojima M, Matsuo H, Eto T. Cloning and characterization of cDNA encoding a precursor for human adrenomedullin. *Biochem Biophys Res Commun.* 1993; 194(2): 720-5. Erratum in: *Biochem Biophys Res Commun* **1994**; 202(1): 643
51. Kitamura K. Immunoassays for adrenomedullin and PAMP. *Nippon Rinsho* **2004**; 62(9): 216-9
52. Krämer BK, Ritthaler T, Ackermann M, Holmer S, Schricker K, Riegger GA, Kurtz A. Endothelium-mediated regulation of renin secretion. *Kidney Int* **1994**; 46: 1577-9
53. Ladoux A, Frelin C. Coordinated Up-regulation by hypoxia of adrenomedullin and one of its putative receptors (RDC-1) in cells of the rat blood-brain barrier. *J Biol Chem* **2000**; 275(51): 39914-9
54. Lainchbury JG, Cooper GJ, Coy DH, Jiang NY, Lewis LK, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG. Adrenomedullin: a hypotensive hormone in man. *Clin Sci (Lond)* **1997**; 92(5): 467-72
55. Lainchbury JG, Troughton RW, Lewis LK, Yandle TG, Richards AM, Nicholls MG. Hemodynamic, hormonal and renal effects of short-term adrenomedullin infusion in healthy volunteers. *J Clin Endocrinol Metab* **2000**; 85(3): 1016-20
56. Lang MG, Paternò R, Faraci FM, Heistad DD. Mechanisms of adrenomedullin-induced dilatation of cerebral arterioles. *Stroke* **1997**; 28(1): 181-5
57. Lavallée M, Takamura M, Parent R, Thorin E. Crosstalk between endothelin and nitric oxide in the control of vascular tone. *Heart Fail Rev* **2001**; 6(4): 265-76
58. M R Law, J K Morris, N F Wald. Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta analysis of 147 randomised trails in the

- context of expectations from prospective epidemiological status. *BMJ* **2009**; 338:b1665
59. Carlene M M Lawes, Stephan Vander Hoorn, Anthony Rodgers. Global burden of blood-pressure-related disease, 2001. *Lancet* **2008**; 371:1513-18
  60. Letizia C, Centanni M, Scuro L, Canettieri G, Cerci S, De Ciocchis A, D'Ambrosio C, Scavo D. High plasma levels of endothelin-1 in untreated Addison's disease. *Eur J Endocrinol* **1996**; 135: 696-9
  61. Letizia C, Cerci S, Centanni M, De Toma G, Subioli S, Scuro L, Scavo D. Circulating levels of adrenomedullin in patients with Addison's disease before and after corticosteroid treatment. *Clin Endocrinol* **1998**; 48: 145-48
  62. Letizia C, D'Erasmus E, Subioli S, Di Biase A, Benedetti S, Bizzarri C, Ubertini G, Cappa M. Plasma levels of adrenomedullin in patients with adrenoleukodystrophy/adrenomyeloneuropathy. *Horm Res* **2005**; 63: 90-4
  63. Letizia C, De Toma G, Cerci S, Massa R, Coassin S, Subioli S, Scuro L, De Ciocchis A. Adrenomedullin levels are high in primary aldosteronism due to adenoma and decline after surgical cure. *Blood Press* **1998**; 7: 19-23
  64. Lewington S, Clarke R, Qizilbash N, Peto R, Collins R; Prospective Studies Collaboration. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a metaanalysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. *Lancet* **2002**; 360(9349): 1903-13 Erratum in: *Lancet* **2003**; 361(9362): 1060
  65. Lipton et al. *J Appl Physiol* 76, 1994; Lipton H, Chang JK, Hao Q, Summer W, Hyman AL. Adrenomedullin dilates the pulmonary vascular bed in vivo. *J Appl Physiol* **1994**; 76 (5): 2154-6
  66. Lüscher TF, Barton M. Endothelins and endothelin receptor antagonists: therapeutic considerations for a novel class of cardiovascular drugs. *Circulation* **2000**; 102(19): 2434-40
  67. MacMahon S, Peto R, Cutler J, Collins R, Sorlie P, Neaton J, Abbott R, Godwin J, Dyer A, Stamler J. Blood pressure, stroke, and coronary heart disease. Part 1, Prolonged differences in blood pressure: prospective observational studies corrected for the regression dilution bias. *Lancet* **1990**; 335(8692): 765-74
  68. Giuseppe Mancina, Robert Fagard, Krzysztof Narkiewicz, Josep Redo'n, Alberto Zanchetti, Michael Böhm, Thierry Christiaens, Renata Cifkova, Guy De Backer, Anna Dominiczak, Maurizio Galderisi, Diederick E. Grobbee, Tiny Jaarsma, Paulus Kirchhof, Sverre E. Kjeldsen, Stéphane Laurent, Athanasios J. Manolis, Peter M.

- Nilsson, Luis Miguel Ruilope, Roland E. Schmieder, Per Anton Sirnes, Peter Sleight, Margus Viigimaa, Bernard Waeber, and Faiez Zannad . Practice guidelines for the management of arterial hypertension of the European society of Hypertension (ESH) and the European society of cardiology (ESC). *Journal of Hypertension*, **2013**; 31: 1925-1938
69. Masaki T, Kimura S, Yanagisawa M, Goto K. Molecular and cellular mechanism of endothelin regulation. Implications for vascular function. *Circulation* **1991**; 84: 1457–68
  70. Mazzocchi G, Musajo F, Neri G, Gottardo G, Nussdorfer GG. Adrenomedullin stimulates steroid secretion by the isolated perfused rat adrenal gland in situ: comparison with calcitonin gene-related peptide effects. *Peptides* **1996**; 17: 853-57
  71. Mazzocchi G, Rebuffat P, Gottardo G, Nussdorfer GG. Adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide inhibit aldosterone secretion in rats, acting via a common receptor. *Life Sci* **1996**; 58: 839-44
  72. Mazzocchi G, Rossi GP, Rebuffat P, Malendowicz LK, Markowska A, Nussdorfer GG. Endothelins stimulate deoxyribonucleic acid synthesis and cell proliferation in rat adrenal zona glomerulosa, acting through an endothelin A receptor coupled with protein kinase C- and tyrosine kinase-dependent signaling pathways. *Endocrinology* **1997**; 138(6): 2333-7
  73. McEniery CM, Wilkinson IB, Jenkins DG, Webb DJ. Endogenous endothelin-1 limits exercise induced vasodilation in hypertensive humans. *Hypertension* **2002**; 40(2): 202-6
  74. McLatchie LM, Fraser NJ, Main MJ, Wise A, Brown J, Thompson N, Solari R, Lee MG, Foord SM. RAMPs regulate the transport and ligand specificity of the calcitonin-receptor-like receptor. *Nature* **1998**; 393(6683): 333-9
  75. Miller WL, Redfield MM, Burnett JC Jr. Integrated cardiac, renal, and endocrine actions of endothelin. *J Clin Invest* **1989**; 83: 317–320
  76. Miyauchi T, Masaki T. Pathophysiology of endothelin in the cardiovascular system. *Annu Rev Physiol* **1999**; 61: 391–415
  77. Moe O, Tejedor A, Campbell WB, Alpern RJ, Henrich WL. Effects of endothelin on in vitro renin secretion. *Am J Physiol* **1991**; 260: 521-5
  78. Moreau P, d'Uscio LV, Shaw S, Takase H, Barton M, Lüscher TF. Angiotensin II increases tissue endothelin and induces vascular hypertrophy: reversal by ET (A)-receptor antagonist. *Circulation* **1997**; 96(5): 1593-7

79. Morello F, Schiavone D, Mengozzi G, Bertello C, Liew CC, Bisbocci D, Mulatero P, Veglio F. Adrenal endothelin-1 levels are not associated with aldosterone secretion in primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol* **2009**; 160: 453-8
80. Mulatero P, Stowasser M, Loh KC, Fardella CE, Gordon RD, Mosso L, Gomez-Sanchez CE, Veglio F, Young WF Jr. Increased diagnosis of primary aldosteronism, including surgically correctable forms, in centers from five continents. *J Clin Endocrinol Metab* **2004**; 89(3): 1045-50
81. Nagaya N, Satoh T, Nishikimi T, Uematsu M, Furuichi S, Sakamaki F, Oya H, Kyotani S, Nakanishi N, Goto Y, Masuda Y, Miyatake K, Kangawa K. Hemodynamic, renal, and hormonal effects of adrenomedullin infusion in patients with congestive heart failure. *Circulation* **2000**; 101(5): 498-503
82. New MI, Siegal EJ, Peterson RE. Dexamethasone-suppressible hyperaldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab*. **1973**; 37(1):93-100
83. Nishikimi T, Saito Y, Kitamura K, Ishimitsu T, Eto T, Kangawa K, Matsuo H, Omae T, Matsuoka H. Increased plasma levels of adrenomedullin in patients with heart failure. *J Am Coll Cardiol* **1995**; 26(6): 1424-31
84. Nishio K, Akai Y, Murao Y, Doi N, Ueda S, Tabuse H, Miyamoto S, Dohi K, Minamino N, Shoji H, Kitamura K, Kangawa K, Matsuo H. Increased plasma concentrations of adrenomedullin correlate with relaxation of vascular tone in patients with septic shock. *Crit Care Med* **1997**; 25(6): 953-7
85. Nohria A, Garrett L, Johnson W, Kinlay S, Ganz P, Creager MA. Endothelin-1 and vascular tone in subjects with atherogenic risk factors. *Hypertension* **2003**; 42(1): 43-8
86. Nussdorfer GG, Rossi GP, Belloni AS. The role of endothelins in the paracrine control of the secretion and growth of the adrenal cortex. *Int Rev Cytol* **1997**; 171: 267-308
87. Nussdorfer GG, Rossi GP, Mazzocchi G. Role of adrenomedullin and related peptides in the regulation of the hypothalamo-pituitary-adrenal axis. *Peptides* **1997**; 18: 1079-89
88. Oelkers W. Adrenal insufficiency. *N Engl J Med* **1996**; 335(16): 1206-12
89. Ogita T, Hashimoto E, Yamasaki M, Nakaoka T, Matsuoka R, Kira Y, Fujita T. Hypoxic induction of adrenomedullin in cultured human umbilical vein endothelial cells. *J Hypertens* **2001**; 19: 603-8
90. Owji AA, Smith DM, Coppock HA, Morgan DG, Bhogal R, Ghatei MA, Bloom SR. An abundant and specific binding site for the novel vasodilator adrenomedullin in the rat. *Endocrinology* **1995**; 136(5): 2127-34

91. Paramonova I, Haase M, Mülders-Opgenoorth B, Ansurudeen-Rafi I, Bornstein SR, Papewalis C, Schinner S, Schott M, Scherbaum WA, Willenberg HS. The effects of the endothelium on adrenal steroidogenesis and growth are mainly mediated by proteins other than endothelin-1. *Horm Metab Res* **2010**; 42(12): 840-5
92. Pecci A, Cozza EN, Devlin M, Gomez-Sanchez CE, Gomez-Sanchez EP. Endothelin-1 stimulation of aldosterone and zona glomerulosa ouabain-sensitive sodium/potassium-ATPase. *J Steroid Biochem Mol Biol* **1994**; 50: 49-53
93. Quack I, Vonend O, Rump LC. Familial hyperaldosteronism I-III. *Horm Metab Res* a. **2010**; 42(6): 424-8
94. Reincke M, Beuschlein F, Quinkler M; Participants of German Conn's Registry. Tumor size of Conn's adenoma and comorbidities. *Horm Metab Res* **2009**; 41(10): 785-8
95. Ritthaler et al. *Am J Physiol* 1995 Ritthaler T, Scholz H, Ackermann M, Riegger G, Kurtz A, Krämer BK. Effects of endothelins on renin secretion from isolated mouse renal juxtaglomerular cells. *Am J Physiol* **1995**; 268: 39-45
96. Rossi GP, Albertin G, Belloni A, Zanin L, Biasolo MA, Prayer-Galetti T, Bader M, Nussdorfer GG, Palù G, Pessina AC. Gene expression, localization, and characterization of endothelin A and B receptors in the human adrenal cortex. *J Clin Invest* **1994**; 94: 1226-34
97. Rossi GP, Albertin G, Neri G, Andreis PG, Hofmann S, Pessina AC, Nussdorfer GG. Endothelin-1 stimulates steroid secretion of human adrenocortical cells ex vivo via both ETA and ETB receptor subtypes. *J Clin Endocrinol Metab* **1997**; 82(10): 3445-9
98. Rossi GP, Bernini G, Caliumi C, Desideri G, Fabris B, Ferri C, Ganzaroli C, Giacchetti G, Letizia C, Maccario M, Mallamaci F, Mannelli M, Mattarello MJ, Moretti A, Palumbo G, Parenti G, Porter E, Semplicini A, Rizzoni D, Rossi E, Boscaro M, Pessina AC, Mantero F; PAPY Study Investigators. A prospective study of the prevalence of primary aldosteronism in 1,125 hypertensive patients. *J Am Coll Cardiol* **2006**; 48(11): 2293-300
99. Rossi GP, Sacchetto A, Cesari M, Pessina AC. Interactions between endothelin-1 and the renin-angiotensin-aldosterone system. *Cardiovasc Res* **1999**; 43: 300-7
100. Rossi GP. Does primary aldosteronism exist in normotensive and mildly hypertensive patients, and should we look for it? *Hypertens Res* **2011**; 34(1): 43-6

101. Sakata J, Shimokubo T, Kitamura K, Nakamura S, Kangawa K, Matsuo H, Eto T. Molecular cloning and biological activities of rat adrenomedullin, a hypotensive peptide. *Biochem Biophys Res Commun* **1993**; 195(2): 921-7
102. Sandner P, Hofbauer KH, Tinel H, Kurtz A, Thiesson HC, Ottosen PD, Walter S, Skøtt O, Jensen BL. Expression of adrenomedullin in hypoxic and ischemic rat kidneys and human kidneys with arterial stenosis. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol* **2004**; 286(5): 942-51
103. Schiffrin EL. Role of endothelin-1 in hypertension and vascular disease. *Am J Hypertens* **2001**; 14: 83-9
104. Scott-Burden T, Resink TJ, Hahn AW, Vanhoutte PM. Induction of endothelin secretion by angiotensin II: effects on growth and synthetic activity of vascular smooth muscle cells. *J Cardiovasc Pharmacol* **1991**; 17(7): 96-100
105. Seissler JI, Schott M, Steinbrenner H, Peterson P, Scherbaum WA. Autoantibodies to adrenal cytochrome P450 antigens in isolated Addison's disease and autoimmune polyendocrine syndrome type II. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. **1999**; 107(3): 208-13
106. Späth M, Korovkin S, Antke C, Anlauf M, Willenberg HS. Aldosterone- and cortisol-co-secreting adrenal tumors: the lost subtype of primary aldosteronism. *Eur J Endocrinol* **2011**; 164(4): 447-55
107. Stow LR, Gumz ML, Lynch IJ, Greenlee MM, Rudin A, Cain BD, Wingo CS. Aldosterone modulates steroid receptor binding to the endothelin-1 gene (*edn1*). *J Biol Chem* **2009**; 284: 30087-30096
108. Sung CP, Arleth AJ, Storer BL, Ohlstein EH. Angiotensin type 1 receptors mediate smooth muscle proliferation and endothelin biosynthesis in rat vascular smooth muscle. *J Pharmacol Exp Ther* **1994**; 271: 429-37
109. Sutherland DJ, Ruse JL, Laidlaw JC. Hypertension, increased aldosterone secretion and low plasma renin activity relieved by dexamethasone. *Can Med Assoc J*. **1966**; 95(22): 1109-19
110. Tomaschitz A, Pilz S. Aldosterone to renin ratio--a reliable screening tool for primary aldosteronism? *Horm Metab Res* **2010**; 42(6): 382-91
111. Touyz RM, Schiffrin EL. Role of endothelin in human hypertension. *Can J Physiol Pharmacol* **2003**; 81(6): 533-41
112. Veglio F, Melchio R, Rabbia F, Chiandussi L. Plasma immunoreactive endothelin-1 in primary hyperaldosteronism. *Am J Hypertens* **1994**; 7: 559-61

113. Vogt S, Winkler E, Hermsen D, Schott M, Schinner S, Scherbaum WA, Willenberg HS. Endothelin-1 and Adrenomedullin Plasma Levels After Exposure to Fludrocortisone, Dexamethasone, and Spironolactone. *Clin Exp Hypertens* **2012**; 34(8): 582-7
114. Watschinger B, Arbeiter K, Auer J, Drexel H, Eber B, Fasching P, Grüner P, Hohenstein K, Koppelstätter C, Lang W, Mayer G, Perl S, Pciler M, Pilz H, Rieder A, Rosenkranz AR, Schernthaner G, Slany J, Stefenelli T, Steiner S, Weber T; Wenzel RR, Zwerker R. Klassifikation, Diagnostik und Therapie der arteriellen Hypertonie 2013: Empfehlungen der österreichischen Gesellschaft für Hypertensiologie (ÖGH). *Journal für Hypertonie- Austrian Journal of Hypertension* **2013**; 17(3), 99-108
115. Willenberg HS, Gruber M, Eisenhofer G, Bornstein SR. [Endocrine hypertension: new aspects and developments]. *Dtsch Med Wochenschr* **2012**; 137(13): 627-30
116. Willenberg HS, Kolentini C, Quinkler M, Cupisti K, Krausch M, Schott M, Scherbaum WA. The sodium to urinary sodium to (potassium)<sup>2</sup> to urinary potassium (SUSPPUP) ratio in primary aldosteronism. *Eur J Clin Invest* **2009**; 39: 43–50
117. Willenberg HS, Schinner S, Ansurudeen I. New mechanisms to control aldosterone synthesis. *Horm Metab Res* **2008**; 40: 435–441
118. Yamaguchi T, Baba K, Doi Y, Yano K. Effect of adrenomedullin on aldosterone secretion by dispersed rat adrenal zona glomerulosa cells. *Life Sci* **1995**; 56: 379-87
119. Yamaguchi T, Baba K, Doi Y, Yano K, Kitamura K, Eto T. Inhibition of aldosterone production by adrenomedullin, a hypotensive peptide, in the rat. *Hypertension* **1996**; 28: 308-14
120. Yanagisawa M, Kurihara H, Kimura S, Tomobe Y, Kobayashi M, Mitsui Y, Yazaki Y, Goto K, Masaki T. A novel potent vasoconstrictor peptide produced by vascular endothelial cells. *Nature* **1988**; 333: 411-5
121. Yanagisawa M, Masaki T. Molecular biology and biochemistry of the endothelins. *Trends Pharmacol Sci* **1989**; 10: 374-8
122. Yoshimoto R, Mitsui-Saito M, Ozaki H, Karaki H. Effects of adrenomedullin and calcitonin gene-related peptide on contractions of the rat aorta and porcine coronary artery. *Br J Pharmacol* **1998**; 123: 1645-54
123. Zeng ZP, Naruse M, Guan BJ, Naruse K, Sun ML, Zang MF, Demura H, Shi YF. Endothelin stimulates aldosterone secretion in vitro from normal adrenocortical tissue, but not adenoma tissue, in primary aldosteronism. *J Clin Endocrinol Metab* **1992**; 74: 874-8



124. Zeng Z, Tang X, Yang D, Li H, Zhang R, Zeng Q, Li M, Chen J, Lu Z, Demura H, Naruse M, Shi Y. Immunoreactive endothelin-1 and its receptors in human adrenal tissues. *J Cardiovasc Pharmacol* **1998**; 31(1): 212-4