



TECHNISCHE UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Fakultät für Medizin

II. Medizinischen Klinik und Poliklinik
der Technischen Universität München, Abteilung für Nephrologie,
Klinikum rechts der Isar
(Leitung: Prof. Dr. Dr. h.c. Uwe Heemann)

Magnesium und Gefäßsteifheit bei Hämodialysepatienten

Julia Anna Apfelböck

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität München zur Erlangung des akademischen Grades eines

Doktors der Medizin

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. Ernst J. Rummeny

Prüfer der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Dr. Marcus Baumann
2. Prof. Dr. Dr. h.c. Uwe Heemann

Die Dissertation wurde am 11.04.2017 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 08.11.2017 angenommen.

Meinen Eltern Martin und Petra
In Liebe und Dankbarkeit

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	3
Tabellenverzeichnis	6
Abbildungsverzeichnis	7
Abkürzungsverzeichnis	9
1. Einleitung	12
1.1 Magnesium und Mortalität	12
1.2 Physiologie und Pathophysiologie im Magnesium-Kalzium-Haushalt	14
1.2.1 Magnesium	14
1.2.1.1 Gesamtmagnesium und Bedeutung des ionisierten Magnesiums	14
1.2.1.2 Involvierung von Magnesium im humanen Stoffwechsel	16
1.2.1.3 Regulation der Magnesium-Homöostase	17
1.2.1.4 Magnesium bei chronischer Niereninsuffizienz	19
1.2.2 Kalzium	20
1.2.2.1 Gesamtkalzium und Bedeutung des ionisierten Kalziums	20
1.2.2.2 Regulation der Kalzium-Homöostase	22
1.2.2.3 Funktionen von intrazellulärem Kalzium	22
1.2.2.4 Interaktion von Calcitriol, Parathormon und Phosphat	23
1.3 Vaskuläre Kalzifikation bei terminaler Niereninsuffizienz	24
1.3.1 Aspekte zur Arterio- und Mediasklerose	24
1.3.2 Mechanismen der Gefäßverkalkung	26

1.3.2.1	Response-to-injury-Hypothese	26
1.3.2.2	Osteogene Transdifferenzierung glatter Gefäßmuskelzellen	27
1.3.2.3	Verkalkungsinhibitoren und -promotoren bei chronischer Niereninsuffizienz	28
1.4	Stoffwechselfathologien bei terminaler Niereninsuffizienz ..	29
2.	Fragestellung	33
3.	Material und Methoden	34
3.1	Patientenkollektiv und Vorgehensweise	34
3.2	Statistische Auswertung	35
3.3	Messung der ionisierten Serumwerte von Kalzium und Magnesium	35
3.3.1	Blutgasanalysegerät CRT 8 Nova Biomedical.....	35
3.3.2	Serum-Verdünnungsmethode	38
3.3.3	Validität der Serumverdünnung	41
3.3.4	Messung der Patientenseren	43
3.4	Pulswellenanalyse	44
3.4.1	Blutdruck-Monitor-System Mobil-O-Graph I.E.M	44
3.4.2	Evidenz der Pulswellenanalyse	45
3.4.3	Parameter der arteriellen Gefäßsteifheit	46
3.4.3.1	Zentraler Blutdruck	46
3.4.3.2	Aortale Pulswellengeschwindigkeit	47
3.4.3.3	Pulsdruck	49
4.	Ergebnisse	50
4.1	Charakterisierung des Patientenkollektivs	50

4.2	Messwerte der Hämodynamik und der arteriellen Gefäßsteifheit	53
4.3	Messwerte von ionisiertem Magnesium und Kalzium im Serum	56
4.3.1	Ionisiertes Magnesium	56
4.3.2	Ionisiertes Kalzium	57
4.3.3	Kalzium-Magnesium-Ratio	59
4.4	Bivariate Korrelationsanalysen	59
4.4.1	Korrelation von ionisiertem Magnesium und arterieller Gefäßsteifheit	60
4.4.2	Korrelation von ionisiertem Kalzium und arterieller Gefäßsteifheit	62
4.4.3	Korrelation der Kalzium-Magnesium-Ratio und der arteriellen Gefäßsteifheit	63
5.	Diskussion	68
6.	Zusammenfassung	81
7.	Limitationen	84
8.	Ausblick	85
9.	Anhang	86
9.1	Ein- und Ausschlusskriterien der Isar-Studie.....	86
9.2	Technische Daten des Gerätes Mobil-O-Graph I.E.M.....	87
9.3	Herstellerangaben zum Blutgasanalysegerät CRT 8.....	88
9.4	Vorveröffentlichungen	89
10.	Literaturverzeichnis	90
11.	Danksagung	106

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1a:	Ergebnisse des Verdünnungsexperiments: nicht pH-normierte ionisierte Serumwerte	40
Tabelle 1b:	Ergebnisse des Verdünnungsexperiments: pH-normierte ionisierte Serumwerte	40
Tabelle 1c:	Ergebnisse des Verdünnungsexperiments: pH-Werte der Serumproben	41
Tabelle 2:	Deskriptive Daten zur Kohorte	50
Tabelle 3:	Übersicht der 24-Stunden-Messwerte der Hämodynamik und der arteriellen Gefäßsteifheit	53
Tabelle 4:	Ionisiertes Magnesium	56
Tabelle 5:	Ionisiertes Kalzium	57
Tabelle 6:	Kalzium-Magnesium-Ratio (pH-normiert und nicht pH-normiert)	59
Tabelle 7:	Korrelation von ionisiertem Magnesium und den Gefäßsteifheitswerten	60
Tabelle 8:	Korrelation von peripherem Pulsdruck und ionisiertem Magnesium	61
Tabelle 9:	Korrelation von ionisiertem Kalzium und den Gefäßsteifheitswerten	62
Tabelle 10:	Korrelation der Kalzium-Magnesium-Ratio und der Gefäßsteifheitswerten	63
Tabelle 11:	Technische Daten des Gerätes Mobil-O-Graph	87
Tabelle 12:	Herstellerangaben zum Blutgasanalysegerät CRT 8	88

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1:	Anteile des Gesamtmagnesiums	16
Abbildung 2:	Anteile des Gesamtkalziums	21
Abbildung 3:	Blutgasanalysegerät Modell CRT 8 Nova Biomedical ..	37
Abbildung 4:	Versuchsaufbau	39
Abbildung 5a:	Mobil-O-Graph - Ansicht seitlich	44
Abbildung 5b:	Mobil-O-Graph - Ansicht von oben	44
Abbildung 6:	Aortale Pulswelle mit Pulswellenreflexion	48
Abbildung 7:	Geschlechteranteile (in Prozent)	50
Abbildung 8:	Altersstruktur (in Jahren)	51
Abbildung 9:	Häufigkeit der Begleiterkrankungen (in Prozent)	52
Abbildung 10:	24-Stunden-Pulsdruck (in mmHg)	54
Abbildung 11:	Verteilung der 24-Stunden-Pulsdruckwerte (in mmHg)	54
Abbildung 12:	24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit (in m/s)	55
Abbildung 13:	Verteilung der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit (in m/s)	55
Abbildung 14:	Histogramm: ionisiertes Magnesium (nicht pH-normiert)	56
Abbildung 15:	Histogramm: ionisiertes Magnesium (pH-normiert) ...	57
Abbildung 16:	Histogramm: ionisiertes Kalzium (nicht pH-normiert)	58
Abbildung 17:	Histogramm: ionisiertes Kalzium (pH-normiert)	58
Abbildung 18:	Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks mit ionisiertem nicht pH-normiertem Magnesium	61

Abbildung 19:	Korrelation von peripherem systolischem Blutdruck und der pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ...	64
Abbildung 20:	Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks und der pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio	65
Abbildung 21:	Korrelation der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit und der pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio	65
Abbildung 22:	Korrelation von peripherem systolischem Blutdruck und der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio	66
Abbildung 23:	Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks und der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio	66
Abbildung 24:	Korrelation der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit und der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio	67
Abbildung 25:	Beispielhafte Darstellung einer Pulswellenanalyse	87

Abkürzungsverzeichnis

AGE	Advanced Glycation Endproducts
A.	Arteria
BGA	Blutgasanalyse
BMI	Body Mass Index
BMP (2/7)	Bone morphogenetic protein (2/7)
BP	Blutdruck (blood pressure)
Ca/Mg-Ratio	Kalzium-Magnesium-Ratio
cAMP	Zyklisches Adenosinmonophosphat
CPP	Kalzium-Phosphat-Produkt
CRP	C-reaktives Protein
°C	Grad Celsius
DAG	1,2-Diacylglycerin
D.m.	Diabetes mellitus
EBPG	European Best Practice Guidelines
EGF	Epidermal growth factor
FGF 23	Fibroblast growth factor 23
ESRD	End-Stage Renal Disease
ESH	European Society of Hypertension
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
g/dl	Gramm/ Deziliter
HDL	High density lipoprotein
HPT	Sekundärer Hyperparathyreoidismus
(i)Ca	Ionisiertes Kalzium
(i)Mg	Ionisiertes Magnesium
IMT	Intima-Media-Dicke (intima media thickness)
IP3	Inositoltriphosphat

iPTH	Intaktes Parathormon
Kalzium-ATPase	Kalzium-Adenosintriphosphatase
K/DOQI	Clinical Practice Guidelines for Bone Metabolism and Disease in Chronic Kidney Disease
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
KHK	Koronare Herzkrankheit
Kv1.1	Spannungsabhängiger Kalium-Kanal Typ Kv1.1
MGP	Matrix-Gla-Protein
mg/dl	Milligramm/Deziliter
mmol/l	Millimol/Liter
mg	Milligramm
ml/min	Milliliter/Minute
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
μl	Mikroliter
μmol/l	Mikromol /Liter
m/s	Meter/sec.
Mg	Ionisiertes Magnesium
MW	Mittelwert
N	Anzahl
n	PH-Wert normiert
NaPi3-Transporter	Natrium-Phosphat-Symportcarrier
OPN	Osteopontin
pg/ml	Pikogramm / Milliliter
%	Prozent
p	Signifikanz
pSBP	Peripherer systolischer Blutdruck
pDBP	Peripherer diastolischer Blutdruck
pPP	Peripherer Pulsdruck

pAVK	Periphere arterielle Verschlusskrankheit
PBS	Phosphatgepufferte Salzlösung
Pro-EGF	Pro-epidermal growth factor
PTH	Parathormon
PTHrP	Parathormon-related Protein
PP	Pulsdruck (pulse pressure)
PUC-MGP	Phospho-uncarboxylated-Matrix-Gla-Protein
(a)PWV	(aortale) Pulswellengeschwindigkeit (pulse wave velocity)
r	Korrelationskoeffizient nach Pearson
RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
Runx2	Runt-related transcription factor 2
SD	Standardabweichung
SPSS	Statistik-Software von IBM Statistics
TNF-alpha	Tumornekrosefaktor-alpha
TRPV	Transient receptor potential cation channels (Vanilloid)
TRPM	Transient receptor potential ion channels (Melastatin)
VSMC	Vascular smooth muscle cells (glatte Gefäßmuskelzellen)
zSBP	Zentraler systolischer Blutdruck
zDBP	Zentraler diastolischer Blutdruck

1. Einleitung

1.1 **Magnesium und Mortalität**

Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz haben eine hohe kardiovaskuläre Morbidität. Dem kardiovaskulären Risiko der Dialysepatienten liegen Begleiterkrankungen und ausgeprägte Stoffwechsellentgleisungen zugrunde. Neben der Akkumulation von Urämietoxinen liegen fortwährende Veränderungen im Elektrolyt-, Wasser- und Säure-Basen-Haushalt vor. Die Mineralpufferkapazität des Knochens ist häufig beeinträchtigt. Der Knochenstoffwechsel kann gesteigert oder vermindert sein und steht mit der beschleunigten Gefäßverkalkung in Zusammenhang. Kardiovaskuläre Ereignisse führen bei diesen Patienten im Vergleich zur Normalbevölkerung signifikant häufiger zum Tod (Kanbay 2012). Der renale Funktionsverlust ist prädestinierend für das Voranschreiten der Arterio- und Mediasklerose. Veränderungen an den Gefäßen sind nach aktuellem Wissensstand komplexe, aktiv regulierte Prozesse. Neuere Untersuchungen ergeben Hinweise, dass Magnesium eine Rolle in der Mortalität der Dialysepatienten spielen könnte. Laut den Ergebnissen von Kanbay et al. (2012) zeigen chronisch niereninsuffiziente Patienten mit Gesamtmagnesiumspiegeln unter 2,05 mg/dl eine signifikant höhere kardiovaskuläre Mortalität. Ishimura et al. (2007) berichten, dass niedrige Serum-magnesiumspiegel signifikante Prädiktoren für eine erhöhte Gesamtmortalität bei Hämodialysepatienten sind. Bei nierentransplantierten Patienten wurde das Serum-magnesium als unabhängiger Prädiktor für arterielle Gefäßsteifheit erklärt (Van Laecke 2011). In Studien zu Phosphatbindern hat sich eine Kombination aus Magnesiumkarbonat und Kalziumazetat als phosphatsenkend und gut verträglich erwiesen (Hutchison 2012). Zu Beginn der Dialysepflicht besteht mit rund 30 Prozent eine hohe Inzidenz an Diabetikern (Potthoff 2015). Eine Hypomagnesiämie konnte als unabhängiger Prädiktor für das Auftreten von Diabetes mellitus nach

erfolgreicher Nierentransplantation bestimmt werden (Van Laecke 2009). Es wird diskutiert, ob ein Magnesiummangel die Entstehung einer Insulinresistenz begünstigt (Geiger 2013). Die vaskuläre Kalzifizierung bei Typ 2 Diabetikern geht häufig mit erhöhten Schichtdicken der Intima und Media einher (Ishiyama 2009). Eine Magnesium-Substitution wirkt sich positiv auf die Kalzifikation dieser Gefäßschichten aus (Turgut 2008). Etwa jeder zweite Dialysepatient weist trotz adäquater Therapie hypertone Blutdruckwerte auf (Geberth 2014, 146-173). Die orale Substitution von Magnesium konnte beispielsweise den Blutdruck an einem Kollektiv von Diabetikern nachweislich senken (Guerrero-Romero 2009). Laut Meema et al. (1987) könnte eine Hypermagnesiämie bei terminaler Niereninsuffizienz den Prozess der Arterienverkalkung verzögern. Eine häufige Begleiterscheinung bei Hämodialysepatienten ist die Verkalkung des Mitralklappenrings. Niedrigere Serummagnesiumspiegel waren mit einer stärkeren Mitralklappenverkalkung verbunden (Tzanakis 1997). Magnesium spielt auch in Bezug auf die renale Osteopathie eine Rolle. So kann die Sekretion des Parathormons, neben der Kalzium-, auch durch die Magnesiumkonzentration im Serum beeinflusst werden (Vetter 2002). Die Hälfte aller chronisch niereninsuffizienten Patienten ist an einer „low-turnover-Osteopathie“ mit reduzierter Mineralpufferkapazität erkrankt (Herold 2015, 648-651). In verschiedenen Untersuchungen konnten inverse Korrelationen zwischen Magnesium- und PTH-Spiegeln festgestellt werden (Navarro 1999). Der sog. Kalzium-Sensing-Rezeptor, welcher in den Zellen der Nebenschilddrüsen und der Nierentubuli exprimiert wird, spricht auf Magnesium an (Vetter 2002). Bei der Transdifferenzierung glatter Muskelzellen im Rahmen der Mediasklerose wurde der Ionenkanal TRPM 7 identifiziert (Montezano 2010). Die TRP-Ionenkanäle haben eine Bedeutung in der Pathogenese der arteriellen Hypertonie (Firth 2007). Cunha et al. (2012), sowie Altura et al. (1994), beschreiben die Interaktion von Magnesium und Kalzium bezogen auf Hypertension, Atherosklerose und Diabetes mellitus. Durch intra- und

extrazelluläres Magnesium und Kalzium werden Vorgänge wie Vasokonstriktion, Endothelfunktion und Thrombozytenaggregation beeinflusst (Cunha 2012). Auf molekularer Ebene der Kalziumkarbonatbildung findet eine Interaktion von Magnesium und Kalzium mit verschiedenen Aminosäuren statt (Wang 2009).

1.2 Physiologie und Pathophysiologie im Magnesium-Kalzium-Haushalt

1.2.1 Magnesium

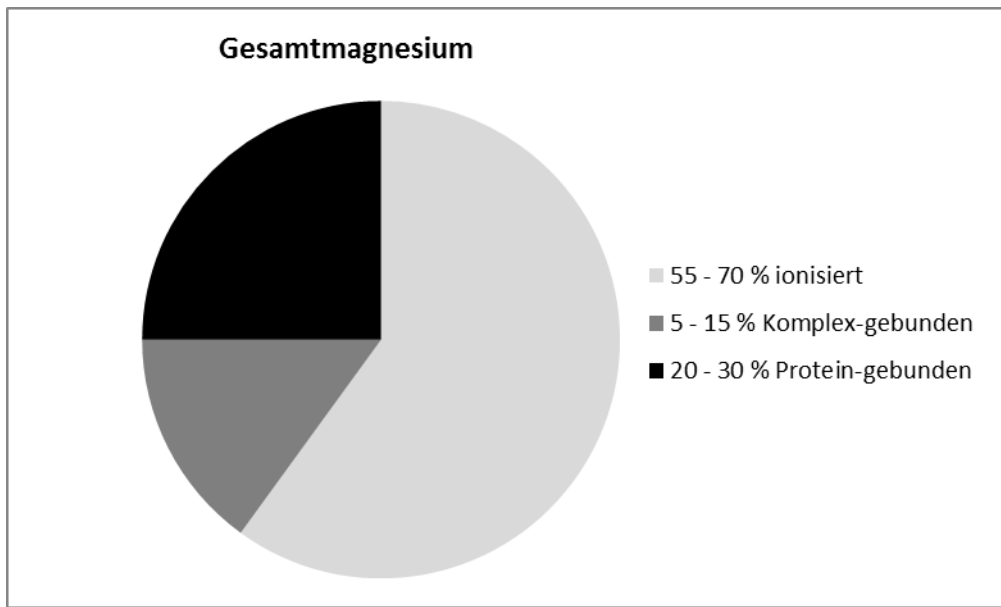
1.2.1.1 Gesamtmagnesium und Bedeutung des ionisierten Magnesium

Physiologische Serumwerte an Gesamtmagnesium liegen zwischen 0,75 und 1,05 mmol/l (Herold 2015, 584-587). Für ionisiertes Magnesium werden bei Erwachsenen Werte zwischen 0,55 und 0,75 mmol/l als Normbereich angegeben (Maj-Zurawska 1994, Jahnen-Dechent 2012). Ein weiterer Autor gibt einen Referenzbereich für ionisiertes Magnesium von 0,53 bis 0,67 mmol/l (Altura 1990) an. Der Tagesbedarf eines Erwachsenen liegt bei etwa 360 mg bis 480 mg pro Tag (entspricht 15-20 mmol) (Herold 2015, 584-587). Magnesium liegt im Körper zu 99 % in gespeicherter Form vor. Davon befinden sich 60 % im Knochen-, 30 % im Muskel- und 10 % im Weichgewebe. Nur 1 % des Körperbestandes befindet sich im Blutplasma. Dabei sind im Serum ca. 20 - 30 % des Magnesiums hauptsächlich an das Protein Albumin gebunden, während weitere 55 - 70 % in biologisch aktiver, ionisierter Form vorliegen (Herold 2015, 584-587, Altura 1990, Grzegorzewska 1999, Jahnen-Dechent 2012). Ein weiterer Anteil von bis zu 15 % ist an anionische Liganden, wie Laktat, Phosphat, Bikarbonat, Sulfat und Zitrat gebunden. Die ionisierten und Anionen-gebundenen Zustandsformen sind renal filtrierbar (Grzegorzewska 1999).

Protein-gebundenes Magnesium gilt hingegen als glomerulär unfiltrierbar (Grzegorzewska 1999). Klinisch bedeutsam ist weiterhin, dass der Gesamtmagnesiumspiegel nicht sicher mit dem Wert für ionisiertes Magnesium korreliert. Bei einem Albumin-Mangel erniedrigt sich das Gesamtmagnesium, während das ionisierte Magnesium nicht sinkt (Uniklinik Ulm 2011). Jedoch kann durch Alkalisierung die Aktivität von ionisiertem Magnesium vermindert werden. Ionisiertes Magnesium kann insofern als klinisch relevanter angesehen werden. Indikationen für die Bestimmung des Serum-magnesiums sind unter anderem Herzrhythmusstörungen, Niereninsuffizienz, Hypokalzämie, Malabsorption, Diuretika und neuromuskuläre Übererregbarkeit. Für die Zellfunktionen ist möglicherweise das Verhältnis von ionisiertem Magnesium zu ionisiertem Kalzium bedeutend (Cunha 2012, Altura 1994.) Bei azidotischer Stoffwechsellage erhöht sich der Ionisierungsgrad des Magnesiums (Uniklinik Ulm 2011). Dieser Effekt ist dadurch bedingt, dass Protonen mit ionisiertem Magnesium um die Bindung an Proteine und anionische Liganden konkurrieren. Bei einer Alkalose hingegen steigt die Proteinbindung, während die Konzentration des freien, ionisierten Magnesiums sinkt (Uniklinik Ulm 2011). Bei einem durchschnittlichen Zellgehalt von 5-20 mmol/l beträgt der ionisierte Anteil im Zytosol 1-5 % und ist abhängig von der Zellart (Jahnen-Dechent 2012). Intrazellulär ist das zweithäufigste Kation zu 65-95 % an energiereiche Phosphate, wie Adenosin-triphosphat, sowie an Nukleotide und Enzyme gebunden. Es wird angenommen, dass Magnesium über einen energieabhängigen Mechanismus in die Zelle gelangt. Die Zelle gilt als Reservoir für schnell verfügbares Magnesium. Die Magnesiumspeicher im Knochengewebe können nur wesentlich langsamer mobilisiert werden (Fauci 2009). Der Gehalt im Knochen gilt als bester Indikator der Magnesiumspeicher (Spiegel 2011). Der Körpergehalt kann auf weniger als 20 % der Norm fallen, während der Serumspiegel durch renale Regulation konstant gehalten werden soll (Grzegorzewska 1999).

Die folgende Abbildung veranschaulicht die verschiedenen Anteile des Gesamtmagnesiums.

Abbildung 1: Anteile des Gesamtmagnesiums



In Anlehnung an: Jahnen-Dechent 2012.

1.2.1.2 Involvierung von Magnesium im humanen Stoffwechsel

Speziell ionisiertes Magnesium ist aktiver Kofaktor für zahlreiche enzymatische Prozesse (Jahnen-Dechent 2012). Beispielsweise werden durch Magnesium Aminopeptidasen, Dipeptidasen, Phosphatasen und Glukokinasen aktiviert. Außerdem ist die Aktivität des Enzyms Natrium-Kalium-ATPase abhängig vom Magnesiumvorkommen. Als natürlicher Antagonist des Kalziums hat es Einfluss auf Vasoreagibilität, Signaltransduktion, neurale Exzitabilität, Kontraktilität und den Tonus von glatten Gefäßmuskelzellen (Cunha 2012). Im Fall einer Hypomagnesiämie steigt die Permeabilität der Zellmembranen für Natrium-, Kalium- und Kalziumionen. Es kommt dadurch zu einem intrazellulären

Kalziumanstieg. Eine Hypomagnesiämie kann außerdem ursächlich für eine Hypokalzämie sein (Neumeister 2008, 258-259). Eine leicht ausgeprägte Hypomagnesiämie stimuliert, wie eine Hypokalzämie, die Parathormonsekretion. Eine starke Hypomagnesiämie reduziert die Parathormonsekretion (Herold, 2008, 766-767, Uniklinik Ulm 2011). Magnesium wirkt protektiv gegen Schäden durch freie Radikale an Endothelzellen (Zheltovaa 2016). Stark erniedrigte Magnesiumspiegel werden mit hohen Spiegeln an C-reaktivem Protein in Verbindung gebracht. Magnesium spielt auch eine Rolle im Lipidstoffwechsel (Zheltovaa 2016). Es gibt außerdem Hinweise, dass die orale Substitution von Magnesium die Insulinresistenz verbessert (Mooren 2011).

1.2.1.3 Regulation der Magnesium-Homöostase

Neben der intestinalen Resorption trägt die Nierenfunktion entscheidend zur Regulierung des Serumspiegels bei. Rund 80 % des Gesamtmagnesiums im Serum werden renal filtriert. Bei erniedrigter Serumkonzentration wird konsekutiv die renale Exkretion gesenkt und die Resorption in der Henle-Schleife der Niere gesteigert. Die fraktionelle Magnesium-Exkretion, die bei Gesunden zwischen 3 % und 5 % Prozent liegt, kann bei negativer Bilanz unter 0,5 % sinken (Jahnen-Dechent 2012). Magnesium wird zu 70 % im dicken aufsteigenden Schenkel der Henle-Schleife passiv parazellulär rückresorbiert. Nur rund 25 % des ultrafiltrierbaren Magnesiums werden im proximalen Tubulus resorbiert. Der restliche Anteil der Rückresorption entfällt auf den distalen Tubulus (Quamme 1997, Al-Ghamdi 1994). Zudem tragen zwei Tight-junction-Proteine, Claudin 16 und 19, zur selektiven parazellulären Magnesium-Rückresorption bei (Simon 1999, Konrad 2006). Es wird vermutet, dass diese Proteine einerseits direkt als Kanal für divalente Kationen fungieren und andererseits indirekt über eine erleichterte Natrium-Rückresorption die Magnesium-Resorption unterstützen (Will 2010). Der Weg der basolateralen

Ausschleussung der Magnesiumionen im distalen Konvolut der Niere ist noch nicht bekannt (Schlingmann 2005). Zur Aufrechterhaltung der Magnesium-Homöostase ist jedoch zunächst eine unbeeinträchtigte intestinale Resorption notwendig. Laut den Untersuchungen von Schlingmann et al. (2005) gibt es im Bürstensaum des Dünndarms einen passiven parazellulären Transport, der linear zur intraluminalen Konzentration ansteigt. Bei einer niedrigen intraluminalen Konzentration erfolgt ein sättigbarer, aktiver transzellulärer Transport durch den Ionenkanal TRPM6 (Schlingmann 2005). Dabei bildet TRPM6 mit der Transportstruktur TRPM7 einen Heterotetramer-Komplex, der eine aktive Magnesium-Passage ermöglicht (Schlingmann 2005). Der TRPM6-Kanal wird unter anderem von der diätetischen Magnesiumzufuhr, Östrogenen und dem Säure-Basen-Haushalt reguliert (Nijenhuis 2006, Groenestegge 2006). Der Wachstumsfaktor EGF stimuliert indirekt die Aktivität und Expression von TRPM6 (Thebault 2009). Auch in glatten Gefäßmuskelzellen und Endothelzellen wurde die Expression von TRP-Kanälen beobachtet (Touyz 2008). Eine Aktivitätsminderung des TRPM7-Kanals führt zu reduziertem Magnesium-einstrom (Touyz 2008, Schlingmann 2005). Moduliert wird die Expression von TRPM7 durch Angiotensin II, Endothelin-1, Bradykinin, Aldosteron und mechanische Faktoren wie Scherstress, Dehnung und Druck auf die Zelle (Touyz 2008). Außerdem führen einige Genmutationen zu einem Ungleichgewicht im Magnesium-Kalzium-Haushalt. Dazu gehören Mutationen folgender Gene: Paracellin-1, Kalzium-Sensing-Rezeptor, TRPM6 (Walder 2002), Pro-EGF (Groenestegge 2007), CNNM 2 (Goytain 2005), FXD2-Gen (Yu 2015), Kv1.1 (Glaudemans 2009), SeSAME (Scholl 2009), sowie die Syndrome „Gitelman“ und „Bartter“ (Yu 2015). Defekte im Paracellin 1-Protein der Henle-Schleife führen zum kombinierten Kalzium- und Magnesiumverlust (Herold 2015, 584-587). Medikamente, wie beispielsweise Schleifendiuretika, Protonenpumpenhemmer, Calcineurininhibitoren, Thiazide, Aminoglykoside, Cisplatin und Ciclosporin A bewirken ebenso einen Magnesiumverlust (Florentin 2012,

Jahnen-Dechent 2012). Amilorid hingegen fördert den Magnesiumtransport (Yu 2015). Auch eine Hyperkalzämie oder Hypervolämie erhöht die Magnesium-Exkretion (Fauci 2009). Umgekehrt hemmen ein Mangel an Kalzium, Magnesium und Volumen die Ausscheidung von Magnesium (Silbernagl 2007, 180-181). Ein erhöhtes Serumkalzium inhibiert durch die Aktivierung des Kalzium-Sensing-Rezeptors, des dicken aufsteigenden Schenkels der Henle-Schleife, die Magnesium-Reabsorption (Fauci 2009).

1.2.1.4 Magnesium bei chronischer Niereninsuffizienz

Bei unzureichender Nierenfunktion ist die Magnesium-Ausscheidung stark eingeschränkt und kann zu bedrohlichen Hypermagnesiämien führen. Die klinischen Symptome bei Hypermagnesiämie treten vor allem in Kombination mit Hypokalzämien oder Hyperkaliämien auf. Zur Symptomatik der Hypermagnesiämie gehören Muskelschwäche, PQ-Zeit-Verlängerung und QRS-Verbreiterung im Elektrokardiogramm, Parästhesien, eine Hypoventilation, sowie Somnolenz, bis hin zu komatösen Zuständen (Herold 2015, 584-587). Bei einer Gesamtmagnesiumkonzentration von 2,5 mmol/l tritt ein Atemstillstand ein (Uniklinik Ulm 2011). Wenn man von einer unbeeinträchtigten intestinalen Resorption ausgeht, wird in den Stadien 1 bis 3 der chronischen Niereninsuffizienz die fraktionelle Exkretion von Magnesium soweit als nötig erhöht (Geiger 2013). Bei fortgeschrittener Niereninsuffizienz ist dieser Mechanismus erschöpft und es kommt zum Magnesiumüberschuss (Geiger 2013). Analysen ergeben, dass ab einer Kreatinin-Clearance von weniger als 30 ml/min/1,73 m² Körperoberfläche ein hohes Risiko für eine Hypermagnesiämie besteht (Grzegorzewska 1999). Eine Hypermagnesiämie vermindert in der Henle-Schleife der Niere, neben der Magnesiumresorption, auch den Transport für Kalzium. In Bezug auf die chronische Niereninsuffizienz ist interessant, dass eine Phosphatdepletion, eine metabolische Azidose, sowie eine Hypokaliämie,

über noch ungeklärte Mechanismen, die Magnesium-Rückresorption in der Henle-Schleife inhibieren (Yu 2015). Eine metabolische Alkalose begünstigt die Magnesium-Rückresorption (Yu 2015). Symptome bei einer Hypomagnesiämie sind Extrasystolie, Parästhesien, Magnesiummangeltetanie, sowie ST-Senkungen, T-Abflachung und QT-Verlängerung im Elektrokardiogramm.

1.2.2 Kalzium

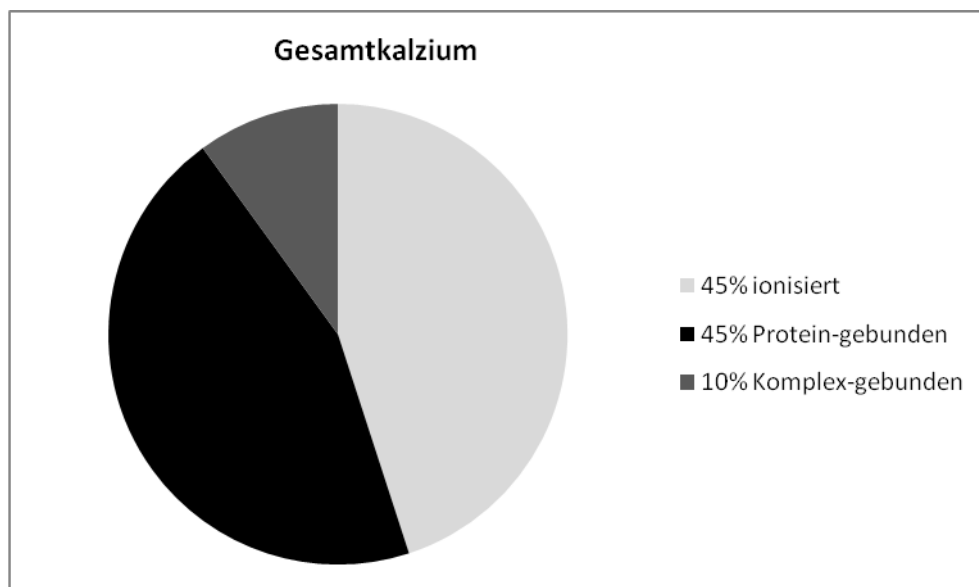
1.2.2.1 Gesamtkalzium und Bedeutung des ionisierten Kalziums

Normwertige Gesamtkalziumspiegel liegen bei 2,2 - 2,65 mmol/l im Serum (Herold 2015, 766-767). Bei einer Dysproteinämie muss das Gesamtkalzium durch eine Formel korrigiert werden. Dabei verursacht ein Abfall des Albumins um 1 g/dl eine Erniedrigung des Gesamtkalziums um ca. 0,25 mmol/l (Herold 2015, 766-767). Das ionisierte Kalzium beträgt zwischen 1,1 und 1,3 mmol/l im Serum (Herold 2015, 766-767). Bei pH-Korrektur auf einen Wert von 7,4 wird ein Referenzbereich für ionisiertes Kalzium von 1,15 - 1,32 mmol/l angegeben (Neumeister 2008). Rund 45 % des Gesamtkalziums sind an Plasmaproteine gebunden (36 % Albumin, 9 % Globulin) und somit nicht glomerulär filtrierbar (Herold 2015, 766-767, Jahn-Dechent 2012, Silbernagl 2007, 292-295). Weitere zehn Prozent sind an diffusible, anionische Moleküle wie Zitrat, Laktat, Bikarbonat, Phosphat und Sulfat gebunden (Jahn-Dechent 2012, Hogan 2015). Der Anteil der Proteinbindung von Kalziumionen wird bei alkalischem pH-Wert erhöht, weil dann an den Proteinen Bindungsstellen für Kalziumionen entstehen (Silbernagl 2007, 292-295). Bei azidotischer Stoffwechsellage nimmt der ionisierte Kalziumanteil um etwa 0,21 mmol/l pro pH-Einheit zu (Silbernagl 2007, 292-295). Somit verändert sich die Konzentration an ionisiertem Kalzium, ähnlich wie bei ionisiertem Magnesium, abhängig vom momentanen Säure-

Basen-Gleichgewicht. Ionisiertes Kalzium verändert sich bei pathologischen Stoffwechselsituationen prinzipiell gleichermaßen wie das Gesamtkalzium, jedoch mit einer höheren Spezifität und Sensitivität (Neumeister 2008, Charité Berlin 2011). Zur Erfassung der tatsächlichen Kalziumsituation ist die Bestimmung von ionisiertem Kalzium unter anderem indiziert bei: Massentransfusionen, Azidose oder Alkalose, Hypoproteinämie bei Neu- und Frühgeborenen, Dysproteinämie mit Gesamtproteinwerten von unter 6,0 g/dl oder über 8,5 g/dl, kardialen Zwischenfällen während der Hämodialyse, sowie leichtgradigem Hyperparathyreoidismus (Neumeister 2008, Charité Berlin 2011).

Es folgt eine Graphik zur Zusammensetzung des Gesamtkalziums.

Abbildung 2: Anteile des Gesamtkalziums



In Anlehnung an: Herold 2015, 766-767.

1.2.2.2 Regulation der Kalzium - Homöostase

Kalzium wird in der Niere zu 70 % passiv parazellulär im proximalen Tubulus, zu 20 % in der Henle-Schleife und zu 10-15 % aktiv transzellulär, über apikale TRPV5 Kanäle im distalen Konvolut, resorbiert (Hogan 2015). Die fraktionelle Exkretion des Kalziums beträgt zwischen 0,5 % und 3 % und wird bei einer Azidose gesteigert (Silbernagl 2007, 180-181). Im aufsteigenden Teil der Henle-Schleife dient sowohl ein lumenpositives transepitheliales Potenzial, als auch das Protein Claudin-16, der Kalzium-Resorption (Hogan 2015). Schleifendiuretika hemmen die Kalzium-Resorption, während das Parathormon stimulierend wirkt. Ionisierte Kalziumwerte unter 1,25 mmol/l stimulieren die PTH-Sekretion (Herold 2015, 766-767). Der durchschnittliche Tagesbedarf an Kalzium eines gesunden Erwachsenen liegt bei 1000 mg, wobei davon tatsächlich zwischen 100 und 200 mg aufgenommen werden (Herold 2015, 766-767, Hogan 2015). Kalzium wird im oberen Dünndarm transzellulär, sowie im gesamten Darm parazellulär absorbiert. Bei vorübergehender Hypokalzämie dient der Knochen als schnelles Reservoir für ionisiertes Kalzium. Jedoch sollte ein Kalziumdefizit langfristig mit einer gesteigerten gastrointestinalen Aufnahme gedeckt werden.

1.2.2.3 Funktionen von intrazellulärem Kalzium

Die zytosolische Kalziumkonzentration liegt zwischen 0,1 - 0,01 $\mu\text{mol/l}$. Sie ist abhängig von der Freisetzung aus intrazellulären Speichern, wie Mitochondrien und endoplasmatischem Retikulum, sowie vom Einstrom aus dem Extrazellularraum (Silbernagl 2007, 36-37). An der Zellmembran werden die Kalziumkanäle einerseits durch intrazelluläre Signalstoffe wie cAMP und IP3 geöffnet, andererseits führt eine Zelldepolarisation oder eine Bindung von äußeren Liganden über sog. G₀-Proteine zur Öffnung der Kalziumkanäle. Auch

eine Dehnung der Zellmembran führt zum Kalziumeinstrom in die Zelle. Zellfunktionen, die durch die Erhöhung von intrazellulärem Kalzium bewerkstelligt werden, betreffen die Hormon- und Neurotransmitter-Exozytose, die Membranpermeabilität für Elektrolyte, die Thrombozytenfunktion, sowie die Migration von Leukozyten und Tumorzellen (Cui 2017). Der Kalzium-Calmodulin-Komplex bewerkstelligt die Tonuserhöhung in glatten Muskelzellen. Dabei stellen die Konzentrationsschwankungen von intrazellulärem Kalzium das entscheidende Signal für die zellulären Mechanismen dar (Silbernagl 2007, 36-37).

1.2.2.4 Interaktion von Calcitriol, Parathormon und Phosphat

Bei chronischem Vitamin D3-Mangel kommt es aufgrund kompensatorisch hoher PTH-Spiegel zur Osteomalazie (Eller 2014). Eine Übertherapie mit Vitamin D3 hat ebenso eine entkalkende Wirkung auf den Knochen. Aktives Vitamin D3 fördert die Knochenmineralisation durch enterale Resorption von Kalzium und Phosphat, mit paralleler Senkung der renalen Kalzium- und Phosphatausscheidung (Eller 2014). Eine Azidose bewirkt zur Protonenausscheidung eine Phosphaturie. Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz weisen erhöhte FGF-23 Spiegel auf, welche zudem eine Phosphaturie fördern (Eller 2014). Die fraktionelle Exkretion von Phosphat schwankt zwischen 5 % und 20 % und dient der Bilanzierung von Phosphat, Protonen und Kalzium. Der Resorptionsort von Phosphat ist der proximale Tubulus der Niere. Dort befindet sich zur Resorption ein Natrium-Phosphat-Symportcarrier. Mit Hilfe dieser Transportstruktur kann auf Veränderungen des pH-Wertes, sowie der PTH-, Phosphat- und Kalziumspiegel reagiert werden (Silbernagl 2007, 180-181). Bei einer Azidose, hohem PTH und Hypokalzämie wird der Transporter vermindert exprimiert und es kommt zur Phosphaturie. Umgekehrt wird der Natrium-Phosphat-Symportcarrier bei Hypophosphatämie, Alkalose, Hyperkalzämie und niedrigem

Parathormonspiegel vermehrt eingebaut. Ein erniedrigter Phosphatspiegel fördert die Calcitriol-Synthese (Eller 2014). Das Parathormon führt durch Stimulation der Osteoklasten zur Freisetzung von Kalzium und Phosphat aus dem Knochen. Eine Hypokalzämie steigert über das Parathormon die Phosphatausscheidung. Gleichzeitig hemmt das Parathormon die renale Phosphatresorption, um eine Ausfällung von Kalzium mit Phosphat im Gewebe zu verhindern (Silbernagl 2007, 292-295). Die PTH-Sekretion wird durch hohe Phosphatkonzentrationen bei Urämie gesteigert. Eine Hypophosphatämie führt zur Kalzium-Freisetzung aus dem Knochen.

1.3 Vaskuläre Kalzifikation bei terminaler Niereninsuffizienz

1.3.1 Aspekte zur Arterio- und Mediasklerose

Die stark beschleunigte Gefäßverkalkung führt zu einer massiven Morbidität der chronisch niereninsuffizienten Patienten. Die veränderte Vasoreagibilität spiegelt sich klinisch in erhöhten Blutdruckwerten wider. Die arterielle Hypertonie aggraviert im Sinne eines circulus vitiosus die Gefäßalterationen (Baulmann 2010). Kardiovaskuläre Ereignisse, aufgrund der Atherosklerose der koronaren, zerebralen und peripheren Gefäße, sind die führende Todesursache in den westlichen Industrienationen. Die sogenannte „Windkesselfunktion“ der gesunden, elastischen Aorta wird maßgeblich durch die erhöhte arterielle Gefäßsteifheit beeinträchtigt (Weber 2010). Ein steigender aortaler Pulsdruck bedeutet eine Nachlasterrhöhung mit Linksherzhypertrophie und gestörter Myokardperfusion in der Diastole. Die Folgeerkrankung ist die ischämisch bedingte Herzinsuffizienz. Vor allem in den Endorganen, Gehirn und Niere, schaden die verstärkten Pulsationen der Mikrozirkulation. Es kommt zur zunehmenden Verschlechterung einer Niereninsuffizienz, sowie zu Apoplexen und Demenz (O'Rourke 2007, Weber 2009). Dabei ist eine verminderte

Kreatinin-Clearance, sowie eine Albuminurie eindeutig mit einer erhöhten Gefäßrigidität verknüpft (Hermans 2007). Neben den klassischen kardiovaskulären Risikofaktoren, kommt es durch die Dialysebehandlung per se zu einer exponentiellen Zunahme des Verkalkungsprozesses (London 2000). Bekannt ist auch, dass es nach Durchführung einer Nierentransplantation nicht zum Sistieren der Gefäßverkalkungen kommt - vor allem wenn die Transplantatfunktion keine optimalen Werte erreicht (Krüger 2013). Klinisch stumme zerebrale Infarkte konnten, ähnlich wie die Intima-Media-Dicke der Arteria carotis, als unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse und die Gesamtmortalität von chronischen Hämodialysepatienten deklariert werden (Sato 2012). Läsionen der zerebralen Substantia alba waren bei Niereninsuffizienten mit Albuminurie deutlich ausgeprägter, als bei Patienten ohne Albuminurie (Wada 2008). Arterielle und venöse Gefäßalterationen in der Retina korrelieren eng mit den einzelnen Stadien der Niereninsuffizienz. Im Stadium 5 der chronischen Niereninsuffizienz waren dementsprechende Veränderungen bei Diabetikern eindrücklicher, als bei Nichtdiabetikern (Ooi 2011). In Autopsien fand man in über 90 % schwerkranker, niereninsuffizienter Patienten eine erhöhte Intima-Media-Dicke (Guérin 2000, Nakano 2010). In der Immunhistochemie wird die Neuorganisation von glatten Gefäßmuskelzellen in der Media zusammen mit matrixähnlicher Substanz erkennbar (Moe 2005). Im Rahmen der Atherosklerose ist vordergründig die intimale Gefäßschicht mit Plaquebildung, Lipidansammlungen und Entzündungsreaktionen betroffen. Die Veränderungen der Media werden mit zunehmender Gefäßsteifheit und systolischer Hypertension in Verbindung gebracht (Krüger 2013). Daneben gibt es weitere phänotypische Varianten, wie die venöse Kalzifikation (Sigg 1976) und die Intimafibrose (Thomas 2006). Für die Mikrozirkulation ist vor allem die Arteriolosklerose bedeutend. Pathogenetisch liegt hier eine Endotheldysfunktion zugrunde. Die seltene Kalziphylaxie, die bei nierentransplantierten Patienten und Dialysepatienten auftritt, führt zu

schmerzhaften dermalen Ulzerationen. Die Ätiologie ist bisher nicht vollständig geklärt. Ein erhöhtes Kalzium-Phosphat-Produkt wird damit assoziiert (Herold 2015, 648-51). Die sogenannte Mediasklerose geht auf den Erstbeschreiber Mönckeberg im Jahr 1903 zurück (Füessl 1985). Sie entwickelt sich zum einen idiopathisch und zum anderen bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz und Diabetes mellitus (Sucker 2000, Giachelli 2004). Bei der Mediasklerose findet die Einlagerung von Kalzium per Definition nur in der medialen Gefäßschicht statt und kann spangenförmige Muster in nativen Röntgenaufnahmen bilden (Sucker 2000). Bei fehlender Lumenreduktion bleibt die Mediasklerose unter Ruhebindungen möglicherweise klinisch stumm. In Kombination mit atherosklerotischen Gefäßschädigungen kommt es zu Perfusionsstörungen und verstärkten Pulsationen in der Mikrozirkulation (Sucker 2000). Bisher ist nicht bekannt, inwiefern die Mediasklerose unmittelbar mit arteriosklerotischen Gefäßveränderungen im Zusammenhang steht. Dabei können die Athero- und Mediasklerose isoliert oder kombiniert auftreten (Giachelli 2004, Massy 2012). Die Arteriosklerose ist im Vergleich zur Mediasklerose in einem Verhältnis von 200:1 weitaus häufiger (Sucker 2000).

1.3.2 Mechanismen der Gefäßverkalkung

1.3.2.1 Response-to-injury-Hypothese

Zu den Mechanismen der vaskulären Kalzifizierung existieren mehrere Theorien. Die seit längerem bekannte Response-to-injury-Hypothese, welche im Grunde die Atherombildung beschreibt, setzt eine endotheliale Dysfunktion verbunden mit einer lokalen Inflammation voraus. Die dabei entstehenden „Schaumzellen“ formieren sich zu fibrösen Plaques. Diese verkalkenden, ulzerierenden Läsionen neigen zur Thrombosierung (Böcker 2008). Oxidierte Lipide, verschiedene Zytokine und apoptotische Vorgänge führen zur Irreversibilität der Herde (Eller

2014, Luft 2010). Es wird vermutet, dass die Intimakalzifikation sekundär nach den Kalzifikationen von atherosklerotischen Plaques voranschreitet (Eller 2014, Sucker 2000). Es kommt zur Einlagerung von Kalzium in Form von Hydroxylapatit. Pasch et al. (2013) betrachtet die Interaktion von Kalzium und Phosphat bei jeglicher Mineralisierung als entscheidenden Endpunkt.

1.3.2.2 Osteogene Transdifferenzierung glatter Gefäßmuskelzellen

Nach aktuellen Erkenntnissen handelt es sich um einen aktiv regulierten Prozess. Dabei trägt ein komplexes Zusammenspiel von verschiedenen Zelltypen, sowie lokalen und systemischen Komponenten im Blut und der Gefäßwand, zur Progression der Gefäßverkalkung bei. Die Ablagerung von Hydroxylapatit-Kristallen in der Media induziert in glatten Gefäßmuskelzellen die Genexpression für osteochondrogene Programme (Pasch 2013). In vitro konnte das Potential zur osteogenen Transdifferenzierung durch hohe Phosphat- und Kalziumspiegel bewiesen werden (Krüger 2013). Die transformierten Zellen sezernieren Matrixvesikel und werden apoptotisch. Es kommt zur Bildung von sogenannten Kristallisationskernen und dadurch zu manifesten Kalkablagerungen (Shroff 2013, Schlieper 2010). Die osteoblasten-ähnlichen Zellen produzieren zudem Kollagen Typ 1 (Andrianarivo 1992). Es wird vermutet, dass diese Zellen aus einer mesenchymalen Subpopulation der Intima stammen (Watson 1994).

1.3.2.3 Verkalkungsinhibitoren und -promotoren bei chronischer Niereninsuffizienz

Neben einem Ungleichgewicht im Kalzium-Phosphat-Haushalt wird dem fibroblast-growth-faktor 23 eine Schlüsselrolle zugeschrieben. Ein Anstieg der FGF 23 Spiegel lässt sich bereits ab einer chronischen Niereninsuffizienz im Stadium 3 beobachten (Eller 2014, Wolf 2012). FGF 23 verursacht die Inhibition des Enzyms 1-alpha-Hydroxylase in der Niere. Dadurch wird die Synthese von aktivem Vitamin D3 beeinträchtigt, das Serumkalzium fällt folglich ab. Wenn der Kalzium-Sensing-Rezeptor der Nebenschilddrüsenzellen die Hypokalzämie registriert, steigen Synthese und Sekretion des Parathormons. Dieser Mechanismus führt zur Entwicklung eines sekundären Hyperparathyreoidismus. Das Parathormon führt zur Freisetzung von Kalzium aus dem Knochen und einer verstärkten renalen Kalziumresorption. In kapillären Perizyten induzieren Advanced Glycation Endproducts (AGE) die Akkumulation von Kalzium (Yamagishi 1999). Als Marker für kardiovaskuläres Risiko besitzt Fetuin-A eine inhibitorische Wirkung auf die vaskuläre Kalzifikation. Es gilt als potentestes verkalkungshemmendes Serumprotein (Pasch 2013). Fetuin-A wird durch die inflammatorische Akute-Phase-Reaktion herabreguliert. Ein Fetuin-A-Mangel wird vor allem mit der kardiovaskulären Mortalität von Dialysepatienten in Verbindung gebracht (Ketteler 2003). Es wird in der Leber synthetisiert und entfaltet seine Wirkung in den sog. Kalziproteinpartikeln (Pasch 2013). Bei nachweisbarer Mediasklerose bei Diabetikern mit pAVK waren die Fetuin-A-Spiegel niedriger, als bei Kontrollpatienten ohne Hinweise auf eine Mediasklerose (Lorant 2011). In der Mediasklerose wurde zudem das Matrix-Gla-Protein als Inhibitor entdeckt (Schlieper 2010). Es ist nur in Vitamin-K abhängiger, carboxylierter Form wirksam (Westenfeld 2012). In einem Modell mit Matrix-Gla-Protein-defizienten Ratten konnte die osteogene Transdifferenzierung glatter Muskelzellen vermehrt beobachtet werden (Speer 2009). Hämodialysepatienten hatten extrem niedrige Plasmaspiegel von sog.

PUC-Matrix-Gla-Protein. PUC-Matrix-Gla-Protein besitzt eine hohe Affinität für Hydroxylapatit und kann in verkalkten Gefäßwänden detektiert werden (Vermeer 2008). Ein weiterer möglicher Inhibitor der Gefäßverkalkung sind Pyrophosphate. In Tiermodellen hemmt Pyrophosphat aus glatten Gefäßmuskelzellen die Hydroxylapatit-Bildung (Krüger 2013, Shroff 2013). Bei Inkubation glatter Gefäßmuskelzellen in urämischen Seren, fand eine Expression der Kalzifikations-Promotoren BMP2 und Runx2 statt (Shroff 2013). Aktuell wird diskutiert, welche Bedeutung Magnesium als natürlicher Kalziumantagonist in den Mechanismen der arteriellen Gefäßverkalkung hat (Massy 2012).

1.4 Stoffwechselfathologien bei terminaler Niereninsuffizienz

Im Stadium der terminalen Niereninsuffizienz treten konservativ nicht beherrschbare Komplikationen der Urämie auf. Es kommt zu Entgleisungen im Elektrolyt-, Wasser- und Säure-Basen-Haushalt und zur Akkumulation toxischer Stoffwechselmetaboliten. Die Volumenschwankungen, die sich klinisch in einer intradialytischen Hypotonie, sowie einer Hypertonie im dialysefreien Intervall äußern, führen zu einer erheblichen Belastung des kardiovaskulären Systems der Patienten. Zur Erhöhung des kardiovaskulären Risikos tragen auch der abnorme Lipidstatus und der erhöhte Homozysteinspiegel bei (Parfrey 1999, Vanholder 2003). Bereits zu Dialysebeginn weisen bis zu 74 % der Patienten echokardiographisch eine linksventrikuläre Hypertrophie auf (Foley 1995). Die arterielle Hypertonie, sowie die häufig vorliegende renale Anämie, begünstigen die Progression einer Herzinsuffizienz (Parfrey 1999). Eine optimale Therapie der Anämie bei chronischer Niereninsuffizienz gehört zu den Zielen der Arbeitsgruppe für Anämie der European Renal Best Practice (Locatelli 2009). Die Urämie per se induziert zusammen mit dem renal bedingten, sekundären Hyperparathyreoidismus, eine Fibrosierung des Myokards (Edwards 2015, Eller 2014). Die arterielle Hypertonie kann zum einen als essentielle Hypertonie

vorbestehen, zum anderen kommt es therapiebedingt zur Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (Voroneanu 2009). Es liegt eine erhöhte Sympathikusaktivität mit einem konsekutiven Überwiegen von Vasokonstriktoren vor. Laut der KDIGO ist eines der zentralen Ziele eine bessere Kontrolle der Hyperphosphatämie und somit auch eine Reduktion des kardiovaskulären Risikos (Ketteler 2016). Phosphatwerte über 6,5 mg/dl waren bei Hämodialysepatienten eindeutig mit einer erhöhten Mortalität assoziiert (Qunibi 2004). Laut den exemplarischen Untersuchungen von Jehle et al. wurde der Phosphat-Zielwert von maximal 1,49 mmol/l bei 39,2 % von 125 untersuchten Hämodialysepatienten eingehalten (Potthoff 2015, Jehle 2013). Extreme Spiegel an intaktem Parathormon sind prädiktiv für eine erhöhte Mortalität und sollen vermieden werden (Vermeer 2008, Ketteler 2016). Ab einem Kreatinin-Wert von 2 mg/dl entwickeln 30 % der Patienten Anzeichen für einen sekundären Hyperparathyreoidismus (Herold 2015, 648-651). Der sekundäre Hyperparathyreoidismus wird durch ein vermindertes ionisiertes Kalzium induziert. Das Parathormon wird zudem als mittelgroßes Urämietoxin angehäuft (Vanholder 2008). Das Risiko von Hyperkalzämien ist für Patienten mit einer adynamen Knochenerkrankung sehr hoch. Zu den klinischen Urämiezeichen gehören auch der erhöhte oxidative Stress, sowie der Proteinkatabolismus. Dabei ist eine Hypalbuminämie deutlich mit einer erhöhten Mortalität verbunden (Vanholder 2008). Es kommt zur Albuminfragmentation, Freisetzung proinflammatorischer Zytokine und dialysebedingten Aminosäureverlusten. Die Prävalenz der Eiweißmangelernährung unter Dialysepatienten befindet sich im Durchschnitt bei 40 % (Marcén 1997). Den Patienten wird empfohlen, biologisch hochwertiges Eiweiß zu sich zu nehmen (Geberth 2014, 278-289). Chronisch niereninsuffiziente Patienten leiden jedoch häufig unter gastrointestinalen Beschwerden. Unter einer bedrohlichen Malnutrition leiden, laut einer Studie mit über 7000 Dialysepatienten, bis zu 36 % (Aparicio 1999, Fouque 2007). Das

Risiko einer Malnutrition beginnt bereits ab GFR-Werten von 15-20 ml/min/1,73 m². Die Gesamtzufuhr von elementarem Kalzium sollte inklusive kalziumhaltiger Phosphatbinder zwischen mindestens 500 und maximal 2000 mg pro Tag betragen (Geberth 2014, 278-289). Kalziumhaltige Phosphatbinder stellen mengenmäßig eine hohe Zufuhr an elementarem Kalzium dar. Die Kalziumkonzentration im Dialysat beeinflusst maßgeblich den Blutdruck während der Dialyse. Die Dialysat-Kalziumkonzentration ist oftmals höher, als die Konzentration des ionisierten Kalziums im Serum. Eine chronische Kalziumüberladung wird mit den ausgeprägten Weichgewebsverkalkungen der Hämodialysepatienten assoziiert (Locatelli 2015). Bei dialysepflichtigen Patienten hängt das Serummagnesium neben der oralen Zufuhr von der Magnesium-Konzentration im Dialysat ab (Cunnigham 2012). Die klinische Bedeutung des Dialysat-Magnesiums wird kontrovers diskutiert (Locatelli 2015). Aufgrund der renalen Elimination des Magnesiums, sollte bei Dialysepatienten eine positive Magnesium-Bilanz zu erwarten sein. Vermutlich nehmen diese Patienten jedoch nutritiv weniger Magnesium auf (Geberth 2014, 40-44). Bei den meisten Patienten liegt eine hyperkaliämie, metabolische Azidose vor. Ab einer GFR von 50 ml/min/1,73 m² ist die renale Kapazität zur Ausscheidung von Säuren stark eingeschränkt. Organische Säuren, wie Urat und Sulfat, werden zunehmend retiniert. Die klinische Bedeutung der Azidosekorrektur ist für die Mortalität der Patienten immens. Prädialytische Bikarbonatwerte von weniger als 18 mmol/l sind mit einer hohen Mortalität verbunden (Shah 2009). Studienergebnisse berichten von positiven Auswirkungen auf den Muskelstoffwechsel durch höhere Plasma-Bikarbonat-Werte (Geberth 2014, 40-44). Auch der Knochenstoffwechsel profitiert von der Behandlung der Azidose. Eine Folge der chronischen metabolischen Azidose ist die Progression des Proteinkatabolismus (Herold 2015, 638-647). Zu den akuten Problemen während der Dialyse-Behandlung gehört eine intradialytische Hypertonie. Neben der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems, kann ein

Natrium- und Volumenexzess, der Anstieg des intrazellulären Kalziums, die Verabreichung von Erythropoetin und die vermehrte Freisetzung von vasokonstriktorisches Metaboliten, eine akute Hypertension auslösen. Akut erniedrigte Blutdruckwerte entstehen im Fall einer diastolischen Dysfunktion, Arrhythmien wie Vorhofflimmern und akut lebensbedrohlichen Komplikationen, wie einer Luftembolie, einem tamponierenden Perikarderguss oder einem akuten Myokardinfarkt. Häufige Beschwerden der Dialysepatienten sind Muskelkrämpfe bei Hyponatriämie oder Hypomagnesiämie. Urämischer Pruritus ist mit einem erhöhten Kalzium-Phosphat-Produkt, Anämie und hohen Beta-2-Mikroglobulinspiegeln assoziiert.

2. Fragestellung

Bisher werden Magnesiumspiegel in der klinischen Praxis nicht routinemäßig gemessen. Das Augenmerk liegt vor allem auf dem ionisierten Magnesium. Diese renal ultrafiltrierbare Elektrolytform gilt als biologisch aktiv. Das ionisierte Magnesium ist eine sensitivere Messgröße zur Beurteilung des Magnesium-Status bei Dysproteinämien und Störungen im Säure-Basen-Haushalt. Niedrige Gesamtmagnesiumspiegel wurden mit einer erhöhten Mortalität von Hämodialysepatienten assoziiert. Als natürlicher Antagonist des Kalziums sollte die Rolle des Magnesiums in der vaskulären Kalzifikation näher untersucht werden. Es stellt sich die Frage, inwiefern ein Zusammenhang zwischen den ionisierten Magnesiumspiegeln und der arteriellen Gefäßsteifheit gegeben ist. In dieser Dissertation wird, nach Bestimmung der ionisierten Serumwerte für Magnesium und Kalzium untersucht, ob statistisch erhebbare Zusammenhänge mit den Parametern der arteriellen Gefäßsteifheit bestehen. Die Serumwerte wurden mit einer speziellen ionenselektiven Elektrode gemessen. Anschließend wurden diese mit den Gefäßsteifheitswerten der Patienten korreliert.

3. Material und Methoden

3.1 Patientenkollektiv und Vorgehensweise

Die Patientinnen und Patienten sind ein Teilkollektiv der ISAR-Studie der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik des Klinikums rechts der Isar München. Für die Studie lag ein positives Ethikvotum vor. Die erforderliche mündliche und schriftliche Aufklärung der Patientinnen und Patienten, über Maßnahmen und Risiken der Studie, wurde durchgeführt. Die Rohdaten der Blutdruckmessungen und der Anamnesen lagen zu Beginn meiner Arbeit bereits vor. Je Patient gab es ein Routinelabor. Die Hämodynamik- und Gefäßsteifheitswerte wurden mit dem Blutdruck-Monitor-System Mobil-O-Graph des Herstellers I.E.M. Deutschland ermittelt. Die Aufzeichnung der ambulanten Blutdruckmessungen begann unmittelbar vor der Dialysebehandlung. Es wurden die Blutdruckwerte während der Behandlung aufgezeichnet. Die Blutentnahmen fanden, entsprechend dem Studienprotokoll, zu Beginn der Dialysebehandlung statt. Laut Protokoll durfte die Kühlkette für die Blutproben nicht unterbrochen werden. An der Entnahme der Blutproben am Patienten, sowie an der Herstellung der Seren per Zentrifugation, war ich persönlich nicht beteiligt. Die Serumproben wurden gesammelt und bei minus 80 °C in Eppendorfgläsern tiefgekühlt. Die Proben für meine Untersuchungen wurden von April 2010 bis April 2012 in Münchner Dialysezentren gewonnen. Zur Erhebung der ionisierten Magnesium- und Kalziumwerte führte ich Messungen an einem speziellen Blutgasanalysegerät mit ionenselektiver Elektrode des Herstellers Nova Biomedical (Waltham, MA, USA) durch. Das für meine Messungen erforderliche Serumvolumen durfte ich aus dem erstellten Vorrat entnehmen. Die erhobenen Serumwerte für ionisiertes Magnesium und Kalzium wurden, zusammen mit den vorliegenden Hämodynamikwerten, statistisch ausgewertet. Angaben zu den Ein- und Ausschlusskriterien der Studie befinden sich im Anhang.

3.2 Statistische Auswertung

Die erhobenen Daten wurden in einer Excel-Tabelle (Microsoft Excel für Windows, Version 2012) gesammelt. Zur statistischen Auswertung wurde SPSS, Version 20, von IBM (Chicago, IL, USA) verwendet. Anhand der SPSS Software wurden quantitative und qualitative Merkmale der Kohorte ausgewertet. Relevante Parameter wurden auf Normalverteilung untersucht. Um die ionisierten Magnesium- und Kalziumwerte auf statistische Zusammenhänge mit den Gefäßsteifheitswerten zu überprüfen, wurden bivariate Korrelationsanalysen durchgeführt. Aufgrund der Normalverteilung der ionisierten Elektrolytwerte wurde die Korrelationsmethode nach Pearson verwendet. Die verwendeten Streudiagramme dienen vorwiegend der graphischen Darstellung statistisch signifikanter Korrelationen. Die statistische Signifikanz wurde mit dem p-Wert und dem Korrelationskoeffizienten r nach Pearson angegeben.

3.3 Messung der ionisierten Serumwerte von Kalzium und Magnesium

3.3.1 Blutgasanalysegerät CRT 8 Nova Biomedical

Die Messung der Serumwerte für ionisiertes Magnesium und Kalzium erfolgte mit einer ionenselektiven Elektrode. Verwendet wurde dazu das Gerät CRT 8 des Herstellers Nova Biomedical (Waltham, MA, USA). Als Probenmaterial kann an diesem Gerät Serum, Plasma oder Vollblut verwendet werden. Für eine Messung mit dem Modell CRT 8 wird ein Probenvolumen von mindestens 180 μl benötigt. Laut Herstellerangaben ist auch eine Messung von vorverdünntem Probenmaterial möglich. Aufgrund des hohen wissenschaftlichen Wertes der Serumproben für die gesamte Studie, wurde versucht, ein möglichst geringes Serumvolumen für die Versuche zu entnehmen. Wissend, dass die Messung von verdünnten Proben theoretisch problemlos möglich ist, habe ich die

Auswirkungen einer Serumverdünnung getestet und die Ergebnisse auf ihre Validität geprüft. Die Serumproben sollten laut Nova Biomedical durch eine sorgfältige Zentrifugation gewonnen werden. Beim Abpipettieren des Serums soll darauf geachtet werden, dass keine Zellbestandteile überführt werden. Eine Hämolyse ergibt falsch hohe Magnesiumkonzentrationen, da Erythrozyten ein Vielfaches des Serummagnesiums enthalten. Erforderlich ist außerdem eine gute Durchmischung des Probenmaterials, um Präzipitationen zu vermeiden. Laut Herstellerangaben sind Serumproben für maximal 48 Stunden bei 2 bis 8 °C haltbar. Danach müssen sie bei mindestens minus 20 °C eingefroren werden. Die Lagerungstemperatur unserer Proben lag bei minus 80 °C. Das Probenmaterial der Wahl ist unmittelbar anaerob gewonnenes Vollblut. Luftkontakt sollte vermieden werden, um eine Entweichung des Kohlenstoffdioxids zu verhindern. Bei Luftkontakt kann eine pH-Wert-Verschiebung stattfinden, die möglicherweise zu falsch niedrigen ionisierten Elektrolytwerten führt. Die Messung der Serumwerte erfolgt idealerweise innerhalb der nächsten 30 Minuten (Neumeister 2008, 231-233). Zum Ausgleich äußerer Einflüsse auf den pH-Wert der Seren wird eine sog. pH-Korrekturfunktion des Gerätes eingesetzt. Diese Funktion basiert auf der Siggaard-Andersen-Gleichung (Klotz 1999). Dabei ist der pH-Korrekturfaktor bei Neuwertigkeit der Elektroden ausreichend (Klotz 1999). Der Einfluss der Temperatur des Materials wird als sehr gering beschrieben (Klotz 1999). Aus diesem Grund wurde auf die Temperaturmessung der Serumproben verzichtet. Das Blutgasanalysegerät war während meiner Ausführungen auf der Dialysestation des Klinikums rechts der Isar positioniert. Technische Daten zum BGA-Gerät befinden sich im Anhang.

Abbildung 3: Blutgasanalysegerät Modell CRT 8 Nova Biomedical



Die rechnerische Bestimmung pH-normierter Werte für ionisiertes Magnesium und Kalzium, soll pH-Wert-Veränderungen durch äußere Einflüsse abschwächen (Neumeister 2008, 231-233, Charité Berlin 2011). Die pH-Normierung erfolgt mittels einer logarithmischen Formel. Für die gemessenen Serumwerte wird ein theoretischer pH-Wert von 7,4 angenommen.

Die vom Hersteller angegebene Formel für die pH-Wert-Normierung lautet:

$$\lg (\text{Ca}^{2+})_{\text{pH } 7,4} = \lg (\text{Ca}^{2+})_{\text{Probe}} - 0,24 \times (7,4 - X)$$

X = pH-Wert der Probe

$(\text{Ca}^{2+})_{\text{Probe}}$ = ionisierter Kalzium-Wert bei aktuell gemessenem pH-Wert

$(\text{Ca}^{2+})_{7,4}$ = errechneter ionisierter, pH-normierter Kalzium-Wert

Die Berechnung des pH-normierten Magnesiums erfolgt analog. Als Voraussetzungen zur Anwendung der Korrektur-Formel werden vom Hersteller eine normale Serum-Gesamtproteinkonzentration und ein pH-Wert des Materials zwischen 7,2 und 7,6 angegeben. Die pH-Korrektur ist dennoch in einem Bereich von 6,9 bis 8,0 möglich. Bekanntermaßen ist der Ionisierungsgrad

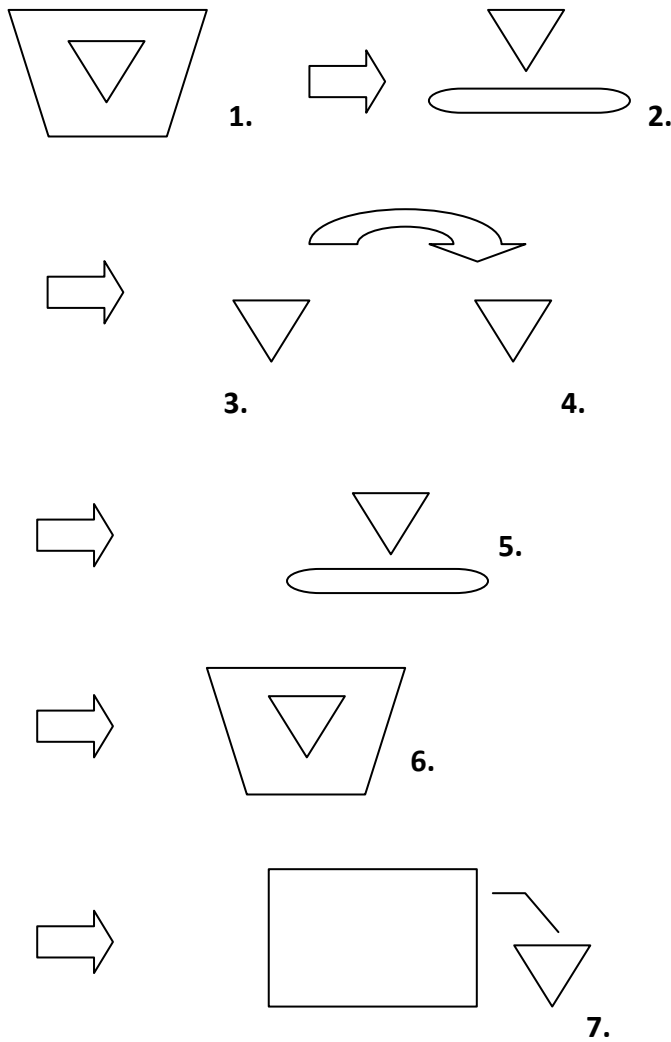
stark pH-abhängig. Je saurer der pH-Wert, desto höher sind die Ionisierungsgrade von Kalzium und Magnesium. Bei den Ergebnissen wird stets zwischen pH-normierten und nicht pH-normierten Serumwerten unterschieden.

3.3.2 Serum-Verdünnungsmethode

Zunächst wurden Verdünnungsexperimente mit phosphatgepufferter Salzlösung durchgeführt. Ein Vergleich der Elektrolytwerte mit den Ergebnissen eines weiteren Blutgasanalyse-Gerätes zeigte keine relevanten Abweichungen von den Messergebnissen mit dem Modell CRT 8. Die eigenhändige Pipettiertechnik wurde auf mögliche Fehlerquellen getestet. Bei sorgfältiger, korrekter Durchführung konnte ich keine Einflüsse aufgrund der Technik feststellen. Versuche zum Temperatureinfluss auf die Serumproben führte ich ebenfalls durch. Ein einmaliges Auftauen der Proben verursachte keine relevanten Veränderungen der Elektrolytkonzentrationen. Die pH-Werte der Seren wurden dabei geringfügig alkalischer, lagen aber in einem akzeptablen Bereich. Letztendlich konnte ich durch Verdünnung der Proben mit einer phosphatgepufferten Salzlösung (Hersteller Gibco, CA, USA) reproduzierbare Messwerte für ionisiertes Magnesium und Kalzium erzielen. Ich verwendete eine kalzium- und magnesiumfreie PBS-Lösung. Die Salzlösung hat laut Hersteller einen pH-Wert von 7,3 bis 7,5 und enthält physiologische Konzentrationen an Natrium und Kalium. Bei einem Test der PBS-Lösung an der ionenselektiven Elektrode des CRT 8 bestätigten sich die Herstellerangaben. Für eine Messung war ein Probenvolumen von 180 µl erforderlich. Eine Verdünnung im Verhältnis 1:3 zeigte systematisch reproduzierbare Messwerte. Zu 120 µl PBS-Lösung wurden 60 µl Serum hinzugegeben. Das Serum wurde mit einer 100 µl – Pipette des Herstellers Eppendorf (Hamburg, Deutschland) überführt. Zur Vorbereitung der Salzlösung diente ein 200 µl – Pipette desselben Herstellers.

Anhand einer Skizze werden die einzelnen Schritte der Probenaufbereitung bis zur Messung am Blutgasanalysegerät erläutert.

Abbildung 4: Versuchsaufbau



1. Auftauen der gefrorenen Proben im Eiswürfelbad
2. Auflösen von Präzipitationen mit einem Vortex-Mischer
3. Abpipettieren von 60 μl Serum mit einer 100 μl Pipette
4. Überführen der 60 μl Serum in ein vorbereitetes Eppendorfgefäß mit 120 μl PBS-Lösung
5. Mischen mittels Vortex
6. Lagerung im Eiswürfelbad
7. Messung der verdünnten Serumprobe

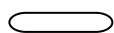
Wobei:



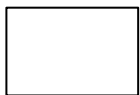
Eiswürfelbad



Eppendorfgefäß



Vortex-Mischer



Messgerät mit ionenselektiver Elektrode

Zur weiteren Verdeutlichung werden in den folgenden Tabellen die Originalergebnisse des Verdünnungsexperiments dargestellt. Es wurden zehn Stichproben aus dem Serumbestand für den Versuch verwendet.

**Tabelle 1a: Ergebnisse des Verdünnungsexperiments:
nicht pH-normierte ionisierte Serumwerte**

Probe	Mg verdünnt	Mg verdünnt x Faktor 3	Mg nativ	Ca verdünnt	Ca verdünnt x Faktor 2,5	Ca nativ
1	0,20	0,60	0,60	0,49	1,23	1,24
2	0,16	0,48	0,52	0,45	1,13	1,17
3	0,27	0,81	0,87	0,47	1,18	1,24
4	0,19	0,57	0,60	0,44	1,10	1,12
5	0,15	0,45	0,39	0,42	1,05	1,06
6	0,22	0,66	0,46	0,56	1,40	1,15
7	0,16	0,48	0,43	0,45	1,13	1,10
8	0,16	0,48	0,53	0,39	0,98	1,08
9	0,20	0,60	0,61	0,42	1,05	1,06
10	0,19	0,57	0,70	0,41	1,03	1,10

Mg = ionisiertes Magnesium, Ca = ionisiertes Kalzium;

**Tabelle 1b: Ergebnisse des Verdünnungsexperiments:
pH-Wert normierte ionisierte Serumwerte**

Probe	nMg verdünnt	nMg verdünnt x Faktor 3	nMg nativ	nCa verdünnt	nCa verdünnt x Faktor 2,5	nCa nativ
1	0,22	0,66	0,63	0,56	1,40	1,33
2	0,17	0,51	0,54	0,51	1,28	1,26
3	0,30	0,90	0,92	0,54	1,35	1,37
4	0,21	0,63	0,66	0,52	1,30	1,30
5	0,16	0,48	0,41	0,48	1,20	1,14
6	0,23	0,69	0,49	0,63	1,58	1,30
7	0,17	0,51	0,47	0,51	1,28	1,26
8	0,17	0,51	0,56	0,44	1,10	1,18
9	0,22	0,66	0,66	0,49	1,23	1,21
10	0,20	0,60	0,73	0,46	1,15	1,18

n = pH-normiert, Mg = ionisiertes Magnesium, Ca = ionisiertes Kalzium;

**Tabelle 1c: Ergebnisse des Verdünnungsexperiments:
pH-Werte der Serumproben**

Probe Nr.	pH-Wert verdünnt	pH-Wert nativ
1	7,67	7,54
2	7,65	7,55
3	7,72	7,60
4	7,80	7,70
5	7,68	7,55
6	7,61	7,64
7	7,63	7,67
8	7,66	7,57
9	7,75	7,66
10	7,65	7,54

3.3.3 Validität der Serumverdünnung

Bei Multiplikation der in den Verdünnungen gemessenen Magnesiumwerte mit dem Faktor 3 konnten reproduzierbare Ergebnisse für das ionisierte Magnesium gewonnen werden. Beim Vergleich der Rechenergebnisse mit den nativen Messwerten, erkennt man bei den nicht pH-normierten Werten einen Verdünnungsfehler für Magnesium von $\pm 0,06$ mmol/l. In den nicht pH-normierten Proben sind in fünf von zehn Proben die Magnesiumwerte aufgrund der Verdünnung geringfügig niedriger, als in den nativen, unverdünnten Proben. Probe Nr. 1 zeigt keine verdünnungsbedingte Abweichung des nicht pH-normierten Magnesiumwertes. Probe Nr. 6 stellt einen kompletten Ausreißer dar. Bei Probe Nr. 10 weichen der nicht pH-normierte und der pH-normierte Magnesiumwert jeweils um 0,13 mmol/l vom tatsächlichen Messwert ab. Diese Abweichungen werden ebenso als Ausreißer betrachtet. Bei den pH-normierten, verdünnten Magnesiumwerten liegen drei Werte höher, fünf Werte minim

niedriger, und ein Wert entspricht exakt dem Messwert der unverdünnten Probe. Die pH-normierten Werte können diesbezüglich als exakter bezeichnet werden. Eine Korrektur der Kalzium-Messwerte um den Faktor 3 würde die tatsächlichen, nativen Werte überschätzen. Für Kalzium wurde als optimaler Multiplikationsfaktor 2,5 verwendet, um möglichst geringe Abweichungen von den nativen Messwerten zu erzielen. Unabhängig von der pH-Normierung erreicht man für die Kalziumwerte mit 2,5 jeweils eine exaktere Annäherung an die nativen Werte. Es handelt sich um eine systematische Beobachtung. Die grundsätzlich unterschiedlich stark ausgeprägte Proteinbindung von Kalzium gegenüber Magnesium könnte dieses Phänomen erklären. Kalzium ist um 15 - 25 % stärker proteingebunden als Magnesium. Die verdünnungsbedingten Abweichungen für das nicht pH-normierte und das pH-normierte Kalzium lagen in einem Bereich von $\pm 0,08$ mmol/l. Bei Probe Nr. 8 weicht der nicht pH-normierte Kalziumwert um 0,10 mmol/l vom tatsächlichen Messwert ab. Laut dem Hersteller Nova Biomedical kann bei indirekter Messung, d.h. bei verdünnten Proben, eine Abweichung von 6 - 7 % des tatsächlich erwarteten Messergebnisses auftreten. Es konnten keine Trübungserscheinungen durch die Verdünnung beobachtet werden, was eine Eiweißausfällung bedeuten würden. Die pH-Wert-Veränderungen liegen in einem Bereich von maximal 0,13 Einheiten. Die geringfügige Alkalisierung der nativen Proben tritt nach dem Auftauen der Seren auf. Ein unvermeidbarer Luftkontakt bei der Präparation der Serumproben führt zusätzlich zu einer artifiziellen Alkalisierung der Seren. Die Zugabe der PBS-Lösung mit einem pH-Wert von 7,3 - 7,5 trägt zur Stabilisierung des nativen pH-Wertes bei. Die pH-Werte der verdünnten Seren lagen in einem für die pH-Normierung gültigen Bereich. Wenn man den von Nova Biomedical angegebenen Verdünnungsfehler von etwa 6 - 7 % des tatsächlichen Wertes berücksichtigt, sind die verdünnungsbedingten Abweichungen akzeptabel. Die pH-normierten Messwerte sind als korrekter zu betrachten, da sie im Vergleich zu den nicht pH-normierten Messwerten geringere Abweichungen von den

tatsächlichen, nativen Messwerten zeigen. Insgesamt ist eine Annäherung an die unverdünnten Werte mit konstanten Faktoren gleichermaßen möglich. Es handelt sich um systematisch reproduzierbare Werte.

3.3.4 Messung der Patientenserum

Vor jedem Messdurchgang wurde eine Kalibrierung des BGA-Gerätes durchgeführt. Auch eine Reinigung der Elektrodenadel, sowie eine Überprüfung der Gerätelösungen fanden statt. Es wurden je Durchgang maximal fünfzehn Proben langsam im Eiswürfelbad aufgetaut, um eine zügige Verarbeitung zu gewährleisten. Nach etwa drei Minuten waren die Proben in flüssiger Konsistenz und wurden zwei Sekunden mittels eines laborüblichen Vortex durchmischt, um Ablagerungen aufzulösen. Mit einer 100-Mikroliter-Pipette wurden 60 µl entnommen und zu 120 µl PBS-Lösung hinzugegeben. Die Probengefäße wurden sofort verschlossen. Die nativen Seren wurden wieder bei minus 80 °C tiefgekühlt. Die Eppendorfggefäße mit den verdünnten Seren wurden für einen Moment erneut auf den Vortex-Mischer gehalten und anschließend auf Eis gelagert. Nach Fertigstellung einer Probenreihe erfolgte die Messung an der ionenselektiven Elektrode. Gemäß Literaturempfehlung sollte die Messung innerhalb von 30 Minuten erfolgen. Diese Zeitspanne wurde für jeden Durchgang strikt eingehalten. Die Verarbeitung ist für alle Proben vergleichbar. Zwei Proben mit starker Trübung bzw. Rötung wurden nicht verwendet.

3.4 Pulswellenanalyse

3.4.1 Blutdruck-Monitor-System „Mobil-O-Graph“ I.E.M. Deutschland

Für die Langzeitmessungen wurde das Gerät Mobil-O-Graph des Herstellers I.E.M. (Stolberg, Deutschland) verwendet. Die nicht-invasive 24-Stunden-Blutdruckmessung erfordert die Anlage einer Blutdruckmanschette am Oberarm des Patienten. Es handelt sich um ein oszillometrisches Messverfahren. Mit der sogenannten HMS-Client-Server Software können Messwerte auf einen Computer übertragen und ausgewertet werden (Bedienungsanleitung Mobil-O-Graph). Mit diesem ambulanten Blutdruck-Monitor-System ist eine nicht-invasive Pulswellenanalyse möglich.

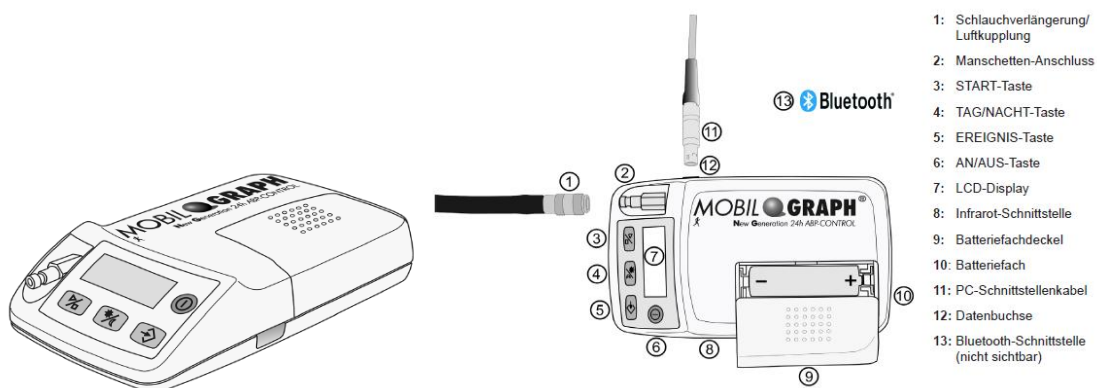


Abbildung 5a:
Mobil-O-Graph - Ansicht seitlich

Abbildung 5b:
Mobil-O-Graph - Ansicht von oben

Abbildung 5b zeigt die Funktionen des Gerätes. Das ambulante Blutdruck-Monitoring gilt als akzeptable Annäherung an den Goldstandard der nichtinvasiven Messung der Carotis-Femoralis-Pulswellengeschwindigkeit

(Wassertheurer 2010, Weiss 2012, Weber 2011, Mengden 2016, Baulmann 2008). Das Gerät Mobil-O-Graph gab folgende, für die Untersuchungen relevante, Herz-Kreislauf-Parameter aus: periphere und zentral-aortale Blutdruckwerte, peripherer und zentral-aortaler Pulsdruck, sowie die zentral-aortale Pulswellengeschwindigkeit. Die Messung und Berechnung der entsprechenden Parameter erfolgt auf Basis der oszillometrischen Aufzeichnung der arteriellen Druckkurve der Arteria brachialis. Nach der Blutdruckmessung wird zusätzlich eine Pulswellenanalyse durchgeführt, indem das Gerät nochmals auf den diastolischen Druck aufpumpt und erneut die Pulse aufzeichnet. Aus zehn gemessenen Pulswellen wird eine gefilterte, mittlere Pulsweite bestimmt und daraus die aortale Pulsweite berechnet (Bedienungsanleitung Mobil-O-Graph). Die Analyse erfolgte computergestützt. Die sog. ARC-Solver-Software erlaubt die Analyse oszillometrisch aufgezeichneter Pulskurven. Technische Daten und eine Abbildung zur Pulswellenanalyse befinden sich im Anhang.

3.4.2 Evidenz der Pulswellenanalyse

Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz ist die Pulswellenanalyse ein etabliertes Verfahren, um das kardiovaskuläre Mortalitätsrisiko einzuschätzen (Blacher 1999, Shoji 2001, Blacher 1998, Barenbrock 2002). Es existieren zahlreiche longitudinale Studien, die eine unabhängige prädiktive Wertigkeit der aortalen Pulswellengeschwindigkeit und des aortalen Pulsdrucks nachgewiesen haben. Blacher et al. (1999) deklarierten die aortale Pulswellengeschwindigkeit bei terminal niereninsuffizienten Patienten als unabhängigen Prädiktor der kardiovaskulären Mortalität. Shoji et al. (2001) deklarierten die aortale Pulswellengeschwindigkeit ebenso als Vorhersagewert für kardiovaskuläre Mortalität. Invasive Messungen der Pulsweite führten Blacher et al. (1998) und

Barenbrock et al. (2001) an der Aorta ascendens terminal niereninsuffizienter Patienten durch. Ausführliche Untersuchungen zur Wertigkeit der Pulswellenanalyse fanden außerdem an der Allgemeinbevölkerung (Shokawa 2005, Willum-Hansen 2006), an Patienten mit arterieller Hypertonie (Boutouyrie 2002, Laurent 2001, Laurent 2003) und im Rahmen der Rotterdam-Studie statt (Mattace-Raso 2006). Die Studien haben gezeigt, dass Pulswellenreflexionen bei terminal niereninsuffizienten Patienten ein unabhängiger Prädiktor für deren Mortalität sind (Weber 2011). Der zentrale Pulsdruck wurde 2002 von Safar et al. als unabhängiger prädiktiver Wert erklärt (Safar 2002).

3.4.3 Parameter der arteriellen Gefäßsteifheit

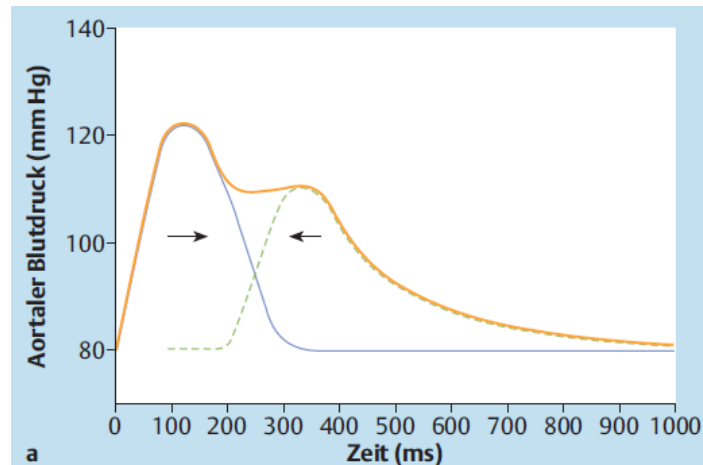
3.4.3.1 Zentraler Blutdruck

Der zentrale bzw. aortale Blutdruck beträgt durchschnittlich um 10 bis 15 mmHg weniger als der periphere, am Oberarm gemessene Blutdruck (Weber 2011). Die diastolischen Blutdruckwerte der Arteria brachialis und der Aorta entsprechen einander. Vor allem der zentrale Blutdruck ist stark altersabhängig, so dass er bezüglich des kardiovaskulären Risikos dem peripheren Blutdruck prognostisch überlegen ist. Medikamente, wie Blocker des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems und Kalzium-Antagonisten, senken den zentral-aortalen Blutdruck stärker, als klassische Antihypertensiva, wie Diuretika und Beta-Blocker (Baulmann 2010, Ong 2011, Mitchell 2007).

3.4.3.2 Aortale Pulswellengeschwindigkeit

Die Pulswellengeschwindigkeit zwischen Arteria carotis und Arteria femoralis wird als Goldstandard zur Beurteilung der aortalen Gefäßsteifheit herangezogen. Oszillometrische Messverfahren wurden ebenfalls bereits validiert (Wassertheurer 2010, Weiss 2012, Weber 2011, Baumann 2014). Die Pulswellengeschwindigkeit korreliert außerdem mit dem Alter. Gemäß aktuellem Wissenstand gilt eine altersunabhängige carotid-femorale Pulswellengeschwindigkeit von über 10 m/s bei normotonen Blutdruckwerten als pathologisch (Van Bortel 2012). Dieser Wert bildet auch den Grenzwert für das Vorliegen eines manifesten Endorganschadens und wurde in den Leitlinien der Europäischen Hochdruckliga aufgenommen. Laut ESH-Leitlinie soll die Überschreitung der PWV von 10 m/s eine therapeutische Einstellung auf möglichst niedrige Blutdruckwerte nach sich ziehen (Baulmann 2010). Die aPWV steigt ab dem 5. Lebensjahrzehnt. Die PWV ist in der Aorta ascendens am niedrigsten und nimmt nach distal zu. Bei Gesunden liegt die PWV in der Aorta ascendens bei 4 - 5 m/s und weiter peripher in der Aorta abdominalis bei etwa 5 - 6 m/s. Ein Anstieg der aortalen Pulswellengeschwindigkeit um 1 m/s erhöht das kardiovaskuläre Risiko um 15 % (Mengden 2016). Die PWV spiegelt indirekt, über die Ausbreitungsgeschwindigkeit der arteriellen Druckwelle, die Gefäßelastizität wider. Die inverse Beziehung der PWV zur Dehnbarkeit der Gefäße wird in der Bramwell-Hill-Gleichung beschrieben (Baulmann 2010). An Stellen mit Impedanzänderungen, wie Gefäßbifurkationen, entstehen Pulswellenreflexionen. Durch die Pulswellenreflexionen kommt es zur Zunahme des systolischen Blutdrucks und des Pulsdrucks. Die Pathophysiologie zur Auswirkung der Pulswellenreflexionen wird anhand eines Schemas erläutert.

Abbildung 6: Aortale Pulswelle mit Pulswellenreflexion



In Anlehnung an: Nürnberger 2006.

Das kardiale Schlagvolumen bildet die erste antegrade Pulswelle (blau) mit einem Druckmaximum von 120 mmHg - dem zentralen systolischen Blutdruck. Der diastolische Blutdruck beträgt 80 mmHg. Die Druckdifferenz von Systole und Diastole ist der sog. Pulsdruck. Die initiale Pulswelle wird in der Peripherie reflektiert. Dadurch entsteht eine zweite, reflektierte Welle (grün gestrichelt), die retrograd in die erste Pulswelle einfällt. Es kommt zur Summation beider Druckwellen (orange). Je früher die reflektierte Pulswelle in die frühsystolische Austreibungsphase fällt, umso stärker ist der Druckanstieg im gesamten arteriellen Gefäßsystem (Nürnberger 2006). Die Windkesselfunktion der großen Arterien, die eine hohe Elastizität der Gefäßwände voraussetzt, vermindert physiologisch die Pulsationen in der Mikrozirkulation. Die Gefäßcompliance ist wiederum von der strukturellen Zusammensetzung der Gefäßwände abhängig. Bei hoher Pulswellengeschwindigkeit und entsprechend starker Reflexion der Pulswelle, wird der Druck in der Aorta enorm erhöht. Bei unzureichendem Ausgleich der Druckschwankungen werden auf Dauer das Myokard, sowie die Endorgane Gehirn und Niere geschädigt. Der isolierten systolischen Hypertonie liegt eine besonders starke Pulsdruckerhöhung zugrunde. Charakteristisch für dieses Krankheitsbild ist ein stets niedriger diastolischer Blutdruck.

3.4.3.3 Pulsdruck

Auch der zentrale Pulsdruck der Arteria carotis gilt als etablierter Parameter in ESRD-Patienten (Mengden 2016). Der zentrale Pulsdruck ist, wie der zentrale Blutdruck, dem peripheren Blutdruck prognostisch überlegen (Franklin 1999, Baulmann 2014). Als alters- und geschlechtsunabhängiger Richtwert wird ein Pulsdruck von 50 mmHg beschrieben (Mallion 2003, Benetos 1997). Ein erhöhter Pulsdruck stellt ein erhöhtes Risiko dar, an einer Herzinsuffizienz zu erkranken (Haider 2003, Vaccarino 2001). Die prognostische Relevanz beginnt hauptsächlich ab dem 60. Lebensjahr. Eine Erhöhung des Pulsdrucks um 16 mmHg bedeutet ein um 55% höheres Risiko, an einer Herzinsuffizienz zu erkranken (Haider 2003).

4. Ergebnisse

4.1 Charakterisierung des Patientenkollektivs

Die Kohorte umfasst insgesamt 199 Patienten. Das durchschnittliche Alter der Patienten liegt bei 66 Jahren. Die Struktur der Altersverteilung ist in einem Diagramm dargestellt. Der Anteil an Männern ist mit etwa 66 % hoch. Der Body-Mass-Index der Gruppe liegt im Mittel bei 26,6 kg/m². Der Mittelwert für das Kalzium-Phosphat-Produkt liegt bei 10,4 ± 5,9 mmol/l. Die folgenden Abbildungen und Tabellen dienen zur Übersicht der relevanten Daten.

Tabelle 2: Deskriptive Daten zur Kohorte

	Mittelwert (± SD)	Minimum	Maximum
Alter (Jahre)	66,20 (± 15,60)	19,00	98,00
BMI (kg/m ²)	26,60 (± 5,70)	15,60	53,90
CPP (mmol/l)	10,40 (± 5,90)	1,80	32,60

SD = Standardabweichung, BMI = Body-Mass-Index, CPP = Kalzium-Phosphat-Produkt;

Abbildung 7: Geschlechteranteile (in Prozent)

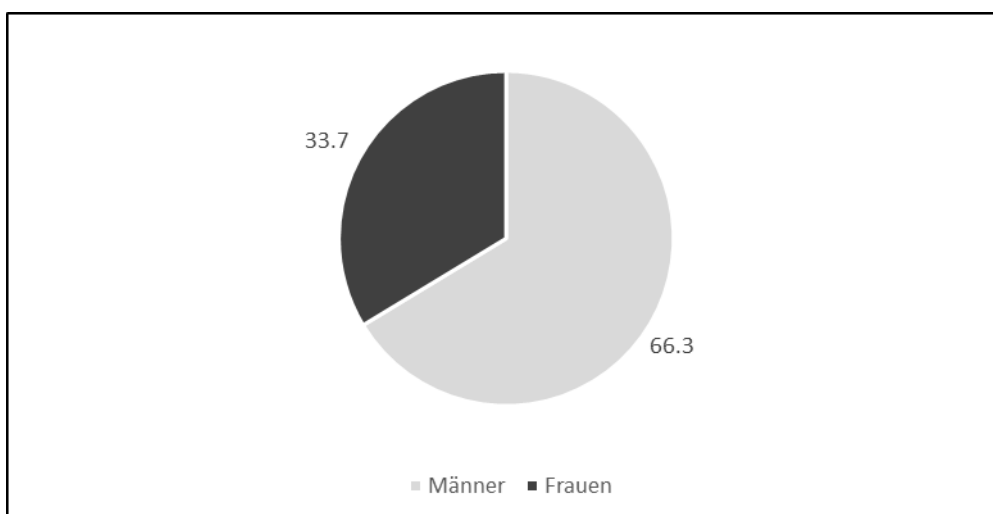
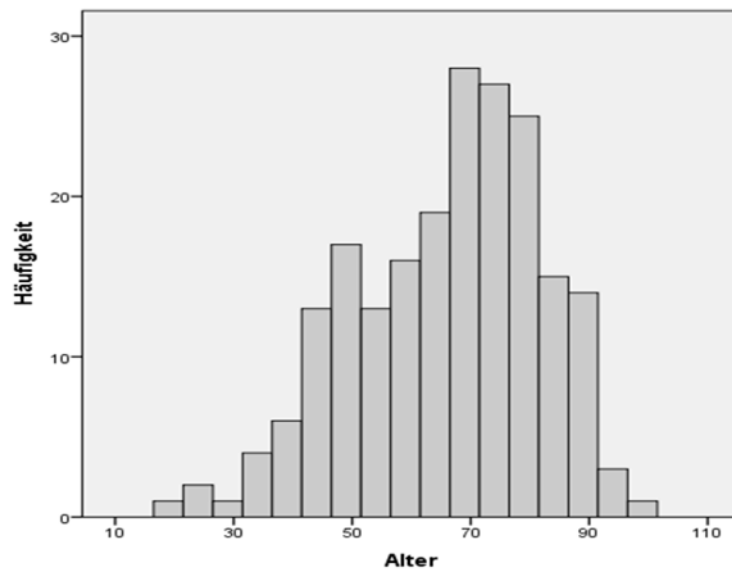
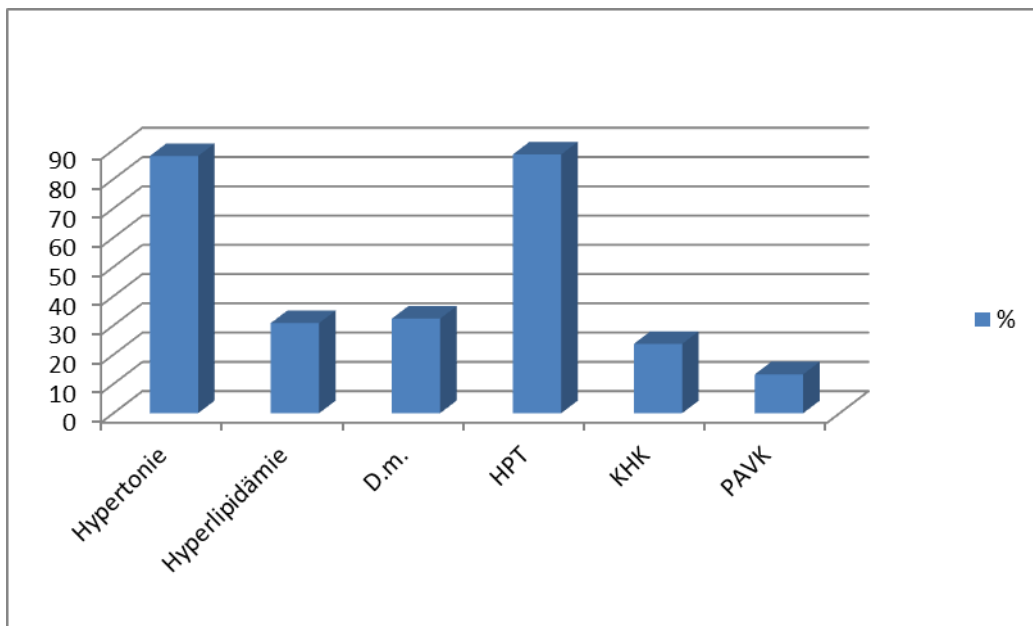


Abbildung 8: Altersstruktur (in Jahren)



Zur Beurteilung des Ausmaßes der Komorbiditäten der Kohorte werden an dieser Stelle relevante Begleiterkrankungen dargestellt. Dabei kann nicht zwischen Grund- und Folgeerkrankungen der terminalen Niereninsuffizienz unterschieden werden.

Abbildung 9: Häufigkeit der Begleiterkrankungen (in Prozent)



D. m. = Diabetes mellitus, HPT = sekundärer Hyperparathyreoidismus, KHK = Koronare Herzkrankheit, PAVK = periphere arterielle Verschlusskrankheit;

Beim Betrachten der vorherrschenden Krankheitsbilder der untersuchten Kohorte fällt der hohe Anteil an Hypertonikern auf, welcher bei 87 % liegt. Bezüglich der Hyperlipidämie wurde die Hypercholesterinämie mit der Hypertriglyceridämie zusammengefasst. Der Anteil an Patienten mit einer Fettstoffwechselstörung liegt dabei bei 31 %. Der Anteil an Diabetikern, der hauptsächlich Typ 2 Diabetiker, als auch Typ 1 Diabetiker umfasst, macht mit 32 % rund ein Drittel der Patienten aus. Ein sekundärer Hyperparathyreoidismus liegt mit etwa 88 % sehr häufig vor. 24 % der Patienten sind an einer koronaren Herzkrankheit erkrankt. Bei 13 % lag eine periphere arterielle Verschlusskrankheit vor.

4.2 Messwerte der Hämodynamik und der arteriellen Gefäßsteifheit

Tabelle 3: Übersicht der 24-Stunden-Messwerte der Hämodynamik und der arteriellen Gefäßsteifheit

	Mittelwert ± SD	Minimum	Maximum
pSBP (mmHg)	124,6 ± 15,2	87,00	167,00
pDBP (mmHg)	74,5 ± 10,6	49,00	104,00
zSBP (mmHg)	113,9 ± 14,3	76,00	153,00
zDBP (mmHg)	76,1 ± 10,7	51,00	105,00
pPP (mmHg)	50,2 ± 11,6	29,00	90,00
aPWV (m/s)	9,5 ± 2,3	5,10	15,90

pSBP = peripherer systolischer Blutdruck,
zSBP = zentraler systolischer Blutdruck,
pPP = peripherer Pulsdruck,

pDBP = peripherer diastolischer Blutdruck,
zDBP = zentraler diastolischer Blutdruck,
aPWV = aortale Pulswellengeschwindigkeit;

Bei den angegebenen Werten handelt es sich um die Mittelwerte samt Standardabweichungen der nichtinvasiven 24-Stunden-Blutdruckmessungen mit dem Gerät Mobil-O-Graph, I.E.M. Deutschland. Zusätzlich wurden die jeweiligen minimal und maximal gemessenen Werte angegeben. Der periphere systolische Blutdruck lag bei durchschnittlich $124,6 \pm 15,2$ mmHg. Der periphere diastolische Blutdruck erreichte einen Mittelwert von $74,5 \pm 10,6$ mmHg. Der zentrale systolische Blutdruck, als errechneter Wert, lag bei durchschnittlich $113,9 \pm 14,3$ mmHg. Der zentrale diastolische Blutdruck, ebenfalls ein vom Gerät errechneter Wert, ergab $76,1 \pm 10,7$ mmHg. Der Mittelwert der 24-Stunden-Pulsdruck-Messung lag bei $50,2 \pm 11,6$ mmHg. Die Werte der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit liegen im Mittel bei $9,5 \pm 2,3$ m/s. In den nachfolgenden Diagrammen werden die Messdaten graphisch dargelegt. Die Histogramme stellen die relative Häufigkeitsverteilung der Messwerte dar.

Abbildung 10: 24-Stunden-Pulsdruck (in mmHg)

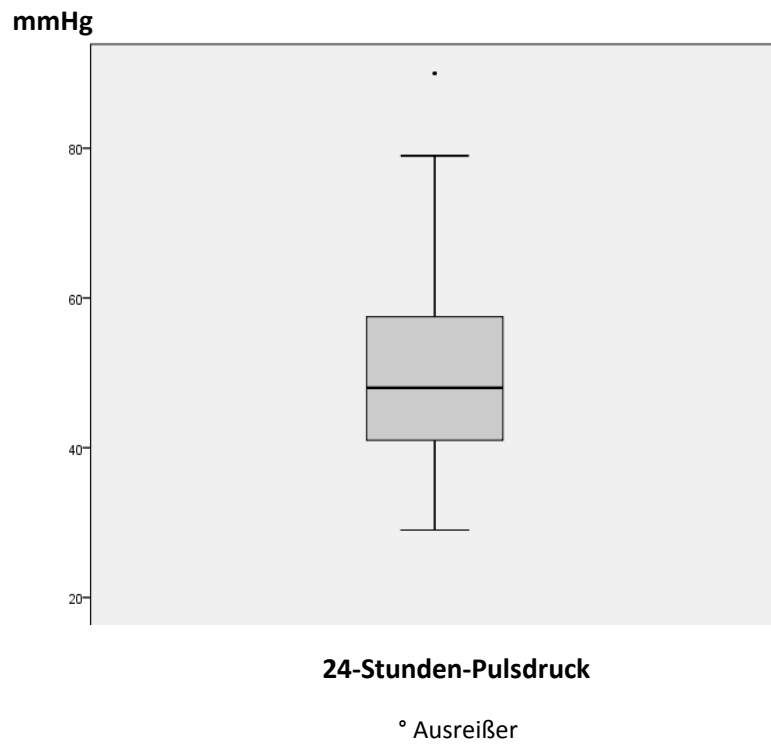


Abbildung 11: Verteilung der 24-Stunden-Pulsdruckwerte (in mmHg)

Relative Häufigkeit

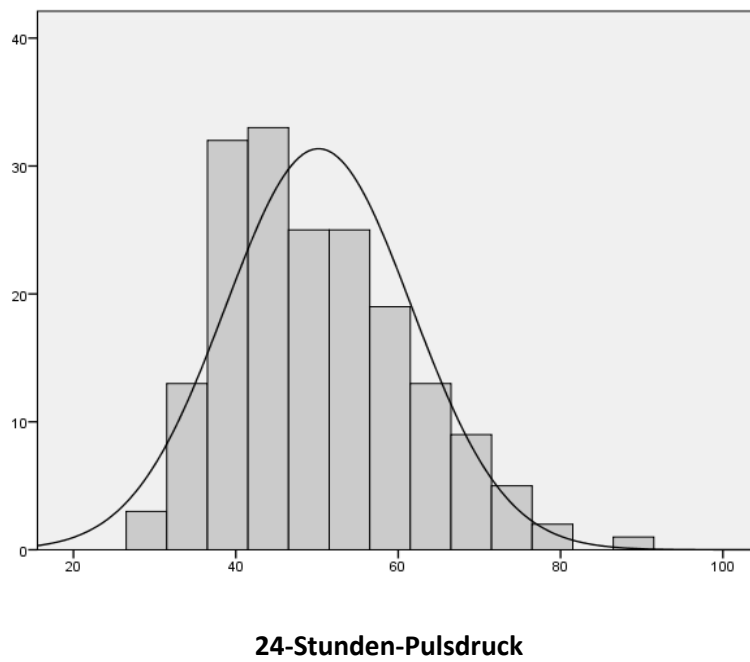


Abbildung 12: 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit (in m/s)

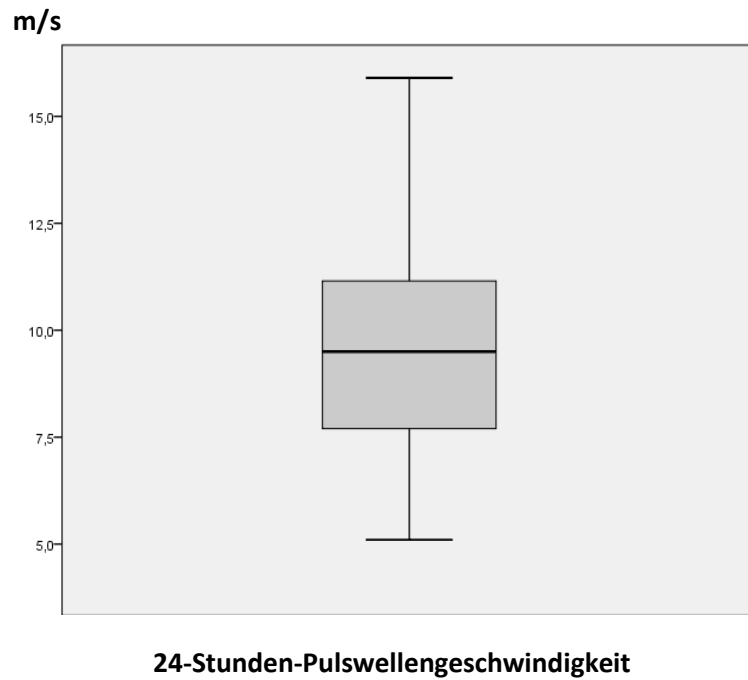
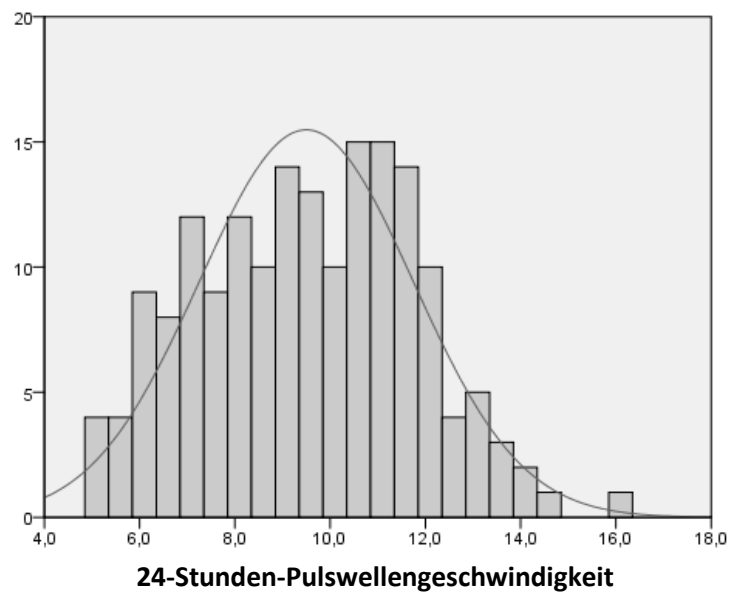


Abbildung 13: Verteilung der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit (in m/s)

Relative Häufigkeit



4.3 Messwerte von ionisiertem Magnesium und Kalzium im Serum

4.3.1 Ionisiertes Magnesium

Es wurden insgesamt Serummessungen von 199 Patienten durchgeführt. Der Mittelwert mit Standardabweichung für das ionisierte, nicht pH-normierte Magnesium lag bei $0,53 \pm 0,08$ mmol/l. Der Mittelwert der pH-Wert-normierten Werte lag bei $0,58 \pm 0,08$ mmol/l. In der Tabelle sind jeweils die niedrigsten und höchsten Einzelwerte angegeben. Die Abweichungen von pH-normiert zu nicht pH-normiert sind sehr gering und betragen höchstens $\pm 0,06$ mmol/l.

Tabelle 4: Ionisiertes Magnesium

N = 199	MW \pm SD	Minimum	Maximum
nicht pH-normiert	$0,53 \pm 0,08$	0,26	0,87
pH-normiert	$0,58 \pm 0,08$	0,33	0,93

N = Anzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung;

Abbildung 14: Histogramm: ionisiertes Magnesium (nicht pH-normiert)

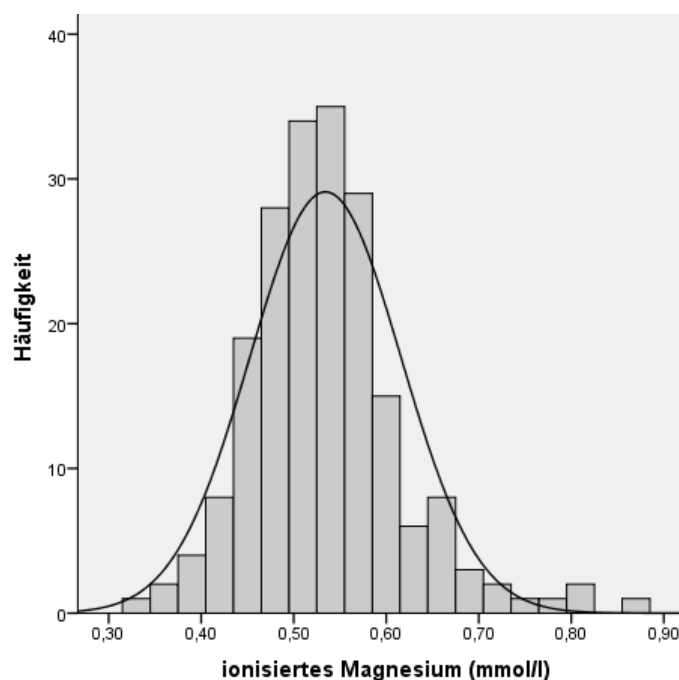
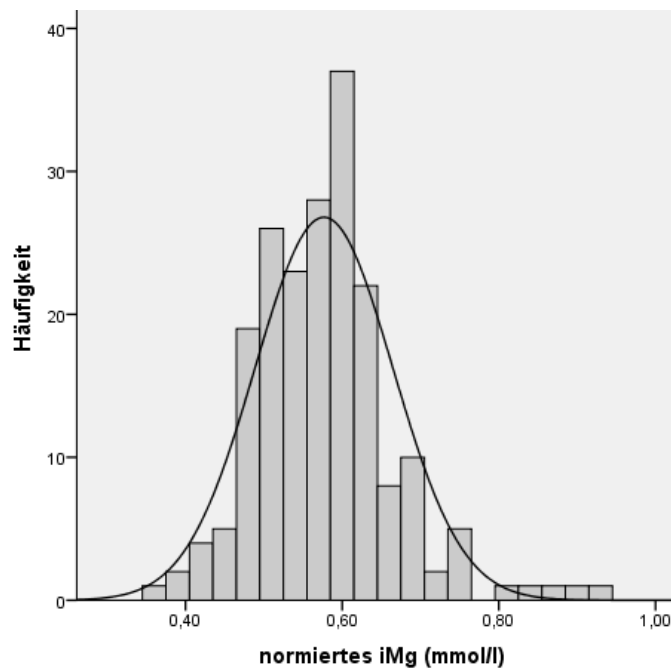


Abbildung 15: Histogramm: ionisiertes Magnesium (pH-normiert)



4.3.2 Ionisiertes Kalzium

Das ionisierte, nicht pH-normierte Kalzium lag im Mittel bei $1,11 \pm 0,10$ mmol/l. Der Mittelwert des pH-normierten Kalziums war um 0,14 mmol/l höher und lag bei $1,25 \pm 0,12$ mmol/l. Die nicht pH-normierten Kalziumwerte betragen zwischen 0,85 und 1,55 mmol/l. Die pH-korrigierten Kalziumwerte erstreckten sich über einen Bereich von 0,98 bis 1,68 mmol/l. Es folgen graphische Darstellungen der Messwerte in Histogrammen.

Tabelle 5: Ionisiertes Kalzium

N = 199	MW±SD	Minimum	Maximum
nicht pH-normiert	1,11 ± 0,10	0,85	1,55
pH-normiert	1,25 ± 0,12	0,98	1,68

N = Anzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung;

Abbildung 16: Histogramm: ionisiertes Kalzium (nicht pH-normiert)

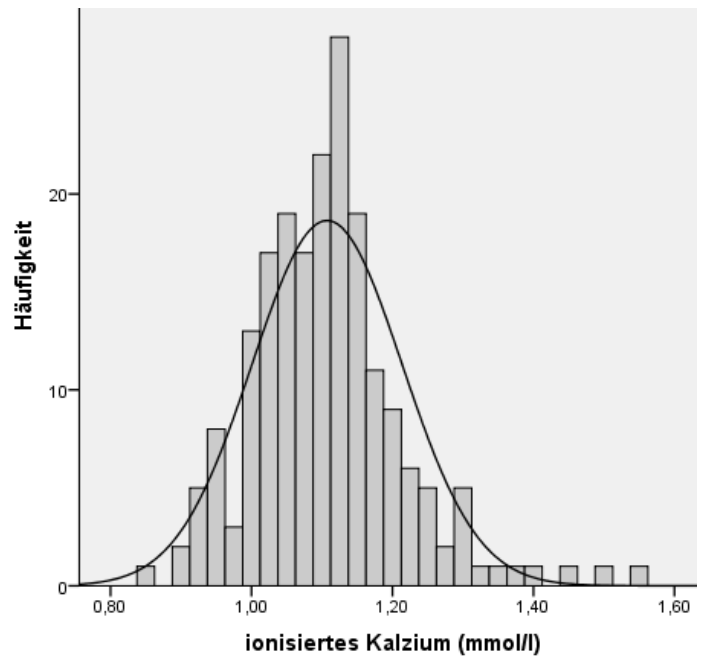
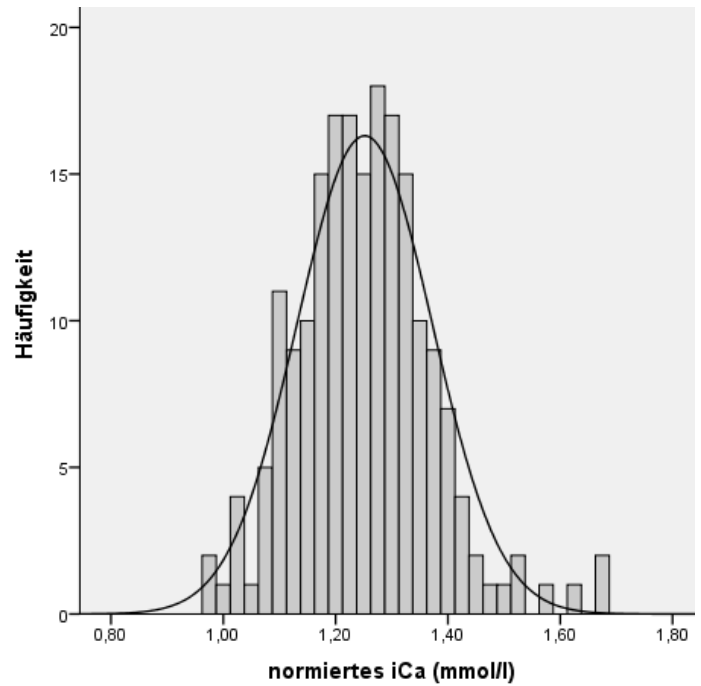


Abbildung 17: Histogramm: ionisiertes Kalzium (pH-normiert)



4.3.3 Kalzium-Magnesium-Ratio

Aus den ionisierten Serumwerten für Magnesium und Kalzium wurde die sogenannte Kalzium-Magnesium-Ratio gebildet. Dafür wurden die Kalziumwerte durch die Magnesiumwerte geteilt. Es sind die jeweiligen Ratio für nicht pH-normierte und pH-normierte Werte angegeben. In der Tabelle sind die Mittelwerte mit Standardabweichung, sowie die niedrigsten und höchsten Ratio dargelegt. Der Mittelwert für die pH-normierte Ratio lag um 0,05 höher als die nicht pH-normierte Ratio.

Tabelle. 6: Kalzium-Magnesium-Ratio (pH-normiert und nicht pH-normiert)

N = 199	MW ± SD	Minimum	Maximum
nicht pH-normiert	2,09 ± 0,26	1,45	2,88
pH-normiert	2,16 ± 0,29	1,50	3,06

N = Anzahl, MW = Mittelwert, SD = Standardabweichung;

4.4 Bivariate Korrelationsanalysen

Nachfolgend werden die erhobenen Messdaten auf statistische Zusammenhänge geprüft. Die Nullhypothese besagt, dass keine statistisch erheblichen Zusammenhänge zwischen ionisiertem Magnesium und den Werten für arterielle Gefäßsteifheit bestehen. Es werden die erhobenen Hämodynamik-Parameter auf Korrelationen mit den ionisierten Magnesium- und Kalziumwerten, sowie der Kalzium-Magnesium-Ratio untersucht. Dabei werden jeweils die pH-normierten, wie auch die nicht pH-korrigierten Serumwerte verwendet.

4.4.1 Korrelation von ionisiertem Magnesium und arterieller Gefäßsteifheit

Zunächst wird das Magnesium auf Korrelationen mit den Gefäßsteifheitswerten untersucht.

Tabelle 7: Korrelation von ionisiertem Magnesium und den Gefäßsteifheitswerten

Ionisiertes Magnesium				
	nicht pH-normiert		pH-normiert	
	p	r	p	r
pSBP (mmHg)	0,087	-0,130	0,445	-0,058
pDBP (mmHg)	0,913	0,008	0,869	-0,013
zSBP (mmHg)	0,175	-0,105	0,580	-0,043
zDBP (mmHg)	0,982	-0,002	0,911	-0,009
pPP (mmHg)	0,027*	-0,169	0,461	-0,056
aPWV (m/s)	0,068	-0,141	0,333	-0,075

* = Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (zweiseitig) signifikant.

p = Signifikanz,

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson,

pSBP = peripherer systolischer Blutdruck,

pDBP = peripherer diastolischer Blutdruck,

zSBP = zentraler systolischer Blutdruck,

zDBP = zentraler diastolischer Blutdruck,

pPP = peripherer Pulsdruck,

aPWV= aortale Pulswellengeschwindigkeit;

Beim Betrachten der Tabelle fällt als statistisch signifikanter Wert die Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks mit dem nicht pH-normierten ionisierten Magnesium auf. In der nachfolgenden Tabelle ist die statistisch signifikante Korrelation des ionisierten, nicht pH-normierten Magnesiums mit dem Pulsdruck gesondert dargestellt und wird dem Ergebnis mit dem pH-normierten Magnesiumwert gegenübergestellt. Als statistisch signifikant gilt ein p-Wert kleiner 0,05. In diesem Fall lag p bei 0,027 mit einem Korrelationskoeffizienten r von - 0,169 nach Pearson. Damit liegt eine inverse, schwache Korrelation zwischen beiden Parametern vor. Es konnte jedoch keine Korrelation des pH-

normierten ionisierten Magnesiums mit dem 24-Stunden-Pulsdruck festgestellt werden.

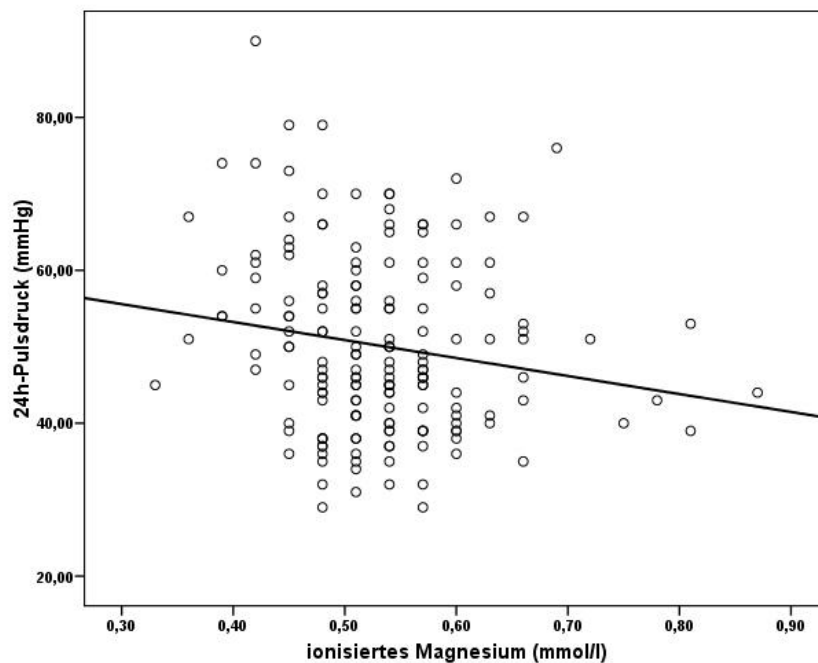
Tabelle 8: Korrelation von peripherem Pulsdruck und ionisiertem Magnesium

ionisiertes Magnesium	Signifikanz (p)	Korrelation nach Pearson (r)
nicht pH-normiert	0,027*	- 0,169
pH-normiert	0,461	- 0,056

* = Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (zweiseitig) signifikant.

Die folgende Abbildung veranschaulicht die statistisch signifikante Korrelation in einem Streudiagramm mit Bezugsgerade.

Abbildung 18: Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks mit ionisiertem nicht pH-normiertem Magnesium (p = 0,027, r = - 0,169);



Anhand von Tabelle 7 ist ersichtlich, dass keine weiteren signifikanten Korrelationen zwischen den ionisierten Magnesiumwerten und den Gefäßsteifheitswerten bestehen. Es konnten keine Korrelationen des ionisierten Magnesiums mit der aortalen Pulswellengeschwindigkeit oder den zentralen bzw. peripheren Blutdruckwerten gefunden werden.

4.4.2 Korrelation von ionisiertem Kalzium und arterieller Gefäßsteifheit

Es folgt die Analyse der Kalziumwerte auf Korrelationen mit den Gefäßsteifheitsparametern. Eine Tabelle verdeutlicht die statistischen Ergebnisse.

Tabelle 9: Korrelation von ionisiertem Kalzium und den Gefäßsteifheitswerten

Ionisiertes Kalzium				
	nicht pH-normiert		pH-normiert	
	p	r	p	r
pSBP (mmHg)	0,661	-0,033	0,463	0,056
pDBP (mmHg)	0,624	-0,037	0,650	-0,035
zSBP (mmHg)	0,551	-0,046	0,575	0,044
zDBP (mmHg)	0,543	-0,047	0,735	-0,026
pPP (mmHg)	0,951	0,005	0,133	0,115
aPWV (m/s)	0,398	0,066	0,288	0,083

p = Signifikanz,
 pSBP = peripherer systolischer Blutdruck,
 zSBP = zentraler systolischer Blutdruck,
 pPP = peripherer Pulsdruck,

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson,
 pDBP = peripherer diastolischer Blutdruck,
 zDBP = zentraler diastolischer Blutdruck,
 aPWV = aortale Pulswellengeschwindigkeit;

Es konnten keine statistisch signifikanten Korrelationen der Herz-Kreislauf- und Gefäßsteifheitswerte mit dem ionisiertem Kalzium festgestellt werden. Das Signifikanzniveau für zweiseitige Signifikanz wurde bei einem p-Wert < 0,05 festgelegt.

4.4.3 Korrelation der Kalzium-Magnesium-Ratio mit der arteriellen Gefäßsteifheit

Anschließend werden die statistischen Zusammenhänge der Kalzium-Magnesium-Ratio mit den Gefäßsteifheitswerten untersucht.

Tabelle 10: Korrelation der Kalzium-Magnesium-Ratio und der Gefäßsteifheitswerte

Kalzium-Magnesium-Ratio				
	nicht pH-normiert		pH-normiert	
	p	r	p	r
pSBP (mmHg)	0,032*	0,163	0,023*	0,173
pDBP (mmHg)	0,575	-0,043	0,728	-0,027
zSBP (mmHg)	0,121	0,120	0,085	0,135
zDBP (mmHg)	0,652	-0,035	0,790	-0,021
pPP (mmHg)	0,001**	0,251	0,001**	0,250
aPWV (m/s)	0,002**	0,235	0,006**	0,212

* = Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,05 (zweiseitig) signifikant.

** = Die Korrelation ist auf dem Niveau von 0,01 (zweiseitig) signifikant.

p = Signifikanz,

pSBP = peripherer systolischer Blutdruck,

zSBP = zentraler systolischer Blutdruck,

pPP = peripherer Pulsdruck,

r = Korrelationskoeffizient nach Pearson,

pDBP = peripherer diastolischer Blutdruck,

zDBP = zentraler diastolischer Blutdruck,

aPWV = aortale Pulswellengeschwindigkeit;

Die Kalzium-Magnesium-Ratio der pH-normierten ionisierten Serumwerte für Magnesium und Kalzium korrelierte jeweils statistisch signifikant mit dem peripheren Pulsdruck, der aortalen Pulswellengeschwindigkeit und dem peripheren systolischen Blutdruck. Die Ratio der nicht pH-normierten Serumwerte korrelierte ähnlich statistisch signifikant mit dem Pulsdruck, der Pulswellengeschwindigkeit und dem peripheren systolischen Blutdruck. Die in der Tabelle als statistisch signifikant markierten Korrelationen waren jeweils positiv und schwach ausgeprägt. Die Kalzium-Magnesium-Ratio korrelierte nicht mit dem peripheren diastolischen Blutdruck oder den zentralen Blutdruckwerten. Die signifikanten Korrelationen werden jeweils in einem Streudiagramm veranschaulicht.

Abbildung 19: Korrelation von peripherem systolischen Blutdruck und der pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ($p = 0,023$, $r = 0,173$);

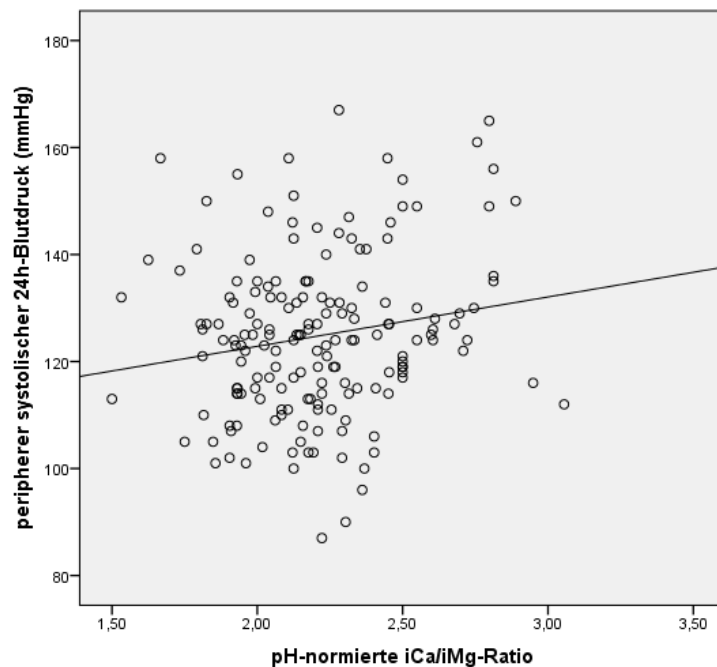


Abbildung 20: Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks und der pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ($p = 0,001$, $r = 0,250$);

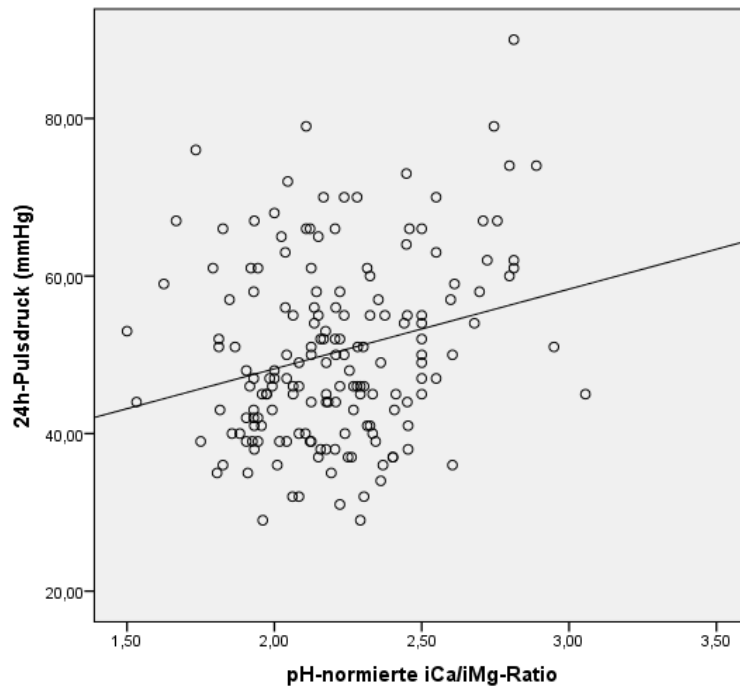


Abbildung 21: Korrelation der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit und der pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ($p = 0,006$, $r = 0,212$);

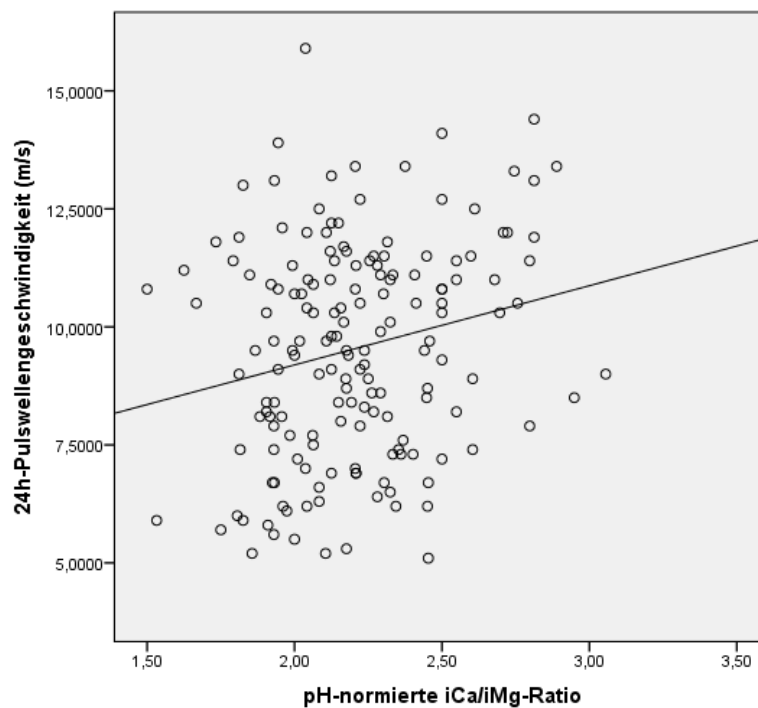


Abbildung 22: Korrelation von peripherem systolischem Blutdruck und der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ($p = 0,032$, $r = 0,163$);

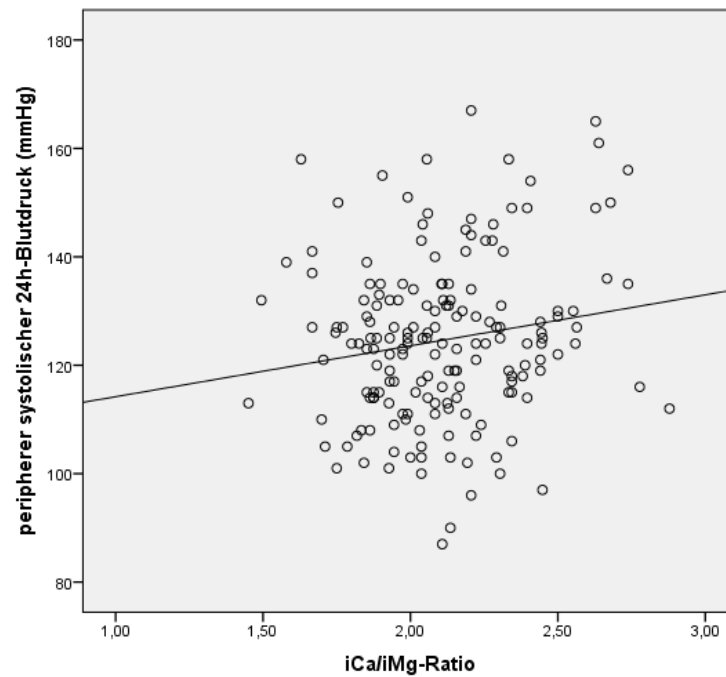


Abbildung 23: Korrelation des 24-Stunden-Pulsdrucks und der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ($p = 0,001$, $r = 0,251$);

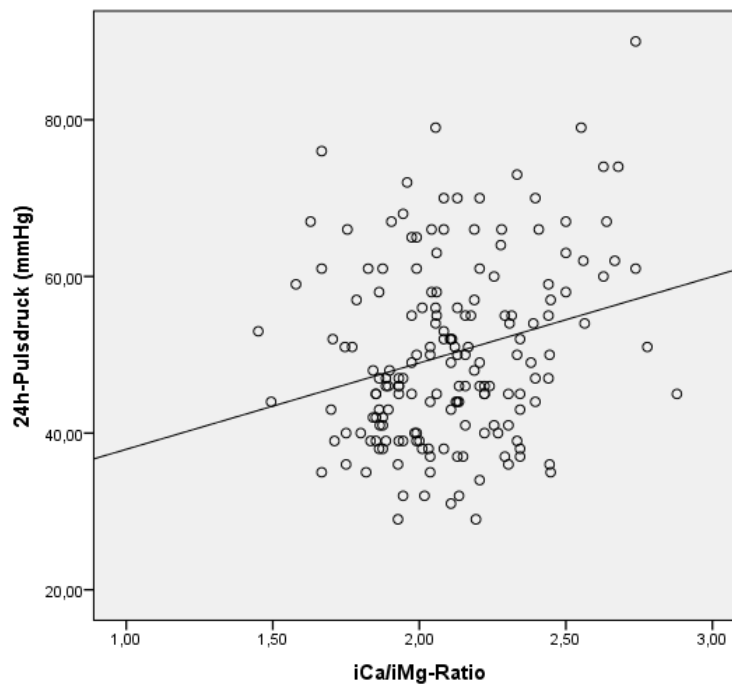
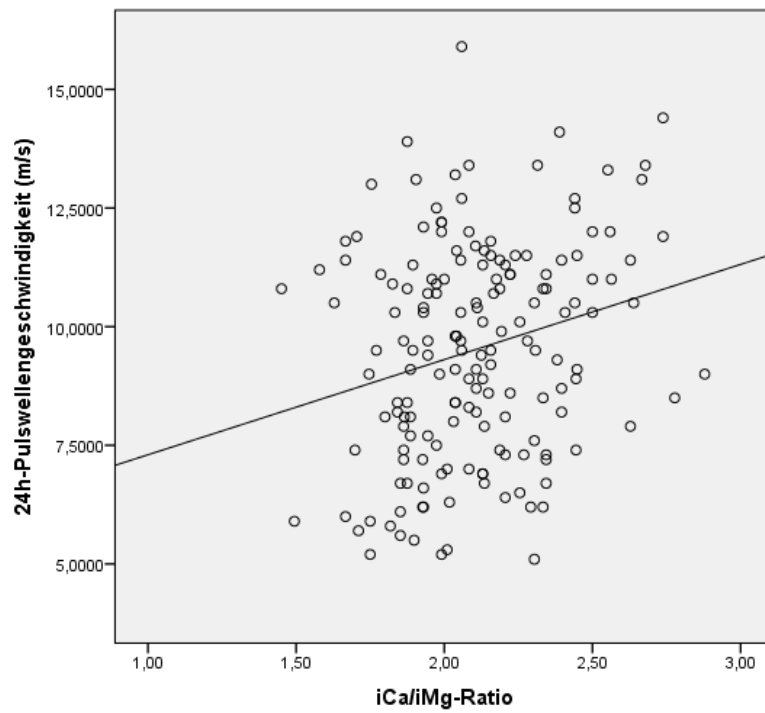


Abbildung 24: Korrelation der 24-Stunden-Pulswellengeschwindigkeit und der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio ($p = 0,002$, $r = 0,235$);



5. Diskussion

Die hohe kardiovaskuläre Sterblichkeit der Hämodialysepatienten ist durch die stark akzelerierte vaskuläre Kalzifikation gekennzeichnet. Bisher wurden zahlreiche Induktoren und Inhibitoren der Gefäßverkalkung in der Literatur beschrieben. Aktuell wird ein möglicher Zusammenhang einer veränderten Magnesiumhomöostase mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität diskutiert. So assoziieren Kanbay et al. (2012), sowie Ishimura et al. (2007), erniedrigte Gesamtmagnesiumspiegel mit einer signifikant höheren Gesamtmortalität chronisch niereninsuffizienter Patienten. Die vielfältigen Involvierungen des Magnesiums im humanen Stoffwechsel sind bekannt. Dementsprechend kann auch die Rolle des Magnesiums in der vaskulären Kalzifikation unter verschiedenen Gesichtspunkten diskutiert werden. Magnesium ist ein natürlicher Antagonist des Kalziums. Die biologisch aktive Form der beiden Elektrolyte weist eine hohe Spezifität und Sensitivität auf (Charité Berlin 2011). Die ionisierten Kalzium- und Magnesiumspiegel werden als sensitivere Messgrößen bei Störungen im Säure-Basen-Haushalt, sowie bei Dysproteinämien beschrieben (Neumeister 2008, 231-233). Die Fragestellung lautet, inwiefern ionisierte Magnesiumkonzentrationen mit einer klinisch messbaren arteriellen Gefäßsteifheit assoziiert sind. Als Nullhypothese wurde angenommen, dass keine statistisch erheblichen Zusammenhänge zwischen ionisiertem Magnesium und den Parametern für arterielle Gefäßsteifheit bestehen. Als bedeutende Ergebnisse dieser Arbeit sind die statistisch signifikanten Korrelationen der pH-normierten und nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio mit den Werten der aortalen Pulswellengeschwindigkeit, dem peripheren Pulsdruck und dem peripheren systolischen Blutdruck zu nennen. Außerdem zeigte sich eine signifikante Korrelation des nicht pH-normierten ionisierten Magnesiums mit dem peripheren Pulsdruck.

Seitens der ionisierten Kalziumwerte konnte keine statistisch signifikante Korrelation mit den Parametern für arterielle Gefäßsteifheit festgestellt werden.

Die gemessenen Serumwerte für ionisiertes Kalzium und Magnesium werden wie folgt interpretiert: Die Mittelwerte für ionisiertes Magnesium lagen bei $0,53 \pm 0,08$ mmol/l (nicht pH-normiert) bzw. bei $0,58 \pm 0,08$ mmol/l (pH-normiert). Die Literaturangaben zu den Normwerten von ionisiertem Magnesium variieren. Laut Jahnen-Dechent et al. (2012) beträgt der Referenzbereich für Gesamtmagnesium im Serum 0,65 bis 1,05 mmol/l, wobei der Ionisierungsgrad bei 55 - 70 % liegt. Diese Angaben bedeuten für ionisiertes Magnesium einen Normbereich von 0,36 bis 0,74 mmol/l. In aktueller klinischer Literatur wird ein Ionisierungsgrad von etwa 70 % bei einem Gesamtmagnesium von 0,75 bis 1,05 mmol/l beschrieben (Herold 2015, 584-585). Daraus ergibt sich für ionisiertes Magnesium ein Referenzbereich von 0,525 bis 0,735 mmol/l. Eine weitere Literaturangabe gibt einen Ionisierungsgrad von 65 - 84 % vor - bei einem Gesamtmagnesiumspiegel von 0,7 bis 1,00 mmol/l für gesunde Erwachsene (Neumeister 2008, 258-259). Daraus ergibt sich ein Referenzbereich für ionisiertes Magnesium von 0,46 bis 0,84 mmol/l. Weitere Literaturangaben geben einen Normbereich von 0,55 - 0,75 mmol/l an (Geiger 2013). Altura et al. (1992) legten einen Referenzbereich für ionisiertes Magnesium von 0,53 - 0,67 mmol/l fest. Die beiden Histogramme zu den ionisierten Magnesiumwerten zeigen für die pH-normierten und nicht pH-normierten Messwerte jeweils eine Normalverteilung. Um die ionisierten Magnesiumwerte der Patientengruppe medizinisch beurteilen zu können, wurde der Referenzbereich von 0,53 bis 0,74 mmol/l verwendet (Herold 2015, 584-585). Die im Patientenkollektiv minimal gemessenen ionisierten Magnesiumwerte von 0,26 mmol/l bzw. 0,33 mmol/l liegen deutlich außerhalb des Normbereiches. Vergleicht man die Mittelwerte für ionisiertes Magnesium von $0,53 \pm 0,08$ mmol/l (nicht pH-normiert) bzw. $0,58 \pm 0,08$ mmol/l (pH-normiert) mit der Literatur, so befinden sich diese tendenziell im mittleren bis unteren Normbereich. Analysiert man die pH-normierten

Messwerte der Kohorte genauer, so waren 27 % der Patienten hypomagnesiäm und lediglich 5 % hypermagnesiäm. Die rechnerische Korrektur der Serummesswerte auf einen pH-Wert von 7,4 lässt einen Vergleich der Proben zu. Insofern ist der Anteil von 27 % an ionisierten Hypomagnesiämien im untersuchten Patientenkollektiv als valide zu bewerten. Die Magnesiumwerte variieren je nach Stadium der Niereninsuffizienz. In den Anfangsstadien 1 bis 3 können normale Magnesiumspiegel erwartet werden (Geiger 2013). Bei terminal niereninsuffizienten Patienten wird angenommen, dass die Magnesiumwerte aufgrund der vermehrten Retention – besonders bei einer Kreatinin-Clearance weniger $10 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ - tendenziell erhöht sind (Cunningham 2012). Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz wird die Magnesiumkonzentration im Serum, neben der renalen Exkretion, auch durch die nutritive Zufuhr und die intestinale Resorption bestimmt. Eine negative Magnesiumbilanz kann medikamentös (Jahnen-Dechent 2012), sowie durch eine Malnutrition, eine Malassimilation und eine niedrige Magnesium-Dialysatkonzentration bedingt sein (Kanbay 2010). Dialysepatienten nehmen mit der Nahrung vermutlich weniger Magnesium auf, als gesunde Menschen (Geberth 2014, 40-44). Die gastrointestinale Funktion ist bei chronisch niereninsuffizienten Patienten außerdem oft stark beeinträchtigt. Bei den Patienten treten Magen-Darm-Erkrankungen und entzündliche Veränderungen der Darmschleimhaut häufig auf. Darüber hinaus wird der Serummagnesiumspiegel durch die Zusammensetzung des Dialysats beeinflusst. Dazu gibt es Untersuchungen bei Peritoneal-, als auch bei Hämodialysepatienten. Es bestehen Einflüsse des Dialysats auf die Spiegel von ionisiertem Magnesium und Gesamtmagnesium (Saha 1997, Kelber 1994). Eine Magnesium-Dialysatkonzentration von $0,75 \text{ mmol/l}$ führte bei Patienten bereits zu einer leicht ausgeprägten Hypermagnesiämie, während eine Konzentration von $0,25 \text{ mmol/l}$ tendenziell einen Magnesiummangel induzierte (Katopodis 2003, Geiger 2013). Saha et al. (1997), sowie Markell et al. (1993) konnten an

Hämodialysepatienten zeigen, dass eine Magnesium-Dialysatkonzentration von weniger als 0,50 mmol/l konsekutiv zu postdialytisch niedrigeren ionisierten Magnesiumkonzentrationen führt. Truttmann et al. (2002) analysierten die Auswirkung einer Magnesium-Dialysatkonzentration von 0,75 mmol/l auf den ionisierten Magnesiumspiegel bei Hämodialysepatienten und verglichen die postdialytischen Ergebnisse mit den Werten gesunder Probanden (Truttmann 2002). Die Dialysepatienten wiesen bereits prädialytisch einen höheren Durchschnittswert von 0,71 mmol/l an ionisiertem Magnesium auf, als die Kontrollgruppe. Postdialytisch lagen die ionisierten Magnesiumwerte im Durchschnitt bei 0,69 mmol/l. Dewitte et al. machten 2004 einen ähnlichen Versuch an Hämodialysepatienten mit einer Magnesium-Dialysatkonzentration von 0,50 mmol/l (Dewitte 2004, Cunningham 2012). Die prädialytischen ionisierten Magnesiumkonzentrationen lagen durchschnittlich bei 0,62 mmol/l. Postdialytisch wurde eine Reduktion auf durchschnittlich 0,55 mmol/l ionisiertes Magnesium festgestellt (Cunningham 2012). Die Auswirkungen der verschiedenen Magnesium-Dialysatkonzentrationen auf die intradialytische hämodynamische Stabilität werden kontrovers diskutiert (Cunningham 2012). Einen Einfluss auf die ionisierte Magnesiumkonzentration haben auch die Alterationen im Säure-Basen-Haushalt der Patienten. Bei einer Azidose erhöht sich der ionisierte Anteil von Magnesium und Kalzium. Die chronische metabolische Azidose der Dialysepatienten ist mit einer hohen Mortalität assoziiert (Raikou 2016). Die Azidose führt zur Aggravierung der renalen Osteopathie durch Induktion einer negativen Kalziumbilanz des Knochens (Lemann 2003). Eine chronische metabolische Azidose wirkt außerdem katabol. Das bedeutet, Muskelmasse wird abgebaut und die Albuminsynthese wird gesenkt (Lemann 2003). Shah et al. (2009) konnten einen Vorteil durch die Therapie mit alkalisierenden Substanzen nachweisen. Es kommt bei der renalen, metabolischen Azidose zur Retention von Urat, Sulfat, Hippurat und anderen anionischen Metaboliten. Eine genaue Analyse dieser Stoffwechselprodukte und

deren Eliminierung durch verschiedene Dialyseverfahren fand durch Vanholder et al. (2003) statt. Die Auswirkung der Säureakkumulation auf den Ionisierungsgrad des Serummagnesiums ist bisher unklar. Dieser Zusammenhang erscheint interessant, weil ein variabler Anteil von 5 - 15% des Gesamtmagnesiums im Serum an Anionen gebunden ist und dieser Anteil, neben dem freien, ionisierten Magnesium, renal ultrafiltrierbar ist (Jahnen-Dechent 2012, Cunningham 2012). Inwiefern Verschiebungen zwischen ionisierter und komplexgebundener Form stattfinden, wurde bisher nicht untersucht (Cunningham 2012). Die Expression des renalen Magnesium-Transporters TRPM6 wird laut Nijenhuis et al. (2006) durch eine metabolische Azidose gehemmt, wodurch es zum Magnesiumverlust kommt. Diese Transportstruktur befindet sich auch auf Membranen von vaskulären, glatten Muskelzellen und Darmepithelzellen. Ein weiterer Anteil von ungefähr 20 - 30 % des Serummagnesiums liegt proteingebunden vor. Der größte Teil ist dabei an Albumin gebunden (Jahnen-Dechent 2012). Die Auswirkungen des Proteinkatabolismus auf die Magnesiumhomöostase sind nicht ausreichend geklärt. Corsonello et al. (2000) assoziieren signifikant erniedrigte ionisierte Magnesiumspiegel bei Typ 2 Diabetikern mit einer Mikroalbuminurie. Dewitte et al. stellten 2004 bei Diabetes Patienten signifikant niedrigere Gesamtmagnesiumspiegel, sowie niedrigere ionisierte Magnesiumspiegel gegenüber Nicht-Diabetikern fest (Dewitte 2004, Cunningham 2012). Die Mittelwerte lagen bei den Diabetikern jeweils im unteren Normbereich mit einem Gesamtmagnesium von 0,77 mmol/l und einem ionisierten Magnesium von etwa 0,49 mmol/l (Cunningham 2012). Als mögliche Ursachen für eine Hypomagnesiämie bei Typ 2 Diabetikern nennt Pham et al. (2007) eine metabolische Azidose, eine Hypoalbuminämie, gastrointestinale Funktionsstörungen und eine Hypervolämie. Eine Hyperkalzämie erhöht, wie auch eine Hypermagnesiämie, die Magnesium-Exkretion (Silbernagl 2007, 180-181). Das Parathormon hat hingegen hemmende Effekte auf die Magnesium-

ausscheidung. Neben den ionisierten Magnesiumwerten wurden auch die ionisierten Kalziumwerte der Kohorte gemessen. Für ionisiertes Kalzium wurden die Mittelwerte $1,11 \pm 0,10$ mmol/l (nicht pH-normiert) bzw. $1,25 \pm 0,12$ mmol/l (pH-normiert) gemessen. Der Referenzbereich für ionisiertes Kalzium liegt bei 1,1 bis 1,3 mmol/l (Herold 2015, 584-586). Damit liegen die gemessenen Mittelwerte der untersuchten Patienten im Normbereich. Die pH-normierten Werte zeigten eine ionisierte Hypokalzämie bei 7 % und eine ionisierte Hyperkalzämie bei 28 % der untersuchten Patienten an. Somit liegt bei einem knappen Drittel der Patienten ein über der Norm liegendes ionisiertes Kalzium vor. Ein Anteil von ungefähr 45 % des Gesamtkalziums liegt proteingebunden im Serum vor (Jahnen-Dechent 2012). Der proteingebundene Anteil des Gesamtkalziums ist damit höher, als derjenige des Gesamtmagnesiums (Jahnen-Dechent 2012). Der an Anionen gebundene Teil des Kalziums ist hingegen mit 6,0 - 6,5 % im Vergleich zum Magnesium deutlich niedriger. Der Gesamtkalziumspiegel muss bekanntermaßen, falls notwendig, Albumin-korrigiert werden. Der Serumkalziumspiegel ist abhängig von der Ernährung, der intestinalen und renalen Resorption, der Medikation der Patienten und bei Dialysepatienten zusätzlich vom Kalziumgehalt des Dialysats. Bei einer Dialysat-Kalziumkonzentration von 1,0 - 1,25 mmol/l treten in der Regel kaum Hyperkalzämien auf (Geberth 2014, 40-44). Eine ausreichende Konzentration an Kalzium ist jedoch zur intradialytischen Blutdruckstabilisierung notwendig. Bei einer chronischen Niereninsuffizienz würde man erniedrigte ionisierte Kalziumspiegel mit hochnormalen Gesamtmagnesiumkonzentrationen erwarten (Herold 2015, 584-585). Eine Malabsorption, sowie eine medikamentöse Therapie mit Schleifendiuretika, erniedrigen die Kalzium- und Magnesiumspiegel theoretisch gleichermaßen (Herold 2015, 584-585, Jahnen-Dechent 2012, Neumeister 2008, 258-259). Die chronische metabolische Azidose, die bei terminaler Niereninsuffizienz vorliegt, induziert eine zunehmende ossäre Kalziumfreisetzung. Bei einer Azidose wird die renale

fraktionelle Kalzium-Exkretion gesteigert (Silbernagl 2007, 180-181). Eine Hypomagnesämie kann für eine Hypokalzämie ursächlich sein (Neumeister 2008, 258-259). Aufgrund der sehr ähnlichen Symptomatik von Hypomagnesämie und Hypokalzämie empfiehlt es sich, beide Laborparameter zu bestimmen. Umgekehrt kann ionisiertes Kalzium den Kalzium-sensitiven Rezeptor stimulieren und dadurch die Magnesiumresorption hemmen (Yu 2015, Fauci 2009). Etwa die Hälfte aller chronisch niereninsuffizienten Patienten leiden an einer adynamen Knochenerkrankung. Bei diesen Patienten besteht bei Einnahme von kalziumhaltigen Phosphatbindern ein hohes Risiko für Hyperkalzämien und damit für Weichgewebsverkalkungen. Die Gesamtzufuhr an elementarem Kalzium sollte bei Patienten mit kardiovaskulärer Vorerkrankung 1,5 Gramm täglich nicht überschreiten (Eller 2014). In der CALMAG-Studie wurde Magnesiumkarbonat zusammen mit Kalziumazetat erfolgreich als Phosphatbinder eingesetzt, um die Kalziumzufuhr zu reduzieren (de Francisco 2010). Mit der Kombination Kalziumazetat/ Magnesiumkarbonat konnten die iFGF 23-Spiegel signifikant reduziert werden. Es konnte jedoch kein Einfluss auf andere Biomarker gemessen werden. In einem Vergleich mit Sevelamer war die neuartige Kombination nicht unterlegen (de Francisco 2010). Bezüglich der Phosphatkontrolle zeigten sich gute Ergebnisse. Phosphat spielt eine entscheidende Rolle bei der Ausfällung von Kalzium an der Gefäßwand (Salem 2012). Eine Hyperphosphatämie ist mit einer hohen Mortalität assoziiert und fördert die Bildung von Hydroxylapatit (Wei 2006, Salem 2012). Vor allem bei einer hyperparathyreoten Osteopathie tritt PTH-vermittelt eine Hyperphosphatämie auf (Katopodis 2013). Limitiert wird der Einsatz von Magnesium als Phosphatbinder durch Nebenwirkungen, wie Hypotension und Diarrhoe.

In Folgendem werden die Messwerte zur Hämodynamik und Gefäßsteifheit der Patientenkohorte erläutert. Der periphere systolische Blutdruck lag mit rund 124,6 (\pm 15,2) mmHg um 11 mmHg höher, als der zentrale systolische Blutdruck

mit 113,9 (\pm 14,3) mmHg. Eine Differenz von 10 bis 15 mmHg zwischen peripherem und zentralem Blutdruck ist physiologisch. Diese Messergebnisse können somit als valide betrachtet werden. Die diastolischen Blutdruckwerte der Gruppe liegen im Mittel bei 74,5 (\pm 10,6) mmHg peripher und 76,1 (\pm 10,7) mmHg zentral. Der Durchschnittswert der 24-Stunden-Pulsdruck Messung lag bei 50,2 (\pm 11,6) mmHg. Als geschlechts- und altersunabhängiger Normwert wird in der Literatur ein Wert von 50 mmHg angegeben (Benetos 1997). Der offiziell anerkannte Grenzwert für die zentral-aortale Pulswellengeschwindigkeit liegt bei 10 m/s (Mengden 2016). Der Mittelwert für die zentral-aortale Pulswellengeschwindigkeit lag bei der untersuchten Patientengruppe bei 9,5 (\pm 2,3) m/s. Anhand des Histogramms zur Pulswellengeschwindigkeit erkennt man, dass viele Patienten Werte über 10 m/s erreichen. Der Höchstwert der Pulswellengeschwindigkeit von 15,9 m/s veranschaulicht das mögliche Ausmaß der aortalen Gefäßsteifheit.

Des Weiteren wurden die Messwerte für arterielle Gefäßsteifheit auf statistische Zusammenhänge mit den Serummesswerten für ionisiertes Magnesium und ionisiertes Kalzium untersucht. Die statistische Auswertung ergab eine zweiseitig signifikante Korrelation des nicht pH-normierten ionisierten Magnesiums mit dem peripheren Pulsdruck. Der p-Wert lag bei 0,027 mit einer schwachen inversen Korrelation nach Pearson von $-0,169$. Die Nullhypothese wurde somit widerlegt. Es konnte jedoch keine statistisch signifikante Korrelation des pH-normierten ionisierten Magnesiums mit dem peripheren Pulsdruck festgestellt werden. Das Ergebnis muss insofern kritisch betrachtet werden, da die pH-normierten Werte als valider gelten. Das validere pH-normierte ionisierte Magnesium korrelierte nicht statistisch signifikant mit dem peripheren Pulsdruck. Der Wert des Pulsdrucks spiegelt die Blutdruckamplitude wider und damit ferner den systolischen Blutdruck. Es gibt einige Hinweise darauf, dass Magnesium einen Einfluss auf den arteriellen Blutdruck hat (Sanjuliani 1996). Wu et al. wiesen 2006 eine blutdrucksenkende

Wirkung einer oralen Magnesiumsubstitution nach. Guerrero-Romero et al. untersuchten die Auswirkung einer orale Magnesium-Substitution auf den Blutdruck. Die Studie war als doppelblinde, Placebo-kontrollierte Studie angelegt. In den Ergebnissen zeigten sich statistisch signifikant niedrigere systolische und diastolische Blutdruckwerte in der Versuchsgruppe (Guerrero-Romero et al. 2009). Hadjistavri kam zu ähnlichen Ergebnissen. Eine geringe Absenkung des ambulant gemessenen Blutdrucks von 24 leichtgradig hypertonen Patienten, wurde nach dreimonatiger, täglicher Einnahme von 600 mg Magnesium beobachtet. Im Vergleich zu einer Kontrollgruppe, waren die 24-Stunden-Messwerte für den systolischen, als auch für den diastolischen Blutdruck, signifikant niedriger (Hadjistavri 2010). In einer Studie von Touyz et al. mit 296 normo- und hypertensiven Probanden wurde Magnesium und Kalzium im Serum, sowie in den Erythrozyten untersucht. Dabei korrelierten die Magnesiumkonzentrationen im Serum und den Erythrozyten, von allen untersuchten Elektrolyten, am stärksten mit den Blutdruckwerten (Touyz 1987). Andere Autoren konnten jedoch keine Wirkung einer oralen Magnesiumgabe auf den arteriellen Blutdruck feststellen (Yamamoto 1995, Ferrara 1992, Lind 1991). Ascherio et al. (1998) konnten einen Effekt einer magnesiumreichen Diät auf das Schlaganfallrisiko beobachten. Die Ergebnisse von Salem et al. (2012), sowie von Van Laecke et al. (2011) können nicht bestätigt werden. Bei den Untersuchungen dieser Autoren ergaben sich signifikante Korrelationen zwischen den Serummagnesiumwerten und den Pulswellengeschwindigkeitswerten der Patienten. Salem et al. (2012) untersuchten die Serummagnesiumspiegel von terminal niereninsuffizienten Patienten und stellte signifikante inverse Korrelationen mit der Pulswellengeschwindigkeit, sowie der Intima-Media-Dicke der Ateria carotis der Patienten fest. Van Laecke et al. (2011) untersuchten die Serummagnesiumspiegel von Nierentransplantierten. Die Pulswellengeschwindigkeit wurde bei Van Laecke et al. mit dem Gerät Sphygmo-Cor, als Carotis-Femoralis PWV, ermittelt. Nach Aufteilung der

Gesamtmagnesiumwerte in Quartile, waren laut Autor, höhere Magnesiumwerte mit einer niedrigeren Pulswellengeschwindigkeit assoziiert. Die niedrigsten Magnesiumspiegel habe er außerdem bei den Diabetikern unter den nierentransplantierten Patienten gemessen. In der ARIC - Studie wurde eine Assoziation niedriger Magnesiumspiegel mit der Intima-Media-Dicke, dem Auftreten einer Herzinsuffizienz und der arteriellen Hypertonie gefunden (Lutsey 2014, Ma 1995). In den Ergebnissen der epidemiologischen NHANES I - Studie war das Serummagnesium signifikant invers mit der kardiovaskulären Mortalität assoziiert (Gartside 1995). In einer prospektiven Interventionsstudie von Turgut et al. (2008) an 47 Hämodialysepatienten wurde, nach zweimonatiger Gabe von Magnesiumzitrat, eine sonographische Verminderung Intima-Media-Dicke, sowie ein signifikanter Abfall des Parathormon-Spiegels beobachtet. Eine Beobachtungsstudie von Ishimura et al. (2007) an 390 Hämodialysepatienten zeigte, dass niedrige Serummagnesiumspiegel zusammen mit einer vaskulären Kalzifikation auftreten und erklärte den Serummagnesiumspiegel zu einem unabhängigen Prädiktor für die Gefäßverkalkung bei Hämodialysepatienten. Eine Einschränkung dieser Studie besteht darin, dass die Verkalkung der Handarterien mittels Röntgen beurteilt wurde (Ishimura 2007). In früheren Untersuchungen von Meema et al. (1987), an 44 Peritonealdialysepatienten, wurden niedrige Serummagnesiumspiegel mit vermehrter arterieller Verkalkung in Verbindung gebracht. Tzanakis et al. (2004) untersuchte an einem Hämodialysekollektiv die intra- und extrazellulären Magnesiumkonzentrationen. Zur Bestimmung der intrazellulären Konzentration dienten Lymphozyten. Die Intima-Media-Dicke der Patienten war stark negativ mit der Gesamtmagnesiumkonzentration, sowie der lymphozytären Konzentration assoziiert. Die IMT korrelierte jedoch auch mit dem Alter und dem Kalzium-Phosphat-Produkt der Patienten (Tzanakis 2004). In experimentellen Versuchen von Salem et al. (2012) wurden glatte Gefäßmuskelzellen von Ratten in einem kalzifizierenden Medium kultiviert. Die

Expression von Osteocalcin, Osteopontin, BMP 2, BMP 7, MGP, sowie des TRPM7 Kanals wurden mittels Immunhistochemie bestimmt. Man induzierte zunächst eine osteogene Transdifferenzierung der inkubierten Zellen. Die Aktivität von TRPM 7 wurde dabei reduziert. Dieser Effekt konnte durch die Zugabe von Magnesiumchlorid aufgehoben werden (Salem 2012). Die Magnesiumzugabe reduzierte außerdem den Kalkgehalt der kultivierten Gefäßpräparate. Kircelli et al. (2012) stellten fest, dass Magnesium in vitro die Transdifferenzierung glatter Gefäßmuskelzellen zu osteoblasten-ähnlichen Zellen hemmen kann. Da Magnesium der physiologische Antagonist des Kalziums ist, wurde aus den ionisierten Messwerten die sogenannte Kalzium-Magnesium-Ratio gebildet. Die Ratio stellt ein rechnerisch ermitteltes Verhältnis dar, wobei die Kalziumwerte durch die Magnesiumwerte geteilt werden. Es korrelierte in der statistischen Auswertung sowohl die pH-normierte, als auch die nicht pH-normierte Kalzium-Magnesium-Ratio, signifikant mit dem peripheren Pulsdruck, der aortalen Pulswellengeschwindigkeit und dem peripheren systolischen Blutdruck (siehe Tabelle 10). Der p-Wert der Korrelation mit der aortalen Pulswellengeschwindigkeit lag bei 0,006 (pH-normiert) bzw. bei 0,002 (nicht pH-normiert). Die Stärke der signifikanten Korrelationen war jeweils schwach und positiv ausgeprägt, mit den Korrelationskoeffizienten 0,212 (pH-normiert) bzw. 0,235 (nicht pH-normiert). Weder die ionisierten Magnesiumwerte, noch die ionisierten Kalziumwerte, korrelierten mit der aortalen Pulswellengeschwindigkeit. Die Korrelation der Kalzium-Magnesium-Ratio könnte einen Einfluss des Magnesiums vermuten lassen. Die Ratio ist von den Absolutwerten unabhängig und wird gleichermaßen durch die Kalzium- und Magnesiumwerte beeinflusst. Kisters et al. (2004) führten in vitro Untersuchungen zur Kalzium-Magnesium-Ratio durch. Eine signifikant erhöhte Kalzium-Magnesium-Ratio wurde in aortalen Zellen von hypertonen Wildtyp-Ratten gefunden. Zum Vergleich wurden normotensive Tiere untersucht. Die Kalzium-Magnesium-Ratio der hypertonen Tiere betrug $3,3 (\pm 0,42)$, die der

normotonen Tieren hingegen $2,23 (\pm 0,27)$. In den aortalen Zellen der hypertonen Ratten wurde eine deutlich erhöhte intrazelluläre Kalziumkonzentration, bei verminderter intrazellulärer Magnesiumkonzentration, gemessen. Somit wird der Kalzium-Magnesium-Ratio laut Kisters et al. (2004) eine Bedeutung in der Pathogenese der Hypertonie beigemessen. Ein Vergleich mit diesen Ergebnissen ist eingeschränkt, da Kisters et al. die intrazellulären Elektrolytkonzentrationen analysierten. Diese intrazellulären Konzentrationen sind nicht mit den extrazellulären, ionisierten Elektrolytwerten gleichzusetzen. Die Kalzium-Magnesium-Ratio ist primär unabhängig von den absoluten Elektrolytwerten. Dennoch scheint eine höhere Kalzium-Magnesium-Ratio statistisch signifikant mit einer erhöhten Gefäßsteifheit assoziiert zu sein. Die Korrelationen Kalzium-Magnesium-Ratio mit der aPWV, dem peripheren Pulsdruck und dem peripheren systolischen Blutdruck erklären aber keinesfalls pathophysiologische Zusammenhänge der vaskulären Kalzifikation. Magnesium und Kalzium konkurrieren um die Bindung am Kalzium-sensitiven Rezeptor auf den Zellen der Nebenschilddrüse und den renalen Tubuluszellen. Möglicherweise kann Magnesium, ähnlich wie Kalzium, die Parathormon-Sekretion induzieren. Die Parathormon-Sekretion wird sowohl durch eine Hypokalzämie, als auch durch eine Hypomagnesiämie stimuliert. Ionisierte Kalziumwerte unter $1,25 \text{ mmol/l}$ stimulieren die PTH-Sekretion (Herold 2015, 766). Eine stark ausgeprägte Hypomagnesiämie ist mit einer reduzierten PTH-Sekretion assoziiert (Herold 2015, 766-767). Ein erhöhtes Serumkalzium inhibiert durch die Aktivierung des Kalzium-Sensing-Rezeptors der Henle-Schleife die renale Magnesium-Reabsorption (Yu 2015, Fauci 2009). Es gibt zahlreiche Studien, die den Einfluss des Magnesiums auf den Parathormon-Spiegel bei Hämodialysepatienten diskutieren (Wei 2006). Navarro et al. (1999) haben 110 Hämodialysepatienten untersucht. Die Dialysatkonzentrationen betragen in dieser Studie $1,5 \text{ mmol/l}$ für Kalzium und $0,5 \text{ mmol/l}$ für Magnesium. Die Untersuchung fand über einen Zeitraum von sechs Monaten

statt. Das Ergebnis zeigte eine signifikante inverse Korrelation zwischen intaktem PTH und Serum-Gesamtmagnesium.

Abschließend wird auf die statistisch nicht nachweisbare Assoziation des ionisierten Kalziums mit den Werten für die arterielle Gefäßsteifheit eingegangen. Weder die pH-normierten, noch die nicht pH-normierten Kalziumwerte korrelierten mit der aortalen Pulswellengeschwindigkeit oder dem peripheren Pulsdruck. Im Gegensatz dazu, wurde in anderen Studien, ein Zusammenhang des Kalzium-Phosphat-Produktes, mit den Werten für arterielle Gefäßsteifheit festgestellt. Es wird eine Abhängigkeit der vaskulären Kalzifikation von Kalzium und Phosphat vermutet (Pasch 2013, Goodman 2000, Giachelli 2004). Des Weiteren ist die Bedeutung des Kalziums in der Kontraktilität von Muskelzellen bekannt. In Experimenten mit isolierten, zerebralen Arterien wurde durch ein magnesiumarmes Medium die Kontraktion von Gefäßzellen induziert. Für die Initiierung der Kontraktion ist der Anstieg der freien, intrazellulären Kalziumkonzentration entscheidend (Yang 2000).

6. Zusammenfassung

Bei den 199 untersuchten Hämodialysepatienten handelte es sich um ein Teilkollektiv der ISAR-Studie. Als Hypothese wurde angenommen, dass keine statistischen Assoziationen zwischen den ionisierten Magnesiumspiegeln und den Werten der arteriellen Gefäßsteifheit bestehen. Der Magnesiumstatus der Patienten wurde anhand des ionisierten Magnesiums beurteilt. Das ionisierte Magnesium ist biologisch hochaktiv und stellt bei Dysproteinämien, sowie bei Alterationen im Säure-Basen-Haushalt, eine sensitivere Messgröße dar, als das Gesamtmagnesium. Parallel wurden die ionisierten Kalziumwerte bestimmt. Die Messungen der ionisierten pH-normierten und nicht pH-normierten Serumwerte fanden eigenhändig an dem Blutgasanalysegerät CRT 8 (Nova Biomedical) statt. Aufgrund des hohen wissenschaftlichen Wertes der Seren, wurde eine Verdünnung mit magnesium- und kalziumfreier, phosphat-gepufferter Salzlösung durchgeführt. Die arterielle Gefäßsteifheit der Patienten wurde im Rahmen der ISAR-Studie nichtinvasiv, oszillometrisch mit dem Gerät Mobil-O-Graph (I.E.M.) erhoben. Die Mittelwerte der pH-normierten ionisierten Elektrolytwerte lagen für Magnesium bei $0,58 \pm 0,08$ mmol/l und für Kalzium bei $1,25 \pm 0,12$ mmol/l. Daraus resultiert eine pH-normierte Kalzium-Magnesium Ratio von $2,16 \pm 0,29$. Die nicht pH-normierten Serumwerte lagen für ionisiertes Magnesium durchschnittlich bei $0,53 \pm 0,08$ mmol/l und für ionisiertes Kalzium bei $1,11 \pm 0,10$ mmol/l. Die Kalzium-Magnesium-Ratio der nicht pH-normierten Werte lag damit bei $2,09 \pm 0,26$. Die aortale Pulswellengeschwindigkeit war durchschnittlich $9,5 \pm 2,3$ m/s. Der periphere Pulsdruck der Kohorte betrug $50,2 \pm 11,6$ mmHg. Die peripheren und zentralen Blutdruckwerte lagen im Mittel bei 125/75 mmHg bzw. 114/76 mmHg. Die Korrelationsanalysen nach Pearson ergaben eine statistisch signifikante, inverse Korrelation des ionisierten nicht pH-normierten Magnesiums mit dem peripheren Pulsdruck. Des Weiteren

konnte eine statistisch signifikante, jeweils schwach positive, Korrelation, sowohl der pH-normierten, als auch der nicht pH-normierten Kalzium-Magnesium-Ratio mit dem peripheren systolischen Blutdruck, der aortalen Pulswellengeschwindigkeit und dem peripheren Pulsdruck festgestellt werden. Bezüglich der ionisierten Kalziumwerte konnte keine statistisch signifikante Korrelation mit den Gefäßsteifheitswerten festgestellt werden. Anhand dieser Ergebnisse ist keinesfalls ein Rückschluss auf die Pathogenese der vaskulären Kalzifikation möglich. Die gemessenen Mittelwerte für ionisiertes Magnesium lagen im mittleren bis unteren Normbereich. Das ionisierte Kalzium der Patienten war durchschnittlich hochnormal. Erniedrigte Gesamtmagnesiumspiegel werden bisher mit einer erhöhten Gesamtmortalität, sowie mit einer verstärkten vaskulären Kalzifikation assoziiert. Man erwartet bei Patienten mit chronischer und terminaler Niereninsuffizienz erhöhte Serummagnesiumspiegel. Als direkte Einflüsse auf die ionisierten Elektrolytkonzentrationen, sind die Dialysat-Zusammensetzungen, die Ernährung und die Einnahme bestimmter Medikamente zu nennen. Angesichts der chronischen metabolischen Azidose ist ein hoher Ionisierungsgrad von Kalzium und Magnesium zu erwarten. Bei Tieren mit chronischer metabolischer Azidose wurde die verminderte Expression des Magnesiumtransporters TRPM 6 beobachtet. Es bestehen unterschiedliche Anteile der Proteinbindung von Gesamtkalzium- und Gesamtmagnesium im Serum. Eine Hypoalbuminämie, sowie eine Mikroalbuminurie bei Typ 2 Diabetikern, wird mit erniedrigten Magnesiumspiegeln assoziiert. Die signifikante inverse Korrelation des nicht pH-normierten Magnesiums mit dem peripheren Pulsdruck ist, bei geringerer Validität im Vergleich zu den pH-normierten Werten, eingeschränkt beurteilbar. Dosisabhängige Effekte einer oralen Magnesiumsubstitution auf den peripheren Blutdruck sind bekannt. Eine statistisch signifikante Assoziation der ionisierten Magnesiumspiegel mit den Werten der aortalen Pulswellengeschwindigkeit konnte nicht festgestellt werden. Da Magnesium ein natürlicher Kalziumantagonist ist, wurde die

Kalzium-Magnesium-Ratio gebildet. Magnesium und Kalzium konkurrieren bei der intestinalen und renalen Resorption, sowie bei der Bindung am kalziumsensitiven Rezeptor. Die Sekretion des Parathormons kann von Magnesium beeinflusst werden. Die statistisch signifikanten, schwach positiven Korrelationen der Kalzium-Magnesium-Ratio mit der aortalen Pulswellengeschwindigkeit, dem peripheren Pulsdruck und dem peripheren systolischen Blutdruck, sprechen für einen möglichen Einfluss des Magnesiums. Die Kalzium-Magnesium-Ratio ist primär unabhängig von den absoluten Elektrolytwerten. Dennoch scheint eine höhere Kalzium-Magnesium-Ratio statistisch signifikant mit einer erhöhten Gefäßsteifheit assoziiert zu sein. Die ionisierten Kalziumwerte korrelierten jedoch nicht mit den Hämodynamik- oder Gefäßsteifheitswerten. Dabei spielt Kalzium eine bedeutende Rolle in der Hydroxylapatit-Bildung und der Kontraktilität glatter Gefäßmuskelzellen.

7. Limitationen

Die Einschränkungen dieser Untersuchungen liegen in der Nichterfüllung der Goldstandards. Das Probenmaterial der Wahl ist unmittelbar anaerob gewonnenes Vollblut. Für diese Untersuchungen wurden tiefgekühlte Serumproben verwendet. Die Verdünnungsfehler der pH-normierten und nicht-pH-normierten, ionisierten Magnesium- und Kalziumwerte lagen in einem validen Bereich. Eine systematische Annäherung an die tatsächlichen Messwerte ist für die ionisierten Kalzium- und Magnesiumwerte gleichermaßen möglich. Die Messwerte für die arterielle Gefäßsteifheit wurden nichtinvasiv mit einem oszillometrischen Messverfahren an der Arteria brachialis ermittelt. Die Methode der oszillometrischen Messung wurde bereits validiert. Der aktuelle Goldstandard ist die nichtinvasive Messung der Pulswellengeschwindigkeit zwischen Arteria carotis und Arteria femoralis.

8. Ausblick

In der Theorie ist eine positive Auswirkung hochnormaler Magnesiumspiegel auf die Gefäßverkalkung denkbar. In Bezug auf die akzelerierte Gefäß- und Weichgewebsverkalkung bei chronisch niereninsuffizienten Patienten bedarf es einer weiteren Aufarbeitung der komplexen Zusammenhänge im Magnesium-Kalzium-Phosphat-Haushalt. Es sollte untersucht werden, ob und inwiefern die ionisierten Magnesium- und Kalziumanteile aufgrund der chronischen metabolischen Azidose, der Urämietoxine, der Parathormonspiegel, sowie der häufig vorliegenden Dysproteinämien beeinflusst werden. Unklar ist bisher, welche langfristigen Auswirkungen veränderte ionisierte Magnesiumkonzentrationen, im Sinne des Antagonismus zum ionisierten Kalzium, auf die Gefäß- und Weichgewebekalzifikationen haben. Es bedarf weiterer Studien zu den direkten und indirekten Auswirkungen des Magnesiums auf den arteriellen Blutdruck und die arterielle Gefäßsteifheit. Außerdem sollten weitere Studien zur Verbesserung der Dialysat-Zusammensetzung und der Medikation mit Phosphatbindern durchgeführt werden.

9. Anhang

9.1 Ein- und Ausschlusskriterien der ISAR-Studie

Einschlusskriterien:

- Alter > 18 Jahre, beide Geschlechter;
- Chronische Dialysepflichtigkeit (3 x wöchentliche Hämodialyse);
- Dialysedauer > 3 Monate;

Ausschlusskriterien:

Patienten, die eines der folgenden Kriterien erfüllen, werden ausgeschlossen:

- Signifikante Infektion zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses;
- Peritonealdialyse;
- Elektrolytstörungen (Natrium, Kalium, Bikarbonat, Kalzium);
- Schwangerschaft;
- Maligne Vorerkrankung mit einer Lebenserwartung von < 24 Monaten;
- Fehlendes schriftliches Einverständnis des Patienten;

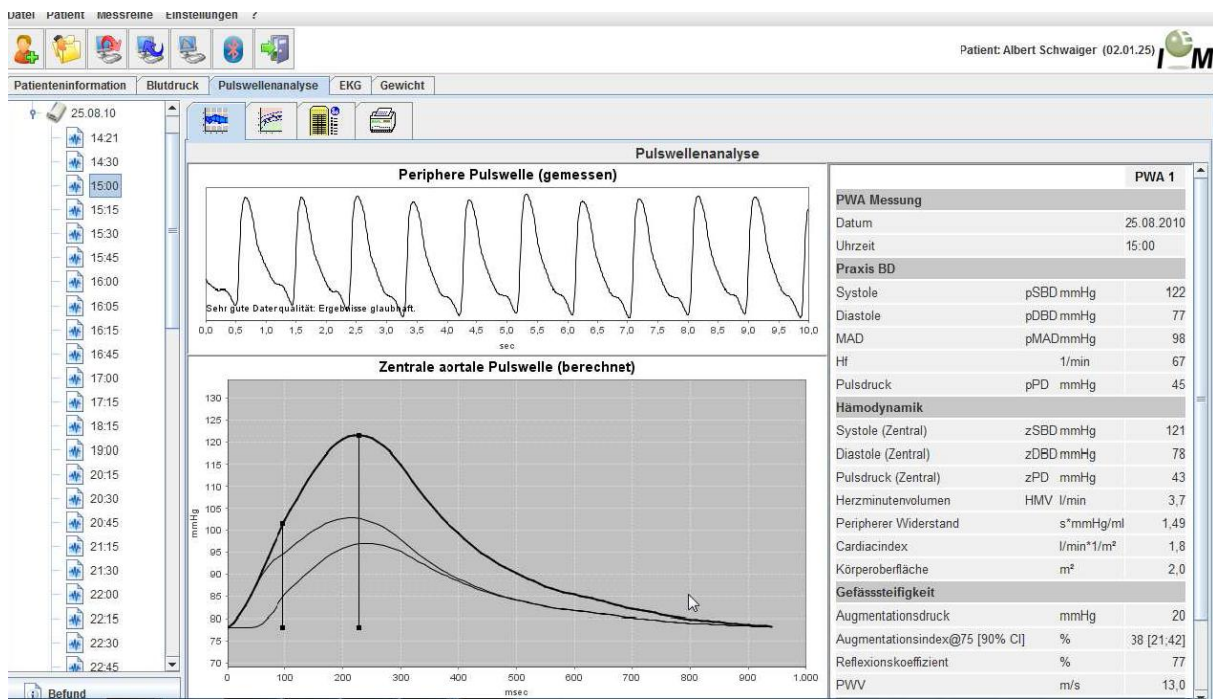
9.2 Blutdruckmonitor-Gerät Mobil-O-Graph von I.E.M. Deutschland

Tabelle 11: Technische Daten des Gerätes Mobil-O-Graph

Messdruckbereich:	Systolisch 60 bis 290 mmHg Diastolisch 30 bis 195 mmHg
Verfahren:	oszillometrisch
Messintervalle:	0, 1, 2, 4, 5, 6, 12 oder 30 Messungen pro Stunde

In Anlehnung an: Mobil-O-Graph Bedienungsanleitung

Abbildung 25: Beispielhafte Darstellung einer Pulswellenanalyse



9.3 Blutgasanalysegerät CRT 8 von NOVA Biomedical

Tabelle 12: Herstellerangaben zum Blutgasanalysegerät CRT 8

Messparameter:	Messbereiche:
	Serum, Plasma, Vollblut, Serum-Mikroproben
Natrium	60 - 200 mmol/l
Kalium	1 - 10 mmol/l
pH	6,5 - 8,0
Ionisiertes Calcium	0,1 - 5,0 mmol/l
Ionisiertes Magnesium	0,1 - 2,5 mmol/l
Hämatokrit	15 - 65 %

Akzeptables Probenmaterial:	Serum, Plasma und Vollblut-Proben
Messtechnologie:	Ionenselektive-Elektroden Impedanz-Elektrode
Einzelanalysenzeit:	55 Sekunden
Probenvolumen:	Serum, Plasma, Vollblut: 180 µl

In Anlehnung an: Nova Biomedical GmbH, Rödermark bzw. www.novabiomedical.de.

9.4 Vorveröffentlichungen

1. Art: Vortrag mit Power-Point-Präsentation
 Titel: Magnesium und Pulswellengeschwindigkeit
 bei Dialysepatienten

 Autor: Apfelböck Julia
 Volumen, Seitenzahl: 23 Folien
 Veröffentlichung: 29.09.2012
 Ort: 4. Kongress für Arterielle Gefäßsteifigkeit
 in München

2. Art: Article: Journal: Cogent Medicine (OAMD)
 Titel: Correcting low magnesia levels in hemodialysis
 by higher dialysate magnesium

 Autoren: Küchle Claudius, Suttman Yana, Reichelt
 Anna-Lena, Apfelböck Julia, Zoller Volker,
 Heemann Uwe

 Volumen, Seitenzahl: 19
 Veröffentlichung: 06.03.2017
 Manuscript ID: OAMD 1302544
 doi.org/10.1080/2331205X.2017.1302544

10. Literaturverzeichnis

Al-Ghamdi S.M., Cameron E.C., Sutton R.A., (1994). Magnesium deficiency: pathophysiologic and clinical overview. *Am J Kidney; Dis*; 24:737.

Altura B.T., Altura B.M., (1990). Measurement of ionized magnesium in whole blood, plasma and serum with a novel ion-selective electrode. *Magnes Trace Elem*; 9:311.

Altura B.T., Burack J.L., Cracco R.Q., Galland L., Handwerker S.M., Markell M.S., Mauskop A., Memon Z.S., Resnick L.M., Zisbrod Z., (1994). Clinical studies with the NOVA ISE for IMg²⁺. *Scand J Clin Lab Invest; Suppl.* 217: 53-67.

Altura B.T., Shirey T.L., Young C.C., Hiti J., Dell'Orfano K., Handwerker S.M., Altura B.M., (1992). A new method for the rapid determination of ionized Mg²⁺ in whole blood, serum and plasma. *Methods Find Exp Clin Pharmacol*; 14(4):297-304.

Andrianarivo A.G., Robinson J.A., Mann K.G., Tracy R.P., (1992). Growth on type I collagen promotes expression of the osteoblastic phenotype in human osteosarcoma MG-63 cells. *J Cell Physiol*; 153(2):256-65.

Aparicio M., Cano N., Chauveau P., (1999). Nutritional status of haemodialysis patients: a French national cooperative study. French Study Group for Nutrition in Dialysis. *Nephrol Dial Transplant*; 14: 1679–1686.

Ascherio A., Rimm E.B., Hernán M.A., Giovannucci E.L., Kawachi I., Stampfer M.J., Willett W.C., (1998). Intake of Potassium, Magnesium, Calcium, and Fiber and Risk of Stroke Among US Men. *Circulation*; 98:1198-1204.

Barenbrock M., Kosch M., Joster E., Kisters K., Rahn K., Hausberg M., (2002). Reduced arterial distensibility is a predictor of cardiovascular disease in patients after renal transplantation. *J Hypertens*; 20: 79-84.

Baulmann J., Nürnberger J., Slany J., Schmieder R., Schmidt-Trucksäss A., Baumgart D., Cremerius P., Hess O., Mortensen K., Weber T., (2010). Arterielle Gefäßsteifigkeit und Pulswellenanalyse. Positionspapier zu Grundlagen, Methodik, Beeinflussbarkeit und Ergebnisinterpretation. *Dtsch Med Wochenschrift*; 135: 4-14.

Baulmann J., Schillings U., Rickert S., Uen S., Düsing I.M., Cziraki A., Nickering G., Mengden T., (2008). An new oscillometric method for assessment of arterial

stiffness: comparison with tonometric and piezo-electronic methods. *J Hypertens*; 26(3); pp. 523-528.

Baumann M., Wassertheurer S., Suttman Y., Burkhardt K., Heemann U., (2014). Aortic pulse wave velocity predicts mortality in chronic kidney disease stages 2-4. *J. Hypertens*; 32(4):899-903.

Benetos A., Safar M., Rudnichi A., Smulyan H., Richard J.-L., Ducimetière P., Guize L., (1997). In: Pulse Pressure-A Predictor of Long-term Cardiovascular Mortality in a French Male Population. *Hypertension*; 30: pp. 1410-1415.

Blacher J., Guerin A.P., Pannier B., Marchais S.J., Safar M.E., London G.M., (1999). Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease. *Circulation*; 99: 2434-2439.

Blacher J., Pannier B., Guerin A., Marchais S.J., Safar M.E., London G.M., (1998). Carotid arterial stiffness as a predictor of cardiovascular and all-cause mortality in end-stage renal disease. *Hypertension*; 32: 570-574.

Böcker W., Denk H., Heitz Ph.U., Moch H., (2008). Repetitorium Pathologie. Gefäße, Atherosklerose. Urban & Fischer (Hrsg.), 2. Aufl.; 201-204.

Boutouyrie P., Tropeano A.I., Asmar R., Gautier I., Benetos A., Lacolley P., Laurent S., (2002). Aortic stiffness is an independent predictor of primary coronary events in hypertensive patients: a longitudinal study. *Hypertension*; 39: 10-15.

Charité Berlin (2011). Institut für Laboratoriumsmedizin und Pathobiochemie. https://www.charite.de/fileadmin/user_upload/microsites/m_cc05/ilp/referenzdb/514095.

Corsonello A., Ientile R., Buemi M., Cucinotta D., Mauro V.N., Macaione S., Corica F., (2000). Serum ionized magnesium levels in type 2 diabetic patients with microalbuminuria or clinical proteinuria. *Am J Nephrol*; 20(3):187-92.

Cunha A.R., Umbelino B., Correia M.L., Neves M.F., (2012). Magnesium and vascular changes in hypertension. *Int J Hypertens*; :754250.

Cunningham J., Rodriguez M., Messa P., (2012). Magnesium in chronic kidney disease Stages 3 and 4 and in dialysis patients. *Clin Kidney J*; 5[Suppl 1]: i39-i51.

De Francisco A.L., Leidig M., Covic A.C., Ketteler M., Benedyk-Lorens E., Mircescu G.M., Scholz C., Ponce P., Passlick-Deetjen J., (2010). Evaluation of calcium acetate/magnesium carbonate as a phosphate binder compared with

sevelamer hydrochloride in haemodialysis patients: a controlled randomized study (CALMAG study) assessing efficacy and tolerability. *Nephrol Dial Transplant*; 25(11):3707-17. doi: 10.1093/ndt/gfq292.

Dewitte K., Dhondt A., Giri M., (2004). Differences in serum ionized and total magnesium values during chronic renal failure between nondiabetic and diabetic patients: a cross-sectional study. *Diabetes Care*; 27: 2503-2505.

Eller K., (2014). Kardiovaskuläre Komplikationen des sekundären Hyperparathyreoidismus bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz. *Journal für Mineralstoffwechsel*; 21 (1), 10-13.

Fauci, Braunwald, Kasper, Hauser, Longo, Jameson, Loscalzo, (2009). *Harrisons Innere Medizin Magnesiumstoffwechsel*. Dietel M., Suttorp N., Zeitz M., (Hrsg.). Lehmanns media, 17. Auflage, Sonderausgabe, Band 2, pp. 2926-2928, ABW Wissenschaftsverlag.

Ferrara L. A., Iannuzzi R., Castaldo A., Iannuzzi A., Dello Russo A., Mancini M., (1992). Long-term magnesium supplementation in essential hypertension. *Cardiology*; vol. 81, no. 1, pp. 25–33.

Firth A.L., Remillard V.C., Yuan J., (2007). TRP Channels in Hypertension Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Department of Medicine, School of Medicine, University of California, San Diego, La Jolla, CA 9209. *Biochim Biophys Acta*; 1772(8): 895–906.

Florentin M., Elisaf M.S., (2012). Proton pump inhibitor-induced hypomagnesemia: A new challenge. *World J Nephrol*; 1(6); 151-154.

Foley R.N., Parfrey P.S., Harnett J.D., Kent G.M., Martin C.J., Murray D.C, Barre P.E., (1995). Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney International*; Vol. 47 186-192.

Fouque D., Vennegoor M., Wee P.T., Wanner C., Basci A., Canaud B., Haage P., Konner K., Kooman J., Martin-Malo A., Pedrin L., Pizzarelli F., Tattersall J., Tordoir J., Vanholder R., (2007). EBPB Guideline on Nutrition. *Nephrol Dial Transplant*; 22 [Suppl 2]: ii45–ii87.

Franklin S.S., Khan S.A., Wong N.D., Larson M.G., Levy D., (1999). Is pulse pressure useful in predicting risk for coronary heart Disease? The Framingham heart study. *Circulation*; 100(4):354-60.

Füessl H.S., Schälzky H., Schewe S., Frey K.W., Goebel F.-D., (1985). Zur Pathogenese und klinischen Bedeutung der Mönckebergschen Mediaverkalkung. *Klinische Wochenschrift*; Volume 63, Issue 5, pp. 211-216.

Gartside P.S., Glueck C.J., (1995). The important role of modifiable dietary and behavioral characteristics in the causation and prevention of coronary heart disease hospitalization and mortality: the prospective NHANES I follow-up study. *J Am Coll Nutr*; 14(1):71-9.

Geberth S., Nowack R., (2014). Praxis der Dialyse. In: Management von Begleiterkrankungen des chronischen Dialysepatienten. Springer-Verlag (Hrsg.), 2. Aufl., pp. 146-173.

Geberth S., Nowack R., (2014). Praxis der Dialyse. In: Hämodialyse – technische Komponenten. *Dialysat*. Springer-Verlag (Hrsg), 2. Aufl., pp. 40-44.

Geberth S., Nowack R., (2014). Praxis der Dialyse. In: Ernährung von Dialysepatienten. Springer-Verlag (Hrsg.), 2. Aufl; pp. 278-289.

Geiger H., (2013). Die Rolle von Magnesium bei Patienten mit Niereninsuffizienz, Nieren- und Hochdruckkrankheiten. *Dustri* (5); 220-223.

Giachelli C.M., (2004). Vascular Calcification Mechanisms. Bioengineering Department, University of Washington, Seattle, Washington. *J Am Soc Nephrol*; 15: 2959–2964.

Giachelli C.M., Bae N., Almeida M., Denhardt D.T., Alpers C.E., Schwartz S.M., (1993). Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*; 92:1686-1696.

Glaudemans B., Van der Wijst J., Scola R.H., (2009). A missense mutation in the Kv1.1 voltage-gated potassium channel-encoding gene KCNA1 is linked to human autosomal dominant hypomagnesemia. *J Clin Invest*; 119:936.

Goodman W.G, Goldin J., Kuizon B.D., Yoon C., Gales B., Sider D., Wang Y., Chung J., Emerick A., Greaser L., Elashoff R.M., Salusky I.B., (2000). Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med*; 18;342(20):1478-83.

Goytain A., Quamme G.A., (2005). Functional characterization of ACDP2 (ancient conserved domain protein), a divalent metal transporter. *Physiol Genomics*; 22:382.

Groenestege W.M., Hoenderop J.G., Van den Heuvel L., (2006). The epithelial Mg²⁺ channel transient receptor potential melastatin 6 is regulated by dietary Mg²⁺ content and estrogens. *J Am Soc Nephrol*; 17:1035.

Groenestege W.M., Thébault S., Van der Wijst J., (2007). Impaired basolateral sorting of pro-EGF causes isolated recessive renal hypomagnesemia. *J Clin Invest*; 117:2260.

Grzegorzewska A.E., Stachowski J., (1999). Magnesium bei Nierenkrankheiten. *Journal für Mineralstoffwechsel*; 6 (3), 25-28.

Guerin A.P., London G.M., Marchais S.J. (2000). Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*; 15: 1014-1021.

Guerrero-Romero F., Rodríguez-Morán M., (2009). The effect of lowering blood pressure by magnesium supplementation in diabetic hypertensive adults with low serum magnesium levels: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *J Hum Hypertens*; 23(4): 245-251.

Hadjistavri L.S., Sarafidis P.A., Georgianos P.I., (2010). Beneficial effects of oral magnesium supplementation on insulin sensitivity and serum lipid profile. *Medical Science Monitor*; vol. 16, no. 6, pp. CR307–CR312.

Haider A.W., Larson M.G., Franklin S.S., Levy D., (2003). Framingham Heart Study. Systolic blood pressure, diastolic blood pressure, and pulse pressure as predictors of risk for congestive heart failure in the Framingham Heart Study. *Ann Intern Med*; 38(1):10-6.

Hermans M.M., Henry R., Dekker J.M., Kooman J.P, Kostense P.J, Nijpels G., Heine R.J., Stehouwer C.D., (2007). Estimated glomerular filtration rate and urinary albumin excretion are independently associated with greater arterial stiffness: the Hoorn study. *J Am Soc Nephrol*; 18: 1942–1952.

Herold G. u. Mitarbeiter, (2015). Innere Medizin. In: Chronische Niereninsuffizienz und Urämie. Herold Gerd (Hrsg.) Köln; pp. 638-647.

Herold G. u. Mitarbeiter, (2015). Innere Medizin. In: Endokrinologie. Nebenschilddrüse. Parathormon. Herold Gerd (Hrsg.) Köln; pp. 766-767.

Herold G. u. Mitarbeiter, (2015). Innere Medizin. In: Nephrologie, Renale Osteopathie, Herold Gerd (Hrsg.) Köln; pp. 648-651.

Herold G. u. Mitarbeiter, (2015). Innere Medizin, Wasser- und Elektrolythaushalt, Magnesium, Kalzium. Herold Gerd (Hrsg.), Köln; pp. 584-587.

Hogan J., Goldfarb S., (2015).

<http://www.uptodate.com/contents/regulation-of-magnesium-balance>;

Hutchison A.J., Wilkie M., (2012). Use of magnesium as a drug in chronic kidney disease. Clin Kidney J.; 5(Suppl 1): i62–i70. doi: 10.1093/ndtplus/sfr168.

Ishimura E., Okuno S., Kitatani K., Tsuchida T., Yamakawa T., Shioi A., Inaba M., Nishizawa Y.; (2007). Significant association between the presence of peripheral vascular calcification and lower serum magnesium in hemodialysis patients. Clin Nephrol; 68(4):222-7.

Ishiyama M., Suzuki E., Katsuda J., Murase H., Tajima Y., Horikawa Y., Goto S., Fujita T., Takeda J., (2009). Associations of coronary artery calcification and carotid intima-media-thickness with plasma concentrations of vascular calcification inhibitors in type 2 diabetic patients. Diabetes Research; 85(2); 189-196.

Jahnen-Dechent W., Ketteler M., (2012). Magnesium basics. Clin Kidney J; 5[Suppl 1]: i3-i14.

Jehle P.M., Schucht H., Rehm K., Gysi S., Jentzsch M., (2013). Chronische und dialysepflichtige Niereninsuffizienz vom Stadium III bis Stadium VD – Was ist diagnostisch sinnvoll und wann? Welche Vitamin-D-Form, welches PTH, welche alkalische Phosphatase messen? Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Jahrgang 42; 1-6.

Kanbay M., Goldsmith D., Uyar M.E., Turgut F., Covic A., (2010). Magnesium in Chronic Kidney Disease: Challenges and Opportunities Blood Purif; 29:280-292.

Kanbay M., Yilmaz M.I., Apetrii M., Saglam M., Yaman H., Unal H.U., Gok M., Caglar K., Oguz Y., Yenicesu M., Cetinkaya H., Eyileten T., Acikel C., Vural A., Covic A., (2012). Relationship between serum magnesium levels and cardiovascular events in chronic kidney disease patients. Am J Nephrol; 36(3):228-37.

Katopodis K.P., Kolioussi E.L., Andrikos E.K., Pappas M.V., Elisaf M.S, Siamopoulos K.C., (2003). Magnesium homeostasis in patients undergoing continuous ambulatory peritoneal dialysis: role of the dialysate magnesium concentration. Artif Organs; 27(9):853-7.

Kelber J., Slatopolsky E., Delmez J.A., (1994). Acute effects of different concentrations of dialysate magnesium during high-efficiency dialysis. *Am J Kidney Dis*; 24: 453-460.

Ketteler M., (2003). Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *The Lancet*; Volume 361, 827-833.

Ketteler M., Leonard M.B., (2016). KDIGO 2016 (clinical practice guideline update on diagnosis, evaluation, prevention and treatment of ckd-mbd.) Klinikum Coburg Germany.

Kircelli F., Peter M.E., Sevinc Ok. E., (2012). Magnesium reduces calcification in bovine vascular smooth muscle cells in a dose-dependent manner. *Nephrol Dial Transplant*; 27: 514-521.

Kisters K., Wessels F., Tokmak F., Krefting E.R., Gremmler B., Kosch M., Hausberg M., (2004). Early-onset increased calcium and decreased magnesium concentrations and an increased calcium/magnesium ratio in SHR versus WKY. *Magnes Res*; 17(4):264-9.

Klotz W., Herold M., (1999). Die Konzentration von ionisiertem Magnesium in biologischen Flüssigkeiten bleibt bei ausreichender pH-Korrektur über Tage konstant. *Journal für Mineralstoffwechsel & Muskuloskelettale Erkrankungen*; 6 (3), 21-24.

Konrad M., Schaller A., Seelow D., (2006). Mutations in the tight-junction gene claudin 19 (CLDN19) are associated with renal magnesium wasting, renal failure, and severe ocular involvement. *Am J. Hum. Genet*; 79:949.

Krüger T., Schlieper G., (2013). Gefäßverkalkungen - Neue Einsichten in die Pathomechanismen *Nephrologie. Dialyse Aktuell*; 17(8): 419-425.

Laurent S., Briet M., Boutouyrie P., (2012). Arterial Stiffness as Surrogate End Point. *Needed Clinical Trials. Hypertension*; 60:518–522.

Laurent S., Boutouyrie P., Asmar R., Gautier I., Laloux B., Guize L., Ducimetiere P., Benetos A., (2001). Aortic stiffness is an independent predictor of all-cause and cardiovascular mortality in hypertensive patients. *Hypertension*; 37: 1236-1241.

Laurent S., Katsahian S., Fassot C., Tropeano Al., Laloux B., Boutouyrie P., (2003). Aortic stiffness is an independent predictor of fatal stroke in essential hypertension. *Stroke*; 34:1203-1206.

Lemann J.Jr., Bushinsky D.A., Hamm L.L., (2003). Bone buffering of acid and base in humans. *Am J Physiol Renal Physiol*; 285(5):F811-32.

Lind L., Lithell H., Pollare T., Ljunghall S., (1991). Blood pressure response during long-term treatment with magnesium is dependent on magnesium status. A double-blind, placebocontrolled study in essential hypertension and in subjects with high-normal blood pressure. *American Journal of Hypertension*; vol. 4, no. 8, pp. 674-679.

Locatelli F., Covic A., Eckardt K-U., Wiecek A., Vanholder R., (2009). Anaemia management in patients with chronic kidney disease: a position statement by the Anaemia Working Group of European Renal Best Practice (ERBP). *Nephrol Dial Transplant*; 24: 348-354.

Locatelli F., La Milia V., Violo L., Del Vecchio L., Di Filippo S., (2015). Optimizing haemodialysate composition. *Clinical Kidney Journal*; 580-589.

London G.M., Marchais S.J., Metivier F., (2000). Cardiovascular risk in end-stage renal disease: vascular aspects. *Nephrol Dial Transplant*; 15 (Suppl 5): 97-104.

Lorant D.P., Grujicic M., Hoebaus C., Brix J-M., Hoellerl F., Schernthaner G., Koppensteiner R., Schernthaner G-H., (2011). Fetuin-A Levels Are Increased in Patients With Type 2 Diabetes and Peripheral Arterial Disease. *Diabetes Care*; 34 no. 156-161.

Luft F.C., (2010). Vascular calcification and magnesium. *Journal of Molecular Medicine*. Volume 88, Issue 5, pp. 437-439.

Lutsey P.L., Alonso A., Michos E.D., Loehr L.R., Astor B.C., Coresh J., Folsom A.R (2014). Serum magnesium, phosphorus, and calcium are associated with risk of incident heart failure: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study1-3. *Am J Clin Nutr*; 100(3): 756–764.

Ma J., Folsom A.R., Melnick S.L., Eckfeldt J.H., Sharrett A.R., Nabulsi A.A., Hutchinson R.G., Metcalf P.A., (1995). Associations of serum and dietary magnesium with cardiovascular disease, hypertension, diabetes, insulin, and carotid arterial wall thickness: the ARIC study. *Atherosclerosis Risk in Communities Study*. *J Clin Epidemiol*; 48(7):927-40.

Maj-Zurawska M., (1994). Clinical findings on human blood with the KONE ISE for Mg²⁺. *Scand J Clin Lab Invest Suppl.*; 217; 60-76.

Mallion J-M., Hamici L., Chatellier G., LangT., Plouin P.F., De Gaudemaris R., (2003). Isolated systolic hypertension: data on a cohort of young subjects from a French working population (IHPAF). *Journal of Human Hypertension* 17 & 2003 Nature Publishing Group, pp. 93-100.

Marcén R., Teruel J.L., de la Cal M.A., Gámez C., (1997). The impact of malnutrition in morbidity and mortality in stable haemodialysis patients. Spanish Cooperative Study of Nutrition in Hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant*; 12(11):2324-2331.

Markell M.S, Altura B.T, Sarn Y., (1993). Deficiency of serum ionized magnesium in patients receiving hemodialysis or peritoneal dialysis. *ASAIO J*; 39: M801-M804.

Massy Z.A., Drüeke T.B., (2012). Magnesium and outcomes in patients with chronic kidney disease: focus on vascular calcification, atherosclerosis and survival. *Clin Kidney J*; 5 (Suppl 1): i52-i61.

Mattace-Raso F.U., Van der Cammen T.J., Hofman A., Van Popele N.M., Bos M.L., Schalekamp M.A., (2006). Arterial stiffness and risk of coronary heart disease and stroke: the Rotterdam Study. *Circulation*; 113: 657-663.

Meema H.E., Oreopoulos D.G., Rapoport A., (1987). Serum magnesium level and arterial calcification in end-stage renal disease. *Kidney Int*; (3):388-94.

Mengden M., Hausberg C., Heiss A., Mitchell U., Nixdorff C., Schmidt-Trucksäss O., Wassertheurer S., (2016). Arterielle Gefäßsteifigkeit – Ursachen und Konsequenzen. *Kardiologie* 2016; 10:38-46. DOI 10.1007/s12181-015-0041-5

Mitchell G., Dunlap M.E., Warnica W., Ducharme A., Malcolm J., Arnold O., (2007). Longtermtrandolapril treatment is associated with reduced aortic stiffness: the prevention of events with angiotensin-converting enzyme inhibition hemodynamic substudy. *Hypertension*; 49:1271-1277.

Mobil-O-Graph Bedienungsanleitung (2015)

www- http://www.iem.de/_attic/website/UserManual_NG_HMS-CS_24h-PWA

Moe S. M., Reslerova M., Ketteler M., O'Neill K., Duan D., Koczman J., Westenfeld R., Jahn-Dechent W., Chen N. X., (2005). Role of calcification inhibitors in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease (CKD). *Kidney International*; Volume 67, Issue 6; 2295-2304.

Montezano A.C., Zimmerman D., Yusuf H., Burger D., Chignalia A.Z., Wadhera V., Van Leeuwen F.N., Touyz R.M., (2010). Vascular smooth muscle cell differentiation to an osteogenic phenotype involves TRPM7 modulation by magnesium. *Hypertension*; 56(3); 453-462.

Mooren F.C., Krüger K., Völker K., Golf S.W., Wadepuhl M., Kraus A., (2011). Oral magnesium supplementation reduces insulin resistance in non-diabetic subjects - a double-blind, placebo-controlled, randomized trial. *Diabetes Obes Metab*; (3): 281-284.

Nakano T., Ninomiya T., Sumiyoshi S., (2010). Association of kidney function with coronary atherosclerosis and calcification in autopsy samples from Japanese elders: the Hisayama study. *Am J Kidney Dis*; 55: 21-30.

Navarro J. F., Mora C., Jiménez A., Torres A., Macía M., García J., (1999). Relationship between serum magnesium and parathyroid hormone levels in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*; 34(1): 43-48.

Neumeister B., Besenthal I., Böhm B.O., (2008). *Klinikleitfaden Labordiagnostik. In: Vitamine und Spurenelemente. Magnesium. Elsevier Urban & Fischer Verlag München, 4. Aufl.,: pp. 258-259.*

Neumeister B., Besenthal I., Böhm B.O., (2008). *Klinikleitfaden Labordiagnostik. In: Knochenstoffwechsel, Kalzium. Elsevier Urban & Fischer Verlag München, 4. Aufl.; pp. 231-233.*

Nijenhuis T., Renkema K.Y., Hoenderop J.G., Bindels R.J., (2006). Acid-base status determines the renal expression of Ca²⁺ and Mg²⁺ transport proteins. *J Am Soc Nephrol*; 17(3) :617-626.

Nürnberg J., Philipp T., (2006). Moderne antihypertensive Therapie im Licht der arteriellen Gefäßfunktion. *Dtsch Med Wochenschr*; 131: 2610-2615.

O'Rourke M.F., Hashimoto J., (2007). Mechanical factors in arterial aging. *J Am Coll Cardiol*; 50: 1-13.

Ong K.T., Delorme S., Pannier B., Safar M., Benetos A., Boutouyrie S.P., (2011). Aortic stiffness is reduced beyond blood pressure lowering by short- and long term antihypertensive treatment: ameta-analysis of individual data in 294 patients. *J Hypertens*; 29:1034-1042.

Ooi Qj L., Newk-Fon Hey Tow. F.K., Deva R., Alias M.A., Kawasaki R., Wong T.Y., Mohamad N., Coville D., Hutchinson A., Savige J., (2011). The Microvasculature in Chronic Kidney Disease. *CJASN*; vol. 6 no. 8 1872-1878.

Parfrey P.S., Foley R.N., (1999). The Clinical Epidemiology of Cardiac Disease in Chronic Renal Failure. *J Am Soc Nephrol*; 10, 1606–1615.

Pasch A. - Inselspital Bern (2013). Ein neues Konzept zum Verständnis der Biomineralisation im Serum. *Medicom Ausgabe 1*.

Potthoff F., Münscher C., Berendes A., Weber W., (2015). Jahresbericht 2015 zur Qualität in der Dialyse. Gemeinsamer Bundesausschuss Berlin für das Berichtsjahr 2015. MNC GmbH (Medical Netcare GmbH) Münster.

Quamme G.A., (1997). Renal magnesium handling: new insights in understanding old problems. *Kidney Int*; 52:1180.

Qunibi W.Y., (2004). Consequences of hyperphosphatemia in patients with end-stage renal disease (ESRD). *Kidney Int; Suppl. (90)*: 8-12.

Raikou V.D., (2016). Metabolic acidosis status and mortality in patients on the end stage of renal disease. *Transl Int Med*; 1; 4(4): 170-177.

Safar M.E., Blacher J., Pannier B., Guerin A.P., Marchais S.J., Guyonvarch P-M., London G.M., (2002). Central Pulse Pressure and Mortality in End-Stage Renal Disease. *Hypertension*; 39: 735-738.

Saha H.H., Harmoinen A.P., Pasternack A.I., (1997). Measurement of serum ionized magnesium in CAPD patients. *Perit Dial Int*; 17: 347-352.

Salem S., Bruck H., Bahlmann F.H, Peter M., Passlick-Deetjen J., Kretschmer A., Steppan S., Volsek M., Kribben A., Nierhaus M., Jankowski V., Zidek W., Jankowski J., (2012). Relationship between magnesium and clinical biomarkers on inhibition of vascular calcification *Am J Nephrol*; 35(1):31-9.
doi: 10.1159/000334742.

Sanjuliani A.F., de Abreu Fagundes V.G., Francischetti E.A., (1996). Effects of magnesium on blood pressure and intracellular ion levels of Brazilian hypertensive patients. *International Journal of Cardiology*; vol. 56, no. 2, pp. 177-183.

Sato Masayo , Tetsuya Ogawa, Himiko Sugimoto, Kuniaki Otsuka, Kosaku Nitta. (2012). Relation of Carotid Intima-Media Thickness and Silent Cerebral Infarction to Cardiovascular Events and All-Cause Mortality in Chronic Hemodialysis Patients. *Internal Medicine* Vol; 51 No. 16 pp. 2111-2117.

Schlieper G., Aretz A., Verberckmoes S.C., Krüger T., Behets G.J., Ghadimi R., Weirich T. E. , Rohrmann D., Langer S., Tordoir J.H. , Amann K., Westenfeld R., Brandenburg V. M., D'Haese P.C. , Mayer J., Ketteler M., McKee M.D., Floege J., (2010). Ultrastructural Analysis of Vascular Calcifications in Uremia. *J Am Soc Nephrol*; 21(4): 689-696.

Schlingmann K.P., Gudermann T., (2005). A critical role of TRPM channel-kinase for human magnesium transport. *J Physiol*; 15; 566(Pt 2): 301-308.

Scholl U., Choi M., Liu T., (2009). Seizures, sensorineural deafness, ataxia, mental retardation, and electrolyte imbalance (SeSAME syndrome) caused by mutations in KCNJ10. *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A*; 106:5842.

Shah S.N., Abramowitz M., Hostetter T.H., Melamed M.L., (2009). Serum Bicarbonate Levels and the Progression of Kidney Disease: A Cohort Study. *Am J Kidney Dis*; 54(2): 270-277.

Shoji T., Emoto M., Shinohara K., Kakiya R., Tsujimoto Y., Kishimoto H., Ishimura E., Tabata T., Nishizawa Y., (2001). Diabetes mellitus, aortic stiffness, and cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*; 12:2 1172124.

Shokawa T., Imazu M., Yamamoto H., Toyofuku M., Tasaki N., Okimoto T., Yamane K., Shroff R., Long D.A., Shanahan C., (2013). Mechanistic insights into vascular calcification in CKD. *J Am Soc Nephrol*; 24: 179-89.

Shroff R.C., McNair R., Skepper J.N., Figg N., Schurgers L.J., Deanfield J., Rees L., Shanahan C.M., (2013). Chronic Mineral Dysregulation Promotes Vascular Smooth Muscle Cell Adaptation and Extracellular Matrix Calcification. *J Am Soc Nephrol*; 21(1): 103-112.

Sigg K., (1976). *Varizen - Ulcus cruris und Thrombose*. Springer Verlag (Hrsg.) 4. Aufl.; pp. 150-152.

Silbernagl S., Despopoulos A., (2007). *Taschenatlas Physiologie*. In: Calcium- und Phosphathaushalt, Thieme Stuttgart (Hrsg.), 7. Aufl.; pp. 292-295.

Silbernagl S., Despopoulos A., (2007). Taschenatlas Physiologie. In: Niere, Resorption und Ausscheidung von Phosphat, Ca²⁺ und Mg²⁺. Thieme Stuttgart (Hrsg.), 7. Aufl.; pp. 180-181.

Silbernagl S., Despopoulos A., (2007). Taschenatlas Physiologie. In: Rolle der Calcium-Ionen bei der Zellregulation. Thieme Stuttgart (Hrsg.), 7. Aufl.; pp. 36-37.

Simon D.B, Lu Y., Choate K.A., (1999). Paracellin-1, a renal tight junction protein required for paracellular Mg²⁺ resorption. Science; 285:103.

Speer M.Y., Yang H.Y., Brabb T., Leaf E., Look A., Lin W.L., Frutkin A., Dichek D., Giachelli C.M., (2009). Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries. Circ Res; 104(6): 733-41.

Spiegel D. M., (2011). Magnesium in Chronic Kidney Disease: Unanswered Questions. Blood Purif; 31:172-176.

Sucker C., Lanzer P., (2000). Arteriosklerose und Mediasklerose. Eine Gegenüberstellung zweier kalzifizierender Gefäßerkrankungen. Medizinische Klinik; Volume 95, Issue 4, pp. 207-210.

Thebault S., Alexander R.T., Tiel Groenestege W.M., (2009). EGF increases TRPM6 activity and surface expression. J Am Soc Nephrol; 20:78.

Thomas C., (2006). Histopathologie. Lehrbuch und Atlas zur Befunderhebung und Differenzialdiagnostik, Gefäße, Arteriosklerose. Schattauer (Hrsg.), 14. Aufl.; pp. 114-115.

Touyz R.M., (2008). Transient receptor potential melastatin 6 and 7 channels, magnesium transport, and vascular biology: implications in hypertension. American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology; Vol. 294 no. 3.

Touyz R.M., Milne F.J., Seftel H.C., Reinach S.G., (1987). Magnesium, calcium, sodium and potassium status in normotensive and hypertensive Johannesburg residents. S Afr Med J; 19;72(6):377-81.

Truttmann A.C., Faraone R., Von Vigier R.O., Nuoffer J.M., Pfister R., Bianchetti M.G. (2002). Maintenance hemodialysis and circulating ionized magnesium. Nephron; 92: 616–621.

Turgut F., Kanbay M., Metin M.R., Uz E., Akcay A., Covic A., (2008). Magnesium supplementation helps to improve carotid intima media thickness in patients on hemodialysis. *Int Urol Nephrol*; 40(4):1075-82. doi: 10.1007/s11255-008-9410-3.

Tzanakis I., Pras A., Kounali D., Mamali V., Kartsonakis V., Mayopoulou-Symvoulidou D., Kallivretakis N., (1997). Mitral annular calcifications in haemodialysis patients: a possible protective role of magnesium. *Nephrol Dial Transplant*; 12(9); 2036-2037.

Universitätsklinik Ulm, Klinische Chemie, Stand : 23.11.2015.

<http://www.uniklinik-ulm.de/struktur/institute/klinische-chemie/home/praeanalytik/untersuchungen-leistungsverzeichnis/klm/magnesium>

Vaccarino V., Berger AK., Abramson J., Black HR., Setaro JF., Davey JA., Krumholz H.M., (2001). Pulse pressure and risk of cardiovascular events in the systolic hypertension in the elderly program. *Am J Cardiol*; 1;88(9):980-6.

Van Bortel L.M., Laurent S., Boutouyrie P., Chowienczyk P., Cruickshank J.K., De Backer T., Filipovsky J., Huybrechts S., Mattace-Raso F.U.S., Protogerou A.D., Schillaci G., Segers P., Vermeersch S., Weber T., (2012.) Expert consensus document on the measurement of aortic stiffness in daily practice using carotid-femoral pulse wave velocity. *J Hypertens*; 30(3):445-448.

Van Laecke S., Maréchal C., Verbeke F., Peeters P., Van Biesen W., Devuyst O., Jadoul M., Vanholder R., (2011). Beziehung zwischen Hypomagnesiämie und vaskulärer Steifigkeit in Nierentransplantierten. *Nephrol Dial Transplant*; 26: 2362-2369.

Van Laecke S., Van Biesen W., Verbeke F., (2009). Posttransplantation Hypomagnesiämie und seine Beziehung mit Immunsuppression als Prädiktoren der Neuentstehung von Diabetes nach der Transplantation. *Am J Transplant*; 9: 2140-2149.

Vanholder R., (2003). Eine Übersicht über urämische Toxine. *Kidney International*; 63 1934–1943.

Vanholder R., Van Laecke S., Glorieux G., (2008). What is new in uremic toxicity? *Pediatr Nephrol*; 23: 1211-1221.

Vermeer C., (2008). Treatment option of vascular calcifications in renal disease. *Skriptum Kongressjournal, Wiener Medizinische Wochenschrift*; 11/08; 12-13. <https://www.salk.at/DMS/2-20090327-14181633>.

Vetter T., Lohse M.J., (2002). Magnesium and the parathyroid. *Curr Opin Nephrol Hypertens*; 11(4): 403-410.

Voroneanu L., Covic A., (2009). Arrhythmias in hemodialysis patients. *J Nephrol*; 22(6): 716-25.

Wada Manabu , Nagasawa Hikaru, Iseki Chifumi , Takahashi Yoshimi, Sato Hiroyasu , Arawaka Shigeki, Kawanami Toru, Kurita Keiji, Daimon Makoto, Kato Takeo, (2008). Vessel disease and chronic kidney disease (CKD): results of a cross-sectional study in community-based Japanese elderly. *Journal of the Neurological Sciences*; 272 36-42.

Walder R.Y., Landau D., Meyer P., (2002). Mutation of TRPM6 causes familial hypomagnesemia with secondary hypocalcemia. *Nat Genet*; 31:171.

Wang D., Wallace A. F., De Yoreo J.J., Dove P.M., (2009). Carboxylated molecules regulate magnesium content of amorphous calcium carbonates during calcification. *PNAS*; vol. 106.

Wassertheurer S., Kropf J., Weber T., Van der Giet M., Baulmann J., Ammer M., Hametner B., Mayer C.C., Eber B., Magometchnigg D., (2010). A new oscillometric method for pulse wave analysis: comparison with a common tonometric method. *Journal of Human Hypertension*; 24; 498–504.

Watson K.E., Boström K., Ravindranath R., Lam T., Norton B., Demer LL., (1994). TGF-beta 1 and 25-hydroxycholesterol stimulate Osteoblast-like vascular cells to calcify. *J. Clin. Invest*; 93(5): 2106-13.

Weber T., (2010). Grundlagen: Zentraler Blutdruck, Pulswellenreflexion, Pulswellengeschwindigkeit. *Austrian Journal of Hypertension*; 14 (2), 9-13.

Weber T., Wallner M., Brucknerberger P., Ammer M., Rammer M., O'Rourke M.F., Kramar R., Eber B., (2009). Pulse wave reflections predict adverse renal outcomes in patients with chronic renal failure. *J Hypertens*; 27 (Suppl 4): 330.

Weber T., Wassertheurer S., Rammer M., Maurer E., Hametner B., Mayer C., Kropf J., Eber B., (2011). Validation of a Brachial Cuff-Based Method for Estimating Central Systolic Blood Pressure. *Hypertension*; 58:825-832.

Wei M., Esbaei K., Bargman J., Oreopoulos D.G., (2006). Relationship between serum magnesium, parathyroid hormone, and vascular calcification in patients on dialysis: a literature review. *Perit Dial Int*; 26(3):366-73.

Weiss W., Gohlisch C., Harsch-Gladisch C., Tölle M., Zidek W., Van der Giet M., (2012). Oscillometric estimation of central blood pressure: validation of the Mobil-O-Graph in comparison with the SphygmoCor device. *Blood Press Monit*; 17(3); 128-131.

Westenfeld R., Krueger T., Schlieper G., (2012). Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial. *Am J Kidney Dis*; 59: 186-195.

Will C., Breiderhoff T., Thumfart J., Stuiver M., Kopplin K., Sommer K., Günzel D., Querfeld U., Meij I., Shan Q., Bleich M., Willnow T.E., Müller D., (2010). Targeted deletion of murine *Cldn16* identifies extra- and intrarenal compensatory mechanisms of Ca^{2+} and Mg^{2+} wasting. *Am J Physiol Renal Physiol*; 298(5): F 1152-1161.

Willum-Hansen T., Staessen J.A., Torp-Pedersen C., Rasmussen S., Thijs L., Ibsen H., Jeppesen J., (2006). Prognostic value of aortic pulse wave velocity as index of arterial stiffness in the general population. *Circulation*; 113:664-670.

Wolf M., (2012). Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*; 82: 737-47.

Yamagishi S., Fujimori H., Yonekura H., Tanaka N., Yamamoto H., (1999). Advanced glycation endproducts accelerate calcification in microvascular pericytes. *Biochem Biophys Res Commun*; 258(2): 353-7.

Yamamoto M.E., Applegate W.B., Klag M.J., (1995). Lack of blood pressure effect with calcium and magnesium supplementation in adults with high-normal blood pressure: results from phase I of the Trials of Hypertension Prevention (TOHP). *Annals of Epidemiology*; vol. 5, no. 2, pp. 96-107.

Yang Z.W., Wang J., Zheng T., Altura B.T., Altura B.M., (2000). Low $[Mg^{2+}]_o$ induces contraction and $[Ca^{2+}]_i$ rises in cerebral arteries: roles of Ca^{2+} , PKC, and PI3. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*; 279(6):H2898-907.

Yu A.S. L., Goldfarb S., Lam A.Q., (2015).

<http://www.uptodate.com/contents/regulation-of-magnesium-balance>;
Stand 14.01.2015

Zheltovaa A., Kharitonovaa M., Lezhitsaa I., Spasova A., (2016). Magnesium deficiency and oxidative stress: an update. *Bio Medicine (ISSN 2211-8039)*; Vol. 6, No. 4, Article 2, 8-14.

11. Danksagung

Abschließend möchte ich mich sehr herzlich bei allen Personen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertation beigetragen haben.

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater, Herrn Professor Dr. med. Dr. Marcus Baumann, für die freundliche Überlassung des Themas dieser Dissertation. Ich war jederzeit kompetent beraten und profitierte von vielen hilfreichen Anregungen und professioneller Unterstützung.

Des Weiteren danke ich Herrn Oberarzt Dr. med. Claudius Küchle, der mich bei der technischen Durchführung an den Geräten und der Erarbeitung dieser Dissertation bestens betreut hat.

Mein Dank gilt auch Herrn PD Dr. med. Christoph Schmaderer für die Überlassung der Serumproben.

Herrn Prof. Dr. med. Dr. h.c. Uwe Heemann möchte ich dafür danken, dass ich meine Promotionsarbeit in der Abteilung für Nephrologie der II. Medizinischen Klinik und Poliklinik der Technischen Universität München, Klinikum rechts der Isar, durchführen durfte.

Ganz besonders sei auch allen Patienten gedankt, die freundlicherweise bereit waren, an dieser Studie teilzunehmen. Auch den Mitarbeitern des nephrologischen Labors und der teilnehmenden Dialysezentren gilt mein herzlicher Dank.