

Einfluss einer Vitamin D-Supplementierung
auf biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung des Grades

Doktor der Ernährungs- und Haushaltswissenschaft
(Dr.oec.troph.)

der

Hohen Landwirtschaftlichen Fakultät

der

Rheinischen Friedrich-Wilhelms-Universität

zu Bonn

vorgelegt am

02.02.2006

von

Stefanie Schulze Schleithoff

aus

Gelsenkirchen

Referent: PD Dr. Armin Zittermann

Koreferenten: Prof. Dr. Peter Stehle, PD Dr. med. Gero Tenderich

Tag der mündlichen Prüfung: 07. Juli 2006

Vermerk: Diese Dissertation ist auf dem Hochschulschriftenserver der ULB Bonn http://hss.ulb.uni-bonn.de/diss_online elektronisch publiziert.

Erscheinungsjahr: 2006

Kurzauszug

Hintergrund: Basierend auf Ergebnissen einer früheren Untersuchung, die gezeigt hat, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) erheblich niedrigere Plasmaspiegel der Vitamin D-Metabolite 25(OH)D und Calcitriol aufweisen als gesunde Personen gleichen Alters, resultierte die Hypothese, dass ein niedriger Vitamin D-Status zur Pathogenese und/oder Symptomatik der CHI beitragen kann.

Studienziel: Im Rahmen einer placebo-kontrollierten, randomisierten Doppelblind-Studie wurde der Frage nachgegangen, wie sich eine Vitamin D-Supplementierung auf die Mortalitätsrate sowie auf verschiedene biochemische und klinische Parameter bei Patienten mit CHI auswirkt.

Material und Methoden: 123 Patienten mit Herzinsuffizienz erhielten randomisiert täglich 50 µg Cholecalciferol und 500 mg Calcium (Vitamin D-Gruppe, n=61) oder ein Placebo-Präparat und 500 mg Calcium (Placebo-Gruppe, n=62) über einen Zeitraum von 9 Monaten. Biochemische und klinische Parameter wurden zu Studienbeginn und nach 9 Monaten erfasst.

Ergebnisse: 93 Patienten konnten die Studie beenden. Signifikante Behandlungseffekte ergaben sich bezüglich der logarithmisch transformierten Plasmaspiegel an 25(OH)D (P=0,001), sowie der Serumkonzentration an Parathormon (PTH) (P=0,007), Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- α) (P=0,007) und Interleukin 10 (IL-10) (P=0,042).

Die 25(OH)D-Konzentrationen im Plasma stiegen in der Vitamin D-Gruppe um 67 nmol/L signifikant an, während es in der Placebo-Gruppe hingegen nur zu einem Anstieg von 9 nmol/L kam. Am Ende der Studie wiesen die Patienten der Vitamin D-Gruppe nach 9-monatiger Vitamin D-Supplementation niedrigere PTH-Konzentrationen und höhere IL-10-Konzentrationen im Serum auf als am Anfang der Studie. Des Weiteren kam es bei den Patienten, die ein Placebo erhielten, zu einem signifikanten Anstieg der TNF- α -Serumkonzentration, während der TNF- α -Spiegel in der Vitamin D-Gruppe konstant blieb. Die Mortalitätsrate unterschied sich während eines Follow-Up von 15 Monaten in beiden Behandlungsgruppen nicht voneinander (P>0,05).

Fazit: Vitamin D konnte das Zytokinprofil bei Patienten mit CHI verbessern und scheint somit eine anti-inflammatorische Wirkung zu haben. Dies könnte für die Zukunft neue therapeutische Möglichkeiten eröffnen. Ebenfalls kann angenommen werden, dass eine gestörte Vitamin D/PTH/Calcium-Achse zur Progression der CHI beiträgt.

Abstract

Background: Based on a previous study, which has shown, that patients with congestive heart failure (CHF) have considerably lower concentrations of the vitamin D metabolites 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) and calcitriol than age-matched healthy controls, it was hypothesized that low vitamin D status may contribute to the pathogenesis and/or symptomatology of CHF.

Objective: This double-blind, randomized, placebo-controlled trial was designed to evaluate the effect of vitamin D supplementation on survival rate and different biochemical and clinical parameters in patients with CHF.

Methods: One-hundred-twenty-three patients with CHF randomly received 50 µg vitamin D₃/d plus 500 mg calcium/d (vitamin D group, n=61) or a placebo plus 500 mg calcium/d (placebo group, n=62) for 9 months. Biochemical parameters were assessed at baseline and after 9 months.

Results: Ninety-three patients completed the study. Significant treatment effects were observed on the logarithmic transformed serum concentrations of 25(OH)D (P=0.001), parathyroid hormone (PTH) (P=0.007), tumor necrosis factor-α (P=0.006), and interleukin-10 (P=0.042). In detail, 25(OH)D increased by 67 nmol/L in the vitamin D group, but increased only by 9 nmol/L in the placebo group. Parathyroid hormone was lower and the anti-inflammatory cytokine interleukin-10 was higher in the vitamin D group after 9 months of vitamin D supplementation compared with baseline values. During that time interval, tumor necrosis factor-α increased in the placebo group but remained constant in the vitamin D group. Survival rate did not differ between the study groups during a follow-up period of 15 months (P>0.05).

Conclusions: Vitamin D₃ reduces the inflammatory milieu in CHF patients and might serve as a new anti-inflammatory agent for future treatment of the disease. Our data provide evidence for the involvement of an impaired vitamin D/PTH/calcium axis in the progression of CHF.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis.....	I
Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen	III
Tabellenverzeichnis:	III
Abbildungsverzeichnis:	V
1 Einleitung.....	1
1.1 Ziel der Studie.....	2
2 Theoretischer Teil.....	3
2.1 Chronische Herzinsuffizienz.....	3
2.2 Therapeutische Konzepte.....	7
2.3 Biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz.....	8
2.4 Klinische Parameter zur Erfassung der Herzfunktion	24
3 Material und Methoden	27
3.1 Probanden	27
3.2 Prüfpräparat	28
3.3 Studiendesign.....	28
3.4 Ethikkommission	29
3.5 Zielparameter	29
3.6 Analytische Methoden	30
3.7 Statistik	42
4 Ergebnisse.....	43
4.1 Basis-Charakteristika	43
4.2 Drop-out - Rate	44
4.3 Basisdaten der ausgeschiedenen Patienten	45
4.4 Zielparameter im Gruppenvergleich.....	46
5 Diskussion.....	56

6	Zusammenfassung	67
7	Literaturverzeichnis	70
8	Anhang.....	90
9	Danksagung	

Verzeichnis der Tabellen und Abbildungen

Tabellenverzeichnis:

Tab. 1:	Sterbefälle insgesamt sowie Sterbefälle an Herzinsuffizienz bei 45-65jährigen und bei Senioren über 75 Jahren in absoluten Zahlen im Jahre 2002 in Deutschland	1
Tab. 2:	NYHA-Klassifikation	3
Tab. 3:	Neue Stadieneinteilung der ACC/AHA	4
Tab. 4:	Stadien der Vitamin D-Versorgung gemäß der Plasmaspiegel an 25(OH)D	19
Tab. 5:	Ein- und Ausschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie	27
Tab. 6:	Zielparameter der Studie	30
Tab. 7:	Präzision der NT-proBNP-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen	31
Tab. 8:	Variationskoeffizient (VK) der NT-proANP-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen	32
Tab. 9:	Variationskoeffizienten (VK) der hsCRP-Bestimmung innerhalb einer Testreihe	33
Tab. 10:	Variationskoeffizienten (VK) der hsCRP-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen	33
Tab. 11:	Variationskoeffizienten (VK) der TNF- α -Bestimmung innerhalb einer Testreihe	34
Tab. 12:	Variationskoeffizienten (VK) der TNF- α -Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen	34
Tab. 13:	Variationskoeffizienten (VK) der IL-10-Bestimmung innerhalb einer Testreihe	35
Tab. 14:	Variationskoeffizienten (VK) der IL-10-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen	35
Tab. 15:	Variationskoeffizienten (VK) der 25(OH)D-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen	36
Tab. 16:	Variationskoeffizienten (VK) der Calcitriol-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen	37
Tab. 17:	Variationskoeffizienten (VK) der PTH-Bestimmung innerhalb einer Testreihe	39
Tab. 18:	Variationskoeffizienten (VK) der PTH-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen	39
Tab. 19:	Variationskoeffizienten (VK) der Phosphat-Bestimmung innerhalb einer Testreihe	40
Tab. 20:	Variationskoeffizienten (VK) der Phosphat-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen	40
Tab. 21:	Basis-Charakteristika der Studienteilnehmer [Median und Interquartile]	43

Tab. 22:	Biochemische und klinische Parameter der Studiengruppen und der ausgeschiedenen Patienten zu Studienbeginn [Median und Interquartile]	46
Tab. 23:	Biochemische und klinische Parameter der Studiengruppen im Studienverlauf [Median und Interquartile]	47
Tab. 24:	Saisonale Unterschiede der 25(OH)D-Plasmakonzentration bei allen CHI-Patienten zu Studienbeginn [Median und Interquartile]	50
Tab. 25:	Saisonale Unterschiede der 25(OH)D-Plasmakonzentration, getrennt nach Behandlungsgruppen am Studienende [Median und Interquartile]	50
Tab. 26:	PTH-Serumkonzentrationen aller Patienten [Median und Interquartile] bei verschiedenen 25(OH)D-Konzentrationen	51
Tab. 27:	Auswertung des Fragebogens	54

Abbildungsverzeichnis:

Abb. 1:	Ursachen der Herzinsuffizienz	5
Abb. 2:	Schematische Darstellung des „Circulus vitiosus“ bei der chronischen Herzinsuffizienz	6
Abb. 3:	Synthese des NT-proANP	10
Abb. 4:	Synthese des NT-proBNP	12
Abb. 5:	Schematische Darstellung der Stimuli, die im Herzen zu einer gesteigerten TNF- α -Synthese führen, sowie der nachgewiesenen myokardialen Effekte von TNF- α	16
Abb. 6:	Systole und Diastole des Ventrikels	25
Abb. 7:	Spiroergometrie	26
Abb. 8:	Die Bestimmung des Herz-Thorax-Quotienten = Herztransversaldurchmesser (C) : Thoraxtransversaldurchmesser (T)	26
Abb. 9:	PTH-Testprinzip	38
Abb. 10:	Flussdiagramm der Studienteilnehmer	45
Abb. 11:	Klassifizierung des Vitamin D-Status in der Vitamin D-Gruppe und der Placebo-Gruppe zu Studienbeginn	49
Abb. 12:	Klassifizierung des Vitamin D-Status in der Vitamin D-Gruppe und der Placebo-Gruppe zum Studienende	49
Abb. 13:	Kaplan-Meier-Überlebenskurve der CHI-Patienten, getrennt nach Behandlungsgruppe	53

1 Einleitung

Die Herzinsuffizienz ist hinsichtlich Morbidität und Mortalität eine der bedeutendsten Krankheiten in den Industriestaaten, unter der 1,5-3,5% der westlichen Bevölkerung leiden. Ungefähr 10 Millionen EuropäerInnen und 5 Millionen AmerikanerInnen sind von einer chronischen Herzinsuffizienz betroffen [1, 2]. Da die Herzinsuffizienz eine Erkrankung mit stetig ansteigender Bedeutung ist, die mit zunehmendem Alter gehäuft auftritt [3, 4], zeichnet sich entsprechend des demographischen Wandels eine größere Ausweitung der „Herzinsuffizienz-Epidemie“ ab [5]. Die große medizinische und soziale Bedeutung der Herzinsuffizienz erwächst sowohl aus ihrer Häufigkeit als auch aus einer schlechten Prognose. Denn trotz Evidenz-basierter Fortschritte in der Behandlung der Herzinsuffizienz in den letzten 15 Jahren [1], konnten große Beobachtungsstudien keine grundlegende Verbesserung der Prognose bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz aufzeigen. Die 5-Jahres-Überlebensrate nach Erstdiagnose einer chronischen Herzinsuffizienz liegt lediglich bei 35-50% [6-8]. Damit liegt die Mortalitätsrate höher als bei den meisten malignen Tumoren. Obgleich in den vergangenen Jahren ein Wandel in der medikamentösen Therapie stattgefunden hat und auch immer neue apparative oder operative Verfahren zur Behandlung dieser Erkrankung entwickelt werden, bleibt die Sterblichkeit hoch. Anhand Tabelle 1 wird veranschaulicht, dass die Anzahl der Sterbefälle an Herzinsuffizienz im Vergleich zu der Gesamtzahl aller Todesfälle mit zunehmendem Alter überproportional angestiegen ist.

Tabelle 1: Sterbefälle insgesamt sowie Sterbefälle an Herzinsuffizienz bei 45-65jährigen und bei Senioren über 75 Jahren in absoluten Zahlen im Jahre 2004 in Deutschland [9]

	Männer 45-65 Jahre	Männer > 75 Jahre	Frauen 45-65 Jahre	Frauen > 75 Jahre
Sterbefälle insgesamt	80.206	178.339	40.452	323.660
Sterbefälle Herzinsuffizienz	1.239	11.036	614	30.663

Quelle: Statistisches Jahrbuch 2005 für die Bundesrepublik Deutschland.

1.1 Ziel der Studie

Im Rahmen einer doppelblinden, placebo-kontrollierten, randomisierten, klinischen Interventionsstudie wird primär der Frage nachgegangen, inwieweit eine Vitamin D-Supplementierung biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz beeinflusst. Als Anlass für diese Studie werden frühere Ergebnisse einer kürzlich durchgeführten Untersuchung genommen, die gezeigt haben, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) erheblich niedrigere Plasmaspiegel der Vitamin D-Metabolite 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) und Calcitriol aufweisen als gesunde Kontrollpersonen gleichen Alters, sodass die Hypothese aufgestellt wurde, dass ein niedriger Vitamin D-Status zur Pathogenese und/oder der Symptomatik der CHI beitragen kann [10].

Das Ziel dieser Studie ist die Verfolgung folgender Fragestellungen:

- Ist es möglich, durch eine Supplementierung mit Vitamin D biochemische Parameter der Herzinsuffizienz (z.B. natriuretische Peptide, Zytokine, Parathormon) zu verbessern?
- Kann eine Vitamin D-Supplementierung klinische Parameter (z.B. linksventrikuläre Ejektionsfraktion, linksventrikulärer enddiastolischer Diameter, Herz-Thorax-Quotient) bei Patienten mit Herzinsuffizienz verbessern?
- Lässt sich die Mortalitätsrate bei herzinsuffizienten Patienten durch eine Vitamin D-Supplementierung vermindern?

2 Theoretischer Teil

2.1 Chronische Herzinsuffizienz

Pathophysiologisch ist das Herz bei der Herzinsuffizienz nicht mehr in der Lage, die Gewebe mit genügend Blut und damit genügend Sauerstoff zu versorgen, um den Gewebestoffwechsel in Ruhe oder unter Belastung sicherzustellen. Charakteristisch für die Herzinsuffizienz ist eine Abnahme der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF), d.h. des Verhältnisses von Schlagvolumen zu enddiastolischem Volumen. Klinisch liegt dann eine Herzinsuffizienz vor, wenn typische Symptome (Dyspnoe, Müdigkeit, Flüssigkeitsretention) bestehen, denen ursächlich eine kardiale Funktionsstörung zugrunde liegt.

Aufgrund der Minderdurchblutung des Herzens und der dadurch bedingten geringeren Sauerstoffversorgung kommt es zu Zyanosen, und die körperliche Leistungsfähigkeit nimmt ab. Ebenso kann es infolge eingeschränkter Fähigkeit der Niere, Wasser und Natrium in adäquater Menge auszuscheiden, zur Bildung von Ödemen kommen. Nachts versucht der Körper, die angesammelte Flüssigkeit durch erhöhte Urinausscheidung abzubauen, was sich in dem Symptom der Nykturie äußert. Gleichzeitig entsteht ein Rückstau des Blutes in der Lunge, der zur Dyspnoe führt.

Anhand dieser klinischen Symptomatik wird die Herzinsuffizienz seit 1928 nach den Richtlinien der New York Heart Association (NYHA) in vier Schweregrade eingeteilt, je nach der Anstrengung, die nötig ist, um bei einem Patienten Symptome hervorzurufen. Je schwerer die Herzinsuffizienz und je höher das NYHA-Stadium, desto höher die Mortalität.

Tabelle 2: NYHA-Klassifikation

Stadium I:	Herzerkrankung ohne Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Dyspnoe oder ungewöhnliche Erschöpfung werden nur durch große Belastungen wie Bergsteigen, nicht aber durch alltägliche körperliche Belastungen verursacht.
Stadium II:	Herzerkrankung mit leichter Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Normale alltägliche körperliche Belastungen (Treppensteigen, Einkaufen) verursachen Dyspnoe oder ungewöhnliche Erschöpfung.
Stadium III:	Herzerkrankung mit höhergradiger Einschränkung der körperlichen Leistungsfähigkeit. Geringe körperliche Belastungen (Gehen in der Ebene, Einkaufen) verursachen Dyspnoe oder ungewöhnliche Erschöpfung.
Stadium IV:	Herzerkrankung mit Atemnot in Ruhe oder bei minimaler Aktivität (Sprechdyspnoe, Zähneputzen).

Die Arbeitsgruppe für Herzinsuffizienz des American College of Cardiology (ACC) und der American Heart Association (AHA) legte Ende 2001 eine neue Stadieneinteilung der Herzinsuffizienz vor, die als Ergänzung der funktionellen NYHA-Stadieneinteilung gedacht ist [11]. Ziel der neuen Einteilung in vier Stadien ist es, die Entstehungsmechanismen und das Fortschreiten der Erkrankung hervorzuheben. Es wird damit ein Konzept aufgegriffen, das an dieser Stelle schon seit längerem propagiert wurde, um die Möglichkeit zur Prophylaxe der Herzinsuffizienz hervorzuheben.

Tabelle 3: Neue Stadieneinteilung der ACC/AHA

Stadium	Beschreibung	Strukturelle/ funktionelle Herzerkrankung	Symptome/ Zeichen der CHI	Beispiele
A	Asymptomatische Hochrisikopatienten für die Entwicklung einer CHI	Nein	Nein	Arterielle Hypertonie, KHK, Diabetes mellitus, Alkoholabusus, kardiotoxische Chemotherapie
B	Asymptomatische Patienten mit struktureller Herzerkrankung	Ja	Nein	LVH, LV Dilatation oder Dysfunktion, alte Infarktnarbe, Klappeninsuffizienz
C	Symptomatische (aktuell oder früher) Patienten mit struktureller Herzerkrankung	Ja	Ja	Dyspnoe oder Müdigkeit wegen eingeschränkter LV-Funktion; unter CHI-Therapie beschwerdefrei gewordene Patienten
D	Patienten mit fortgeschrittener struktureller Herzerkrankung und ausgeprägter Ruhe-CHI trotz maximaler medikamentöser Therapie	ja	ja	Häufige Rehospitalisation, Warteliste für HTX, LV-Assist Device, intravenöse Vasoaktiva

KHK: Koronare Herzerkrankungen; LVH: Linksventrikuläre Hypertrophie; HTX: Herztransplantation

Ätiologie

Die Ätiologie der Herzinsuffizienz ist noch weitgehend unklar. Eine CHI kann entstehen durch: (1) die chronische Druckbelastung des Herzens mit konsekutiver Myokardhypertrophie; (2) über den „Umweg“ einer koronaren Herzerkrankung mit Myokardinfarkt und Ausfall der kontraktiven Reserve. Die häufigste Ursache einer Herzinsuffizienz in westlichen Ländern ist die koronare Herzerkrankung (54-70%), die bei 35-52% dieser Patienten von einer arteriellen Hypertonie begleitet ist [12-16]. Deutlich seltener sind primäre oder sekundäre Kardiomyopathien mit globaler Einschränkung der Pumpfunktion, Herzklappenerkrankungen sowie entzündliche oder toxische Ursachen der kardialen Dysfunktion (Abb. 1).

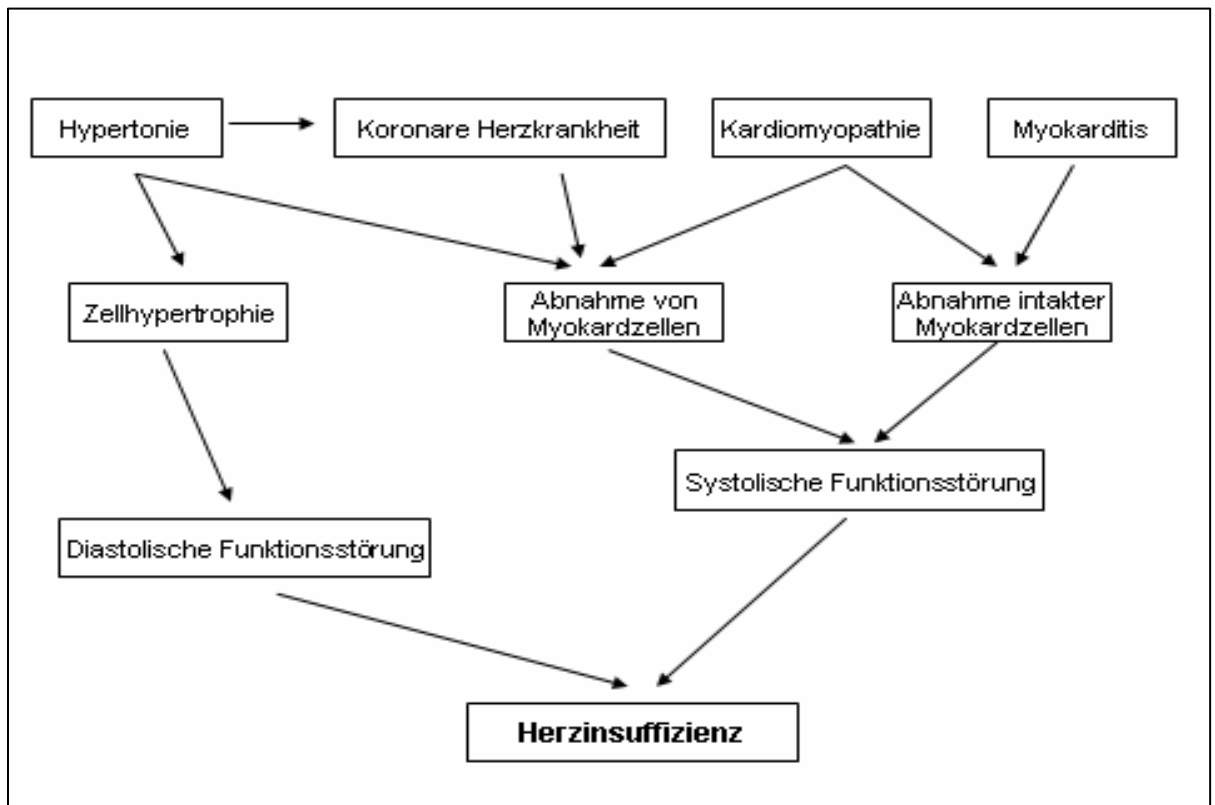


Abbildung 1: Ursachen der Herzinsuffizienz

Pathophysiologie und Kompensationsmechanismen

Die Pathophysiologie der Herzinsuffizienz ist komplex. Lange wurde die CHI als ein rein myokardiales Problem betrachtet, das durch Symptome infolge einer gestörten Pumpleistung charakterisiert ist. Im Verlauf zeigte sich jedoch, dass die Symptomatik und die peripheren Störungen überwiegend auf neuroendokrinen Mechanismen beruhen [17-19]. Daher ist die CHI nicht ausschließlich eine Erkrankung des Herzens, sondern gleichzeitig eine schwere Systemerkrankung, sodass es nicht nur zu lokalen, sondern auch zu systemischen Adaptationsmechanismen kommt. Die oft erst spät oder anfangs nur unter Belastung auftretenden Symptome sind Ausdruck der bereits angelaufenen Adaptationsmechanismen.

Nach einer initialen myokardialen Schädigung (Druck-/Volumenüberlastung, Gewebeverlust) kommt es – mit dem Ziel der Aufrechterhaltung eines bedarfsgerechten Schlagvolumens – kompensatorisch zu einer ventrikulären Dilatation und einem ventrikulären Remodeling mit Myozytenhypertrophie [20]. Die ventrikuläre Dilatation führt über einen dehnungsinduzierten

programmierten Zelltod (Apoptose) zu einer weiteren Dilatation und somit zu einer progredienten Myokardschädigung [21]. Zur Kompensation der reduzierten kardialen Pumpleistung und als Folge der Minderperfusion lebenswichtiger Organe entsteht zudem systemisch eine neuroendokrine Aktivierung, d.h. Aktivierung des sympathischen Nervensystems und Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS), erhöhte Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO), natriuretischen Peptiden, Vasopressin und Zytokinen, erhöhter Plasmaendothelspiegel [22-26]. Aus dieser neuroendokrinen Aktivierung resultieren periphere Vasokonstriktion, Flüssigkeitsretention, Arrhythmieneigung und Katecholaminrefraktärität des Herzens sowie klinisch eine Zunahme der Symptomatik des Patienten [27]. Darüber hinaus begünstigen Angiotensin II und eine Adrenozeptorenstimulation weiterhin einen Zelltod durch Apoptose und Nekrose [28, 29].

Die CHI stellt somit einen dynamischen Prozess dar, bei dem die initial günstigen Kompensationsmechanismen langfristig in einem „Circulus vitiosus“ zu einer weiteren kardialen Funktionsverschlechterung und damit Progression der Erkrankung beitragen [30, 31] (Abb. 2).

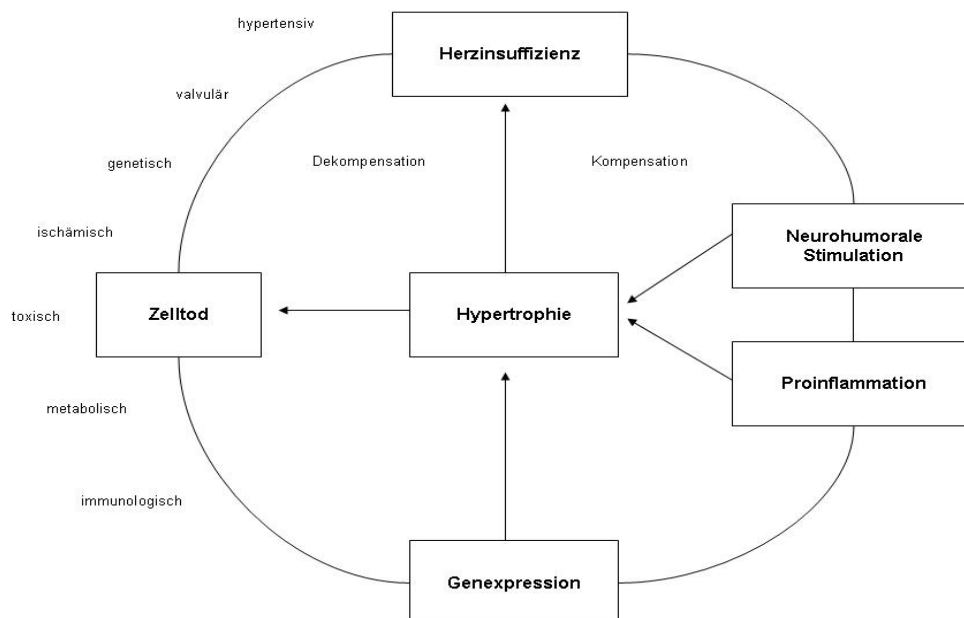


Abbildung 2: Schematische Darstellung des „Circulus vitiosus“ bei der chronischen Herzinsuffizienz [32]

In den vergangenen Jahren ist das pathophysiologische Verständnis um die Erkenntnis bereichert worden, dass neben der Hämodynamik und der neurohumoralen Überstimulation eine Aktivierung des Immunsystems mit überschießender Freisetzung pro-inflammatorischer Zytokine, v.a. Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- α), ebenfalls möglicherweise den Progress der CHI ungünstig zu beeinflussen scheint [7, 33-36]. Des Weiteren zeigen die Ergebnisse jüngerer Zeit, dass es im Verlauf der Herzinsuffizienz zur Entwicklung einer chronischen Entzündung kommt. So konnten Entzündungszellen im Myokard gefunden sowie deren Mediatoren lokal im Myokard und zirkulierend im Blut nachgewiesen werden. Damit könnten entzündliche Komponenten möglicherweise eine ursächliche Rolle bei den funktionellen und strukturellen Veränderungen spielen, die im Rahmen der chronischen Herzinsuffizienz mit zunehmender Einschränkung der kardialen Funktion und Voranschreiten der Symptome einhergehen, und für den Verlauf mit entscheidend sein.

Insgesamt lässt sich sagen, dass die CHI nicht mehr nur eine hämodynamische Erkrankung ist, sondern sich als komplexes Bild neurohumoraler, immunologischer und metabolischer Veränderungen präsentiert. Dabei ist die neurohumorale Aktivierung die derzeitige Grundsäule im pathophysiologischen Verständnis der CHI.

2.2 Therapeutische Konzepte

Ziel therapeutischer Maßnahmen ist es, die Symptomatik und die Prognose zu verbessern, die Progression der Herzinsuffizienz zu hemmen, die Hospitalisationsrate abzusenken und die Mortalität zu reduzieren. Eine ganze Reihe systemischer wie auch gewebsständiger neurohumoraler Systeme sind bei der CHI abnormal aktiviert – sowohl unter Ruhebedingungen als auch unter Belastung. Entscheidende Fortschritte in der Therapie wie die Einführung von Betablockern, ACE (Angiotensin-Converting Enzyme)-Inhibitoren und AT₁ (Angiotensin II)-Antagonisten basieren auf dieser Erkenntnis der neurohumoralen Aktivierung und bilden die Grundsäulen der heutigen CHI-Therapie. Daneben zählen auch Diuretika und Digitalis-Glykoside im Rahmen der symptomatischen Behandlung zur Basistherapie. Ein weiterer therapeutischer Ansatzpunkt an der neuroendokrinen Achse ist die Therapie mit Aldosteronantagonisten. Da auch inflammatorische Prozesse kausal zur Progression der Herzinsuffizienz beitragen können, zielt ein neues Therapiekonzept auf die Inhibition pro-inflammatorischer Zytokine, wie TNF- α , ab. Obwohl erste große klinische

Studien mit einer gezielten Antagonisierung des TNF- α bisher keinen signifikanten Erfolg zeigten [37, 38], ist das Konzept der immunmodulierenden Therapie der CHI weiterhin von höchstem Interesse. So ist auch eine Veränderung des inflammatorischen Milieus im Gewebe derzeit Gegenstand klinischer Studien. Bisher abgeschlossene Untersuchungen konnten durch eine Immunmodulation zu einer Verminderung pro-inflammatorischer Zytokine, wie Interleukin 1 β (IL-1 β), und Steigerung anti-inflammatorischer Zytokine, wie Interleukin 10 (IL-10), führen [39] sowie die Mortalität und Hospitalisierung verringern [40].

2.3 Biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz

Im Rahmen dieser Studie wird der Einfluss einer Vitamin D-Supplementierung auf folgende biochemische Indikatoren, die mit der Herzinsuffizienz im Zusammenhang stehen, untersucht:

- Natriuretische Peptide (NT-proANP, NT-proBNP)
- C-reaktives Protein
- Zytokine (TNF α , IL-10)
- Vitamin D-Metabolite (25(OH)D, Calcitriol)
- Calcium
- Parathormon (PTH)

Daher werden im folgenden die entsprechenden, einzelnen biochemischen Parameter, die durch die Verabreichung von Vitamin D beeinflusst werden könnten, näher erläutert.

Natriuretische Peptide

Die mit einer Herzinsuffizienz einhergehende Überdehnung des Myokards als Folge einer Volumenexpansion veranlasst die Kardiomyozyten zur Synthese und Ausschüttung verschiedener strukturell und funktionell homologer Peptidhormone in den Kreislauf [41-43]. Hierzu zählen insbesondere das atriale natriuretische Peptid (ANP) und das brain natriuretische Peptid (BNP). Die strukturell sehr ähnlichen, relativ kleinen natriuretischen Peptide (22-32 Aminosäuren) werden von verschiedenen Genen kodiert. Sie enthalten C-terminal alle einen Peptidring aus 17 Aminosäuren, der mit einer Disulfidbrücke verbunden ist und für ihre Hormonwirkung essentiell ist. Über diesen Peptidring binden sie an

spezifische Zellrezeptoren, um entweder ihre physiologischen Effekte auszulösen oder aber intrazellulär abgebaut zu werden. Es sind zurzeit insgesamt drei verschiedene natriuretische Peptidrezeptoren (NPR) charakterisiert. NPR-A, der hauptsächlich in den Endothelien der großen Gefäße sowie in Nebenniere und Niere vorkommt und über den ANP und BNP spezifisch gebunden werden sowie NPR-B, der vorwiegend im Gehirn lokalisiert ist und der hauptsächlich in der Niere gefundene NPR-C [44]. Die Rezeptoren NPR-A und NPR-B sind transmembranäre Proteine mit einer extrazellulären Bindungsstelle für die natriuretischen Peptide und einer intrazellulären Guanylatzyklase, die nach Ligandbindung aktiviert wird. Dies führt zu einer vermehrten Bildung von zyklischem Guanosinmonophosphat (cGMP) als second messenger, was wiederum eine cGMP-abhängige Proteinkinase (PKG) aktiviert, die dann die Aktivität spezifischer Proteine durch Phosphorylierung am Serin oder Threonin reguliert.

Der Rezeptor NPR-C fungiert als Clearance-Rezeptor, der die natriuretischen Peptide endozytiert und dem lysosomalen Abbau zuführt, wobei er selbst wieder zur Zellmembran zurück transportiert wird [45]. Neben dem rezeptorvermittelten Abbau werden die natriuretischen Peptide auch durch die membrangebundene, extrazellulär ausgerichtete, Zink-abhängige neutrale Endopeptidase (NEP) abgebaut, die hauptsächlich in Niere, Lunge und Gefäßendothelzellen vorhanden ist [46]. Über diese beiden Mechanismen erfolgt eine relativ schnelle Elimination der natriuretischen Peptide aus dem Plasma. Wegen unterschiedlicher Affinitäten zum Clearance-Rezeptor und zur NEP ist allerdings die biologische Halbwertszeit (HWZ) der N-terminalen (NT) Peptide mit einer HWZ von 60-120 Minuten höher als die von BNP (20 Minuten) und ANP (3 Minuten) (NT-proBNP>NT-proANP>BNP>ANP). Deswegen liegen die Plasmakonzentrationen von NT-proBNP und NT-proANP um das 10-50fache über denen der physiologisch aktiven Hormone [47, 48].

Die natriuretischen Peptide sind die natürlichen Gegenspieler des RAAS und der adrenergen Stimulation bei Patienten mit Herzinsuffizienz. Sie wirken vasodilatierend, natriuretisch und diuretisch [25, 48, 49]. In Abhängigkeit von den Zielzellen resultiert eine verstärkte Natriuresis (Hemmung der tubulären Natrium-Rückresorption durch Hemmung der apikalen Natriumkanäle und der basolateralen Natrium-/Kalium-ATPase), eine Erhöhung der glomerulären Filtrationsrate (Dilatation der afferenten und Konstriktion der efferenten Gefäße), eine Hemmung der Aldosteronfreisetzung in der Nebennierenrinde, eine Hemmung der Renin-Sekretion und eine allgemeine Vasodilatation (Hemmung der Endothelin-Freisetzung) [50, 51]. Da ANP und BNP beide am NPR-A-Rezeptor binden und den gleichen

cGMP-PKG-Signaltransduktionsweg nutzen, ist ihre natriuretische Potenz vergleichbar. Darüber hinaus üben die natriuretischen Peptide eine antiproliferative, antihypertrophe und antimitogene Aktivität auf das kardiovaskuläre System aus [52, 53].

Die natriuretischen Peptide spielen eine wichtige Rolle für die Aufrechterhaltung des kompensierten Zustandes bei Herzinsuffizienz und sind deshalb auch bei asymptomatischer Herzinsuffizienz im Plasma erhöht. Im Laufe der Herzinsuffizienz verlieren die natriuretischen Peptide trotz hoher Plasmaspiegel wegen einer sich entwickelnden Resistenz des Zielgewebes (Nierentubuli) ihre Wirkung. Die Resistenz ist wahrscheinlich das Resultat einer Downregulation der Rezeptoren und einer erhöhten cGMP-Phosphodiesterase-Aktivität [54].

NT-proANP

ANP wird fast ausschließlich von den Kardiomyozyten des Atriums synthetisiert und in Abhängigkeit des intraatrialen Volumens freigesetzt [55]. Die Biosynthese erfolgt aus einem Prohormon (proANP), das nach Abspaltung eines Signalpeptids aus dem prä-proANP entsteht und in Granulae gespeichert wird (Abb. 3). Während der Freisetzung aus den Sekretionsvesikeln wird das proANP proteolytisch wahrscheinlich durch die Serinprotease Corin zu gleichen Teilen in das C-terminale, physiologisch aktive Hormon (ANP) und das N-terminale Peptid (NT-proANP) gespalten und freigesetzt [56]. NT-proANP bewirkt eine Stimulierung der Natriurese über eine Prostaglandin-E₂ (PGE₂)-vermittelte Hemmung der basolateralen Na⁺/K⁺-ATPase.

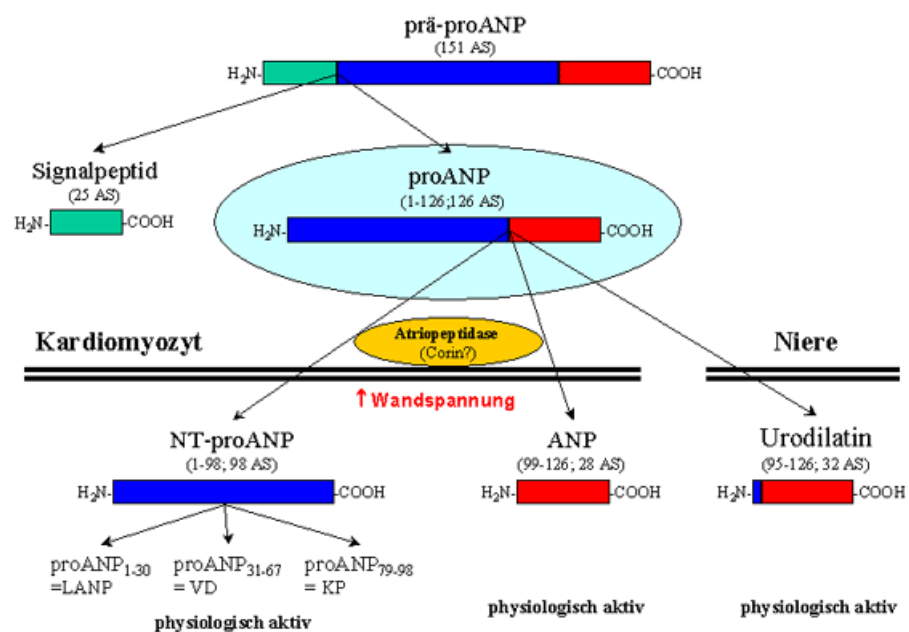


Abbildung 3: Synthese des NT-proANP

Bei Volumenexpansion sowie Drucksteigerungen im Vorhof und Ventrikel steigen die Plasmaspiegel an proANP an. Patienten mit veränderter linksventrikulärer Hämodynamik weisen deutlich höhere Plasmaspiegel an allen proANP-Fragmenten auf [57, 58] als Patienten mit normaler Herzfunktion [59].

Es konnte ebenfalls beobachtet werden, dass NT-proANP signifikant mit echokardiographischen Messungen der linksventrikulären Struktur und der Leistung sowie der Funktion von Aorten- und Mitralklappen korreliert [60-62]. Des Weiteren stellte sich sowohl bei Patienten mit kardiovaskulären Störungen als auch bei der gesamten Bevölkerung eine Korrelation zwischen proANP und der Mortalität heraus [63-66]. Basierend auf diesen Befunden dient proANP daher der Identifikation von Patienten mit einer asymptomatischen Herzinsuffizienz [67], als Marker zur Objektivierung des Schweregrades und zur Risikostratifikation bei der CHI [68-72].

NT-proBNP

NT-proBNP wird in Folge von Dehnungsreizen und neurohumoraler Stimulierung hauptsächlich von Kardiomyozyten im linken Ventrikel synthetisiert und in die Blutbahn sezerniert [73, 74]. Im Gegensatz zu proANP wird proBNP erst bei länger andauernder Volumenexpansion des Ventrikel aktiviert [75]. Die Biosynthese erfolgt ähnlich wie beim ANP durch proteolytische Spaltung des Prohormons proBNP in das C-terminale, physiologisch aktive BNP und das inaktive N-terminale proBNP (NT-proBNP), die beide in äquimolaren Mengen in die Blutzirkulation abgegeben werden (Abb. 4). Im Gegensatz zum proANP ist das proBNP aber nur in geringerem Umfang in Sekretionsvesikeln gespeichert. Die Regulation der BNP-Synthese und Sekretion findet hauptsächlich auf transkriptionaler und posttranskriptionaler (Beeinflussung der BNP-mRNA-Stabilität) Ebene statt. Kürzlich konnte auch gezeigt werden, dass auch Herzfibroblasten in der Lage sind, BNP zu produzieren [76].

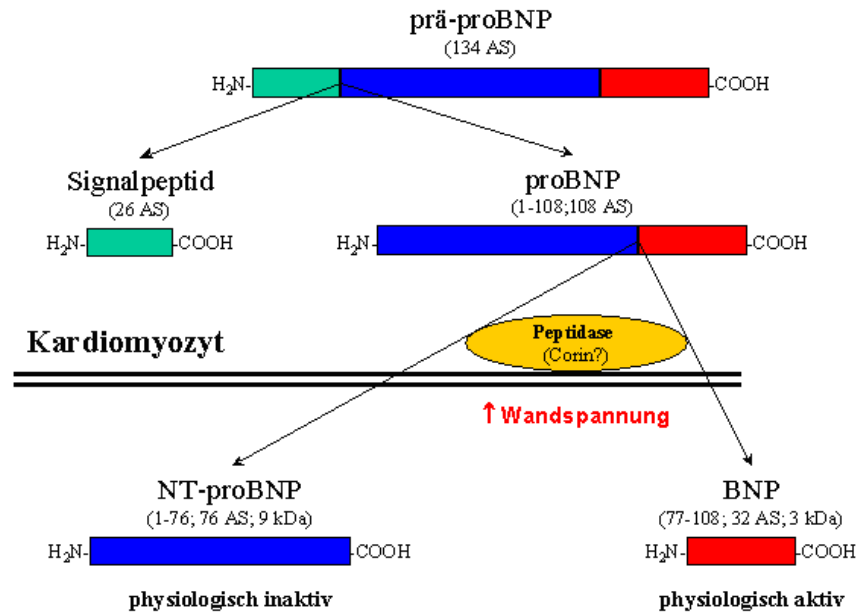


Abbildung 4: Synthese des NT-proBNP

Die physiologischen Effekte des BNP sind konzentrationsabhängig. In geringeren Konzentrationen (1,5-3fache der normalen Serumkonzentration) stimuliert BNP hauptsächlich die Natriurese und wirkt ähnlich wie das ANP, während bei höheren Konzentrationen (20fache der normalen Serumkonzentration) eine Stimulierung des renalen Blutflusses und der glomerulären Filtrationsrate im Vordergrund steht.

Die Bestimmung der Plasmakonzentration von NT-proBNP erlaubt eine Identifikation herzinsuffizienter Patienten bereits schon im asymptomatischen Stadium NYHA I [77-80], eine Objektivierung des Schweregrades der kardialen Funktionseinschränkung [81], ein Monitoring des Krankheitsverlaufes mit prognostischer Aussagekraft [82-84] und eine Risikostratifikation [83-86]. Die NT-proBNP-Spiegel sind bei herzinsuffizienten Patienten mit stark eingeschränkter linksventrikulärer Funktion gegenüber gesunden Personen deutlich erhöht [87, 88] und steigen mit zunehmendem Schweregrad und sinkender linksventrikulärer Ejektionsfraktion teilweise überproportional stark an [89-91]. Somit fungiert NT-proBNP als wichtiger diagnostischer und prognostischer Parameter bei CHI-Patienten [92]. Ein erhöhter NT-proBNP-Spiegel stellt eine unabhängige Einflussgröße auf die Mortalitätsrate bei Patienten mit linksventrikulärer Dyfunktion dar [72, 84, 93-95]. In zahlreichen Studien konnte festgestellt werden, dass NT-proBNP ein starker prognostischer Prädiktor sowohl der 1-Jahres-Mortalität [84, 93, 96] als auch des plötzlichen Herztodes [97] bei herzinsuffizienten Patienten ist, unabhängig von der systolischen Funktion, NYHA-Stadium, Alter und

Geschlecht [98]. Ebenso dient NT-proBNP als unabhängiger Prädiktor für das Rehospitalisierungsrisiko [99, 100] bei CHI-Patienten.

Eine weitere Indikation zur NT-proBNP-Bestimmung ist die Überprüfung der Effektivität eines medikamentösen Therapieschemas mit Reduktion der NT-proBNP-Konzentration bei Verbesserung der Myokardfunktion [101-104].

Vergleich der natriuretischen Peptide

Die natriuretischen Peptide wurden in die aktuellen Empfehlungen der Europäischen Gesellschaft für Kardiologie zur Diagnose der Herzinsuffizienz aufgenommen [2]. Sie dienen ebenfalls als aussagekräftige Prognosemarker, unabhängig von echokardiographischen Messungen [68, 89]. Die zirkulierende Konzentration von NT-proANP reflektiert primär die Vorhofbelastung und muss nicht zwangsläufig auf eine linksventrikuläre Dysfunktion hinweisen [105], während NT-proBNP nahezu ausschließlich aus dem linken Ventrikel in die Blutbahn freigesetzt wird und die ventrikuläre Wandspannung widerspiegelt. Somit scheint NT-proBNP als Herzinsuffizienz-Marker für die Beurteilung und Risikostratifizierung einer linksventrikulären Funktionsstörung, der quantitativ bedeutendsten Ursache einer Herzinsuffizienz, dem NT-proANP überlegen [42, 82, 89, 106-108].

Außerdem ist NT-proBNP sensitiver und stabiler, zeigt keine zirkadiane Rhythmik und weist eine wesentlich längere Halbwertszeit im Vergleich zum NT-proANP auf, welches für den Einsatz in der klinischen Routine vorteilhaft ist [25, 47, 48, 109]. Daher scheint NT-proBNP besser als NT-proANP zur Prognoseeinschätzung geeignet zu sein.

C-reaktives Protein

Das C-reaktive Protein (CRP) ist ein aus fünf identischen Untereinheiten zusammengesetztes nichtglykolisiertes polymeres Protein und zählt zu den so genannten Akut-Phase-Proteinen. Darunter versteht man eine Gruppe von Proteinen, deren Plasma- bzw. Serumkonzentration während entzündlicher Erkrankungen um mindestens 25% zu- bzw. abnimmt. Die Serumkonzentration von CRP stellt ein verlässliches Maß für Entzündungsreaktionen dar. Die Synthese und Sekretion von CRP in der Leber wird durch die pro-inflammatorischen Zytokine TNF- α und IL-6 induziert. Es ist bekannt, dass CRP spezifisch Phosphocholin, die hydrophile Komponente von Phosphatidcholinen in der Zellmembran erkennen kann. Die

Bindung von CRP an die Zellwand aktiviert Komplement über den klassischen Mechanismus und stimuliert Makrophagen und andere Zellen zu phagozytieren.

CRP hat als Entzündungsmarker im Rahmen kardiovaskulärer Erkrankungen eine hohe klinische Relevanz erlangt. In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass das Risiko für zukünftige kardiovaskuläre Ereignisse mit der Höhe des zirkulierenden CRP assoziiert ist [110-114]. Dabei liegen die „erhöhten“ CRP-Spiegel im Bereich der Referenzwerte von 1-10 mg/L und damit bei weitem unter den CRP-Erhöhungen, die sich bei akuten entzündlichen Erkrankungen messen lassen. Des Weiteren sind erhöhte CRP-Spiegel mit einer erhöhten Mortalitätsrate assoziiert und ebenso mit einer verminderten therapeutischen Ansprechbarkeit [115].

Zytokine

Zytokine sind regulatorische Peptide/Proteine bzw. Glykoproteine, die von Leukozyten oder anderen Körperzellen sezerniert werden und über autokrine oder parakrine Mechanismen Zellwachstum, Differenzierung oder Funktionen verschiedener Zellpopulationen beeinflussen. Es werden pro-inflammatorische und anti-inflammatorische Zytokine unterschieden, die sich normalerweise im Gleichgewicht befinden.

In Abhängigkeit von einem Stimulus oder einer speziellen Erkrankung werden Zytokine nicht isoliert produziert, sondern befinden sich in einem Zusammenspiel zahlreicher freigesetzter Mediatoren. Diese können mit der Immunreaktion positiv und negativ interagieren bzw. andere Zytokine induzieren und deren Produktion inhibieren [116].

Auch bei verschiedenen kardialen Erkrankungen besitzen Zytokine als wichtige Mediatoren des Immunsystems eine pathophysiologische Bedeutung, so nicht nur bei der Myokarditis als offensichtlich entzündliche Erkrankung, sondern auch bei der Herzinsuffizienz. Sie wirken dabei direkt oder indirekt auf das Herz. So können sie zum Zelluntergang (Nekrose, Apoptose) oder auch zu Reparationsvorgängen führen. Zytokine haben in den letzten Jahren zunehmend das wissenschaftliche Interesse im Rahmen der Herzinsuffizienz geweckt [117, 118]. Verschiedenste Beobachtungen lassen vermuten, dass diese Immunmodulatoren nicht nur Folge der Herzinsuffizienz sind, sondern ursächlich eine große Rolle bei deren Pathogenese spielen.

Bei Patienten mit Herzinsuffizienz werden erhöhte Zytokinkonzentrationen nicht nur im Myokard, sondern ebenfalls häufig im Serum beobachtet [33, 118, 119]. Im Rahmen erhöhter Serumkonzentrationen an pro-inflammatorischen Zytokinen trägt vor allem TNF- α zur Pathogenese und Progression der CHI bei [7, 34, 120, 121].

Zahlreiche Aspekte des Syndroms Herzinsuffizienz sind durch die bekannten biologischen Effekte von Zytokinen erklärbar: Pro-inflammatorische Zytokine verschlimmern das hämodynamische Ungleichgewicht, wirken teilweise negativ inotrop, führen zur linksventrikulären Hypertrophie, verursachen eine Zerstörung von Kardiomyozyten und dadurch die myokardiale Fibrose und fördern die Produktion von wiederum mehr Zytokinen, die diesen Teufelskreis dann fortsetzen. Daher scheint bei der CHI das Gleichgewicht zwischen pro- und anti-inflammatorischen Zytokinen zu Ungunsten der anti-inflammatorischen Zytokine zerstört zu sein [122]. Die Orte der Zytokinproduktion sowie die Rolle und Bedeutung, die ihnen jeweils im Gesamtbild der Herzinsuffizienz zukommen, sind dabei noch nicht eindeutig geklärt.

In diesem Zusammenhang verdichten sich die Hinweise, dass Maßnahmen, die die negativen Auswirkungen pro-inflammatorischer Zytokine auf die Progression der Herzinsuffizienz vermindern können, derzeit potentielle neue, therapeutische Optionen in der Behandlung der CHI darstellen könnten. In den letzten Jahren haben Zytokine daher nicht nur enorm an klinischer, sondern vor allem auch an therapeutischer Bedeutung gewonnen. In diesem Rahmen wird durch Verabreichung von speziellen Zytokinen bzw. Zytokin-Antagonisten versucht, eine bestehende Zytokin-Disbalance, die zur Progression der Herzinsuffizienz beiträgt, auszugleichen und damit die Erkrankung zu therapieren. So führten die im Rahmen der Herzinsuffizienz erhöhten Spiegel von TNF- α und dessen langfristig schädigende Wirkung auf das Myokard zu dem Versuch, TNF- α -Rezeptor-Antagonisten in der Behandlung der Herzinsuffizienz einzusetzen [123, 124]. Eine Verbesserung der kardialen Funktion bei herzinsuffizienten Patienten führte gleichzeitig zu einer deutlichen Reduktion der TNF- α -Serumspiegel [125]. Auch in einer kleineren Phase-I-Studie zeigte sich zwar ein positiver Effekt der Therapie mit TNF- α -Antagonisten auf die Symptome von Patienten mit Herzinsuffizienz [124]; zwei große Studien mit TNF- α -Antagonisten bei Patienten mit NYHA I-IV wurden jedoch wegen eines fehlenden günstigen Effektes abgebrochen [126]. Möglicherweise ist dies auf eine unbalancierte Blockade von pro-inflammatorischen Signalen zurückzuführen, die zwar Bedeutung für das Fortschreiten der Herzinsuffizienz haben, die aber andererseits auch wirksame Kompensationsmechanismen steuern können.

Das komplexe Interaktionsmuster von Zytokinen und die Induktion von Zytokinkaskaden mit agonistischen und antagonistischen Mediatoren lassen daher die therapeutische Effizienz von Zytokinen bzw. Zytokinantagonisten im klinischen Einsatz allerdings häufig nur schwer voraussagen; das gleiche gilt für das Nebenwirkungsprofil.

Tumor-Nekrose-Faktor- α

TNF- α ist ein pro-inflammatorisches Molekül, welches primär in Makrophagen gebildet wird, und dadurch nahezu in jedem Organ freigesetzt werden kann [127]. Darüber hinaus wurde nachgewiesen, dass das Myokard selbst in der Lage ist, TNF- α zu synthetisieren [128, 129]. Während TNF- α im gesunden Myokard nicht exprimiert wird [34, 130], wird seine Bildung akut durch eine Reihe von Stressfaktoren induziert, die möglicherweise zur Entstehung der CHI beitragen: Druckbelastung des Myokards und Dehnung von Kardiomyozyten [130], oxidativer Stress [131] und myokardiale Ischämie oder Infarzierung [132] (Abb. 5).

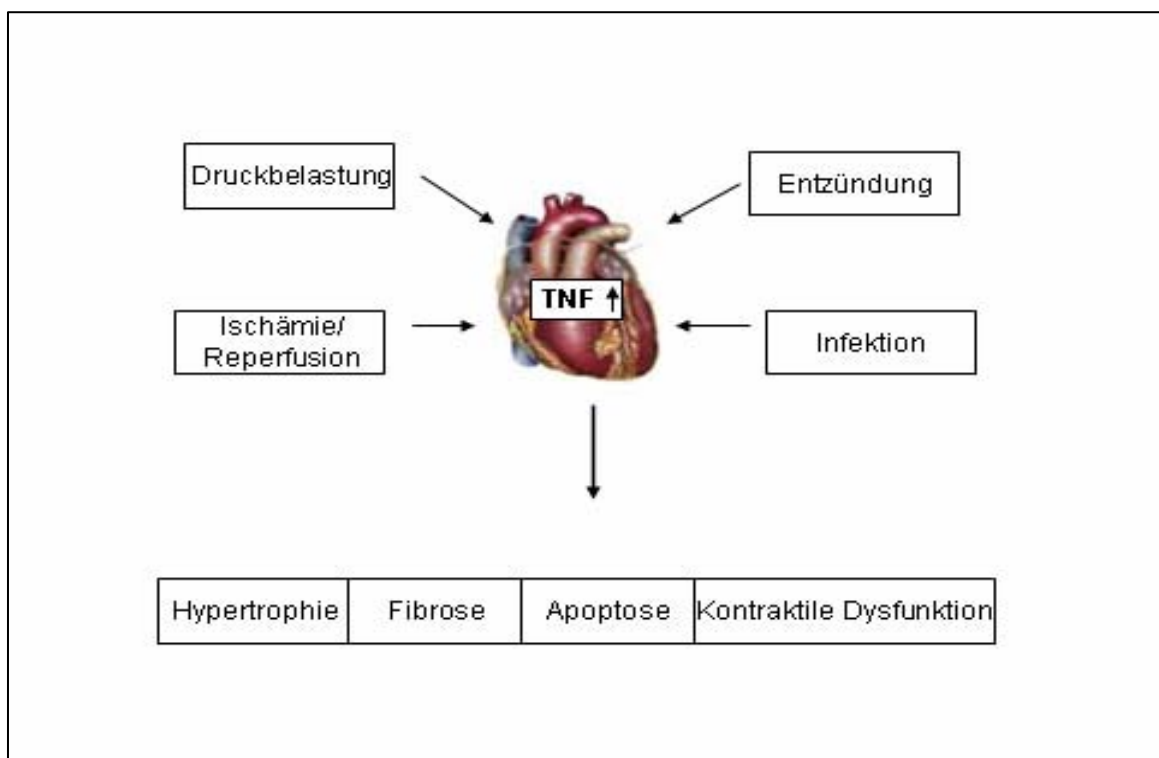


Abbildung 5: Schematische Darstellung der Stimuli, die im Herzen zu einer gesteigerten TNF- α -Synthese führen, sowie der nachgewiesenen myokardialen Effekte von TNF- α .

Die kardiale Freisetzung von TNF- α ist nach dieser Hypothese eine Ursache für die nachgewiesene Erhöhung zirkulierender TNF- α -Serumspiegel bei Patienten mit CHI [33].

Dabei besteht eine Korrelation zwischen den zirkulierenden TNF- α -Serumkonzentrationen und der Herzinsuffizienz [128]. Da TNF- α eine Reihe von phänotypischen Veränderungen induziert, wie sie für die Herzinsuffizienz charakteristisch sind, darunter linksventrikuläre kontraktile Dysfunktion, linksventrikuläres Remodeling, Lungenödem und Kardiomyopathie [133-135], ist es naheliegend, dass TNF- α eine Schlüsselposition in der Pathogenese der Herzinsuffizienz zukommt.

Die Bedeutung von TNF- α für die Ausbildung einer Myokardhypertrophie wurde durch Experimente an isolierten adulten Katzenkardiomyozyten herausgestellt, in denen TNF- α konzentrationsabhängig zu einer Zunahme der Proteinsyntheserate und zu einer Zunahme von β -Aktin- und α -Myosinschwerkettenprotein führte [136]. Transgene Mausmodelle mit einer myokardspezifischen Überexpression von TNF- α zeigten darüber hinaus, dass eine chronische TNF- α -Überexpression zu einer linksventrikulären Dilatation und Dysfunktion sowie zur Herzinsuffizienz führt [35, 137-140]. Dabei waren das Ausmaß und der Progress der Dysfunktion abhängig vom Grad der Überexpression [140]. Ebenso wurde eine durch TNF- α induzierte Apoptose in einer Reihe von Zelltypen nachgewiesen [141], darunter an isolierten Rattenkardiomyozyten [142]. Weiter konnten für TNF- α u.a. eine suppressive Wirkung auf die Kontraktilität [143], eine β -Rezeptoren-Desensibilisierung [144] und Veränderungen im myokardialen Calciumstoffwechsel gezeigt werden [135].

Der Zusammenhang zwischen der Prognose für das Überleben bei Herzinsuffizienz und der Höhe zirkulierender pro-inflammatorischer Zytokine konnte nachgewiesen werden. So konnte gezeigt werden, dass die Höhe des zirkulierenden TNF- α eine härtere und genauere prognostische Aussagekraft besitzt als die bisher zur Prognoseabschätzung genutzten konventionellen hämodynamischen und klinischen Parameter [7]. Die zirkulierenden Spiegel der Immunmodulatoren und der Grad deren Expression korrelieren dabei eng mit dem Schweregrad der Herzinsuffizienz. Dabei werden die Zytokine in früheren Stadien der Herzinsuffizienz aktiviert als die klassischen neurohumoralen Faktoren, wie z.B. Angiotensin [145]. Erhöhte TNF- α Spiegel bei herzinsuffizienten Patienten ($> 6,6$ pg/ml) gelten als unabhängige Prädiktoren der Mortalität [128, 146].

Interleukin-10

IL-10 wird von aktivierten Makrophagen und Lymphozyten sezerniert und besitzt sowohl anti-inflammatorische, als auch immunsuppressive Eigenschaften [147]. Es inhibiert den nukleären Faktor-(NF-) κ B, den zentralen Transkriptionsfaktor in der Entzündungskaskade, und supprimiert die Zytokinproduktion in Monozyten [148]. Ebenso hemmt IL-10 auch die zytotoxische Potenz von Makrophagen, insbesondere die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen wie TNF- α und die zellvermittelte Immunreaktion [149]. Daher werden dem IL-10 kardioprotektive Eigenschaften zugesprochen [149, 150].

Die Hemmung der TNF- α -Produktion und der Immunreaktion vom verzögerten Typ eröffnet für IL-10 neue therapeutische Optionen für die Suppression von zytokinassozierten Nebenwirkungen und für die zukünftige Behandlung der Herzinsuffizienz.

Beteiligung von Vitamin D bei der Herzinsuffizienz

Neben der Aufrechterhaltung der systemischen Calciumhomöostase spielt der aktive Vitamin D-Metabolit Calcitriol auch für die intrazelluläre Calciumhomöostase im Herzmuskel eine wichtige Rolle. Dabei wird die zelluläre Wirkung von Calcitriol analog zur Wirkungsweise anderer Steroidhormone entweder über einen genomischen Wirkmechanismus durch Bindung an ein nukleäres Rezeptorprotein, den Vitamin D-Rezeptor, vermittelt, wobei dieser Hormon-Rezeptor-Komplex über Bindung an spezifische DNS-Sequenzen Transkription und Translation der Zielzelle beeinflusst, oder über einen nicht-genomischen Mechanismus durch Bindung an ein membranständiges Rezeptorprotein unter Aktivierung von Secondmessenger-Mechanismen [151-154]. Sekundär können die nicht-genomischen Effekte wiederum in die genomisch wirksame Signaltransduktion einfließen [155]. So wird beispielsweise der Calcium-Einstrom in den Herz- und Skelettmuskel durch Calcitriol sowohl über den genomischen [156, 157] als auch über den nicht-genomischen Mechanismus stimuliert [158, 159].

Seit den achtziger Jahren ist bekannt, dass sich in ca. 30 Zielorganen, darunter auch im Herzmuskel, sowohl zytosolische oder nukleäre als auch membranständige Vitamin D-Rezeptoren finden und Calcitriol spezifisch binden können, was auf zahlreiche physiologische Funktionen von Vitamin D hinweist [160-163]. Studien zu Dosis-Wirkungs-Beziehungen haben ergeben, dass die molare Potenz von Calcitriol im Verhältnis zum 25(OH)D mit 125:1

bis 400:1 zwar höher liegt, aber da die Plasmakonzentrationen an 25(OH)D 500-1000 mal höher liegen als die an Calcitriol, kann angenommen werden, dass 55-90% der Vitamin D-Aktivität von 25(OH)D ausgeht [164].

Die physiologische Bedeutung von Vitamin D als Steroidhormon geht jedoch weit über die Regulation des Calciumstoffwechsels hinaus und seine Bedeutung als pathogenetischer Faktor bei der Entwicklung zahlreicher Erkrankungen wird durch eine Vielzahl von Studien belegt [165-168]. Daher fokussierte sich die Vitamin D-Forschung in den letzten 10 Jahren zunehmend auf die nicht-calciotropen Wirkungen von Vitamin D, insbesondere auf die antiproliferativen/zelldifferenzierenden [169, 170] und immunmodulatorischen [171-173] Eigenschaften von Calcitriol. Anhand dieser nicht-calciotropen Eigenschaften stehen die Vitamin D-Metabolite im Rahmen der CHI im wissenschaftlichen Interesse [10, 174-178]. In einer kürzlich durchgeführten Untersuchung wurde die Hypothese aufgestellt, dass ein niedriger Vitamin D-Status zur Pathogenese und/oder der Symptomatik der CHI beitragen kann [10]. Patienten mit CHI haben erheblich niedrigere Plasmaspiegel der Vitamin D-Metabolite 25(OH)D und Calcitriol als gesunde Kontrollpersonen gleichen Alters [10]; und ein Großteil von Patienten weist auch biochemische Anzeichen eines Hyperparathyreodismus auf [10, 179].

Darüberhinaus beeinflusst Calcitriol auch andere Faktoren, die mit der Pathogenese der Herzinsuffizienz assoziiert sind. So werden durch Calcitriol Gene reguliert, die für die Produktion von Zytokinen und somit für den zellulären Stoffwechsel verantwortlich sind [171]. Experimentellen Daten zufolge verdichten sich die Hinweise, dass der Zytokin-Metabolismus von TNF- α und IL-10 durch Vitamin D beeinflusst werden kann. So konnten experimentelle Studien zeigen, dass das Vitamin D-Hormon Calcitriol in der Lage ist, die Freisetzung des pro-inflammatorischen TNF- α zu unterdrücken [180]. Des Weiteren vermag Calcitriol die Synthese des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 zu steigern [181] sowie die IL-10 Rezeptorexpression in vitro zu induzieren [182]. Auch hohe 25(OH)D-Spiegel im Plasma gehen epidemiologischen und experimentellen Daten zufolge mit erhöhten IL-10-Konzentrationen einher [183, 184].

Ein weiterer Ansatzpunkt von Calcitriol besteht in der Hemmung des RAAS und somit in der Regulation des Blutdrucks [185]. Dabei wird die Stimulation der Reninsekretion entweder indirekt durch einen Anstieg des intrazellulären zyklischen Adenosinmonophosphat (cAMP) und/oder einer verminderten intrazellulären Calciumkonzentration [186] oder direkt durch Calcitriol, unabhängig vom Calcium-Metabolismus, vermittelt [185]. Unterstützend dazu

liegen Daten tierexperimenteller Studien vor, die zeigen konnten, dass es durch die genetische Abspaltung des Vitamin D-Rezeptors zu einer Überaktivierung des RAAS, zu einem erhöhten Blutdruck, zu erhöhten Plasmakonzentrationen an atrial natriuretischen Peptiden sowie zur kardialen Hypertrophie kam [187].

Eine defizitäre Vitamin D-Versorgung verschlechtert die intestinale Calciumausnutzung, führt damit zu niedrigen Calciumspiegeln im Serum und kann zu einem Defizit des für die Kontraktion des Herzmuskels erforderlichen Calciums führen. Es kommt zur vermehrten Freisetzung von Parathormon, wodurch die Aktivität der renalen 1α -Hydroxylase und damit die Bildung von Calcitriol induziert wird [188, 189]. Daher sind die Calcitriolspiegel bei einer insuffizienten Vitamin D-Versorgung im Normbereich oder auch erhöht [190, 191]. Erst wenn die $25(\text{OH})\text{D}$ -Konzentrationen im Plasma aufgrund eines schweren Vitamin D-Mangels fast nicht mehr nachweisbar sind, liegen die Calcitriol-Spiegel im unteren Normbereich oder darunter. Aus diesem Grund ist die Calcitriolkonzentration im Plasma zur Beurteilung der Vitamin D-Versorgung nicht geeignet. Im Gegensatz zur $25(\text{OH})\text{D}$ -Konzentration im Plasma unterliegen die Calcitriolkonzentrationen keinen saisonalen Schwankungen [192, 193].

Daher gilt der Plasmaspiegel an $25(\text{OH})\text{D}$ als bester Indikator, um einen Vitamin D-Mangel, eine Vitamin D-Insuffizienz, Hypovitaminose, eine optimale Vitamin D-Versorgung sowie toxisch wirkende Vitamin D-Spiegel zu klassifizieren [194, 195] (Tab. 4) und die Auswirkung einer Vitamin D-Supplementierung auf die Vitamin D-Versorgungslage zu ermitteln.

Dabei ist es jedoch schwierig, welche Grenzwerte für die einzelnen Bereiche definiert werden, da es keine allgemein gültige Begriffsabgrenzung gibt. Um eine Abgrenzung einer defizitären von einer adäquaten Versorgung vorzunehmen, werden häufig biologische Effekte, insbesondere der Anstieg der PTH-Konzentration [196-201] und die Umwandlung von $25(\text{OH})\text{D}$ zum Calcitriol [202] zur Definition herangezogen.

Tabelle 4: Stadien der Vitamin D-Versorgung gemäß der Plasmaspiegel an 25(OH)D [10, 203, 204]

Versorgungslage	25(OH)D (nmol/L)	Biochemisch/klinische Veränderungen
defizitär	0-25	Calciummalabsorption, Rachitis, Osteomalazie, Myopathie, ausgeprägter sek. Hyperparathyreodismus
insuffizient	> 25-50	sek. Hyperparathyreodismus, reduzierte Calcium-Absorptionsrate, Osteoporoserisiko ↑, subklinische Myopathie
suboptimal	> 50-70 bis 100	Entleerte Vitamin D-Speicher, leicht erhöhte Parathormonspiegel
adäquat	70-100 bis 250	Keine Beeinträchtigung Vitamin D-abhängiger Körperfunktionen
toxisch	> 250	Hyperabsorption von Calcium, erhöhte Calciumauslagerung aus Knochen, Hypercalcämie, Verkalkung der Weichteile

sek. = sekundärer; ↑ = erhöht

Ein **Vitamin D-Mangel** kann über das Auftreten einer Rachitis bei Kindern und einer Osteomalazie bei Erwachsenen [205, 206] und wahrscheinlich auch einer subklinischen Myopathie [207] definiert werden und äußert sich gewöhnlich bei 25(OH)D-Plasmawerten \leq 12,5 nmol/L. Doch auch 25(OH)D-Werte unter 25 nmol/L können langfristig zur Rachitis bzw. Osteomalazie führen [208]. Eine **Vitamin D-Insuffizienz** kann bei 25(OH)D-Plasmakonzentrationen definiert werden, unter denen es zur Beeinträchtigung der Calciumhomöostase und des Knochenstoffwechsels kommen kann. Dieser Bereich umfasst Plasmaspiegel zwischen 25 und 50 nmol/L [202, 209, 210]. Als eine **Hypovitaminose D** kann eine suboptimale 25(OH)D-Plasmakonzentration (50-100 nmol/L) beschrieben werden, die für Beeinträchtigungen des Stoffwechsels prädisponiert ist und dazu neigt, in einen Vitamin D-Mangel überzugehen, jedoch reversibel ist. Bereits eine suboptimale Vitamin D-Versorgung kann zu erhöhten PTH-Werten im Serum führen [199, 211]. Ein Vitamin D-Spiegel von mindestens 50 nmol/L ist notwendig, um minimal die Vitamin D-abhängigen Körperfunktionen zu gewährleisten [209, 212]

Auch wenn zurzeit noch kein einheitlicher Konsens über optimale 25(OH)D-Spiegel für einen maximalen Gesundheitsnutzen besteht, werden 25(OH)D-Plasmakonzentrationen zwischen 80 und 225 nmol/L derzeit als wünschenswert angesehen [165, 205, 213-215], da bei diesen 25(OH)D-Werten PTH auf ein Minimum reduziert wird [199, 200, 216, 217] und keine Störungen Vitamin D-abhängiger Körperfunktionen beobachtet werden [218]. Das basiert auch auf der Tatsache, dass bei Personen, die in Äquatornähe leben mit einer konstant hohen UVB-Exposition durchschnittliche Vitamin D-Spiegel von 107 nmol/L während des Jahres

aufweisen mit einem Maximum von 163 nmol/L [219]. Auch bei amerikanischen Bademeistern werden Vitamin D-Spiegel von bis zu 160 nmol/L beobachtet [220]. Gelegentlich werden sogar Vitamin D-Spiegel von über 200 nmol/L bei Personen beobachtet, die häufig der UVB-Strahlung ausgesetzt sind [205].

Eine insuffiziente Versorgungslage mit Vitamin D ($> 25\text{-}50$ nmol/L) ist weltweit sehr verbreitet. Sowohl in Europa [195] als auch in Amerika [221-224], Asien [225, 226] und Australien [227, 228] liegt eine hohe Prävalenz einer Vitamin D-Insuffizienz vor. Selbst in sonnenreichen Ländern, wie Italien, Spanien, Griechenland und Libanon, in denen eine ausreichende Vitamin D-Versorgung gewährleistet sein sollte, ist eine insuffiziente Vitamin D-Versorgung überraschender Weise sowohl bei älteren [229, 230] als auch bei jüngeren Personen [198, 229, 231, 232] weit verbreitet. Es wird geschätzt, dass mehr als 40% der jungen Erwachsenen in Europa während der Winterzeit eine Hypovitaminose D aufweisen, während der Anteil einer Hypovitaminose D bei den Senioren zwischen 70% und 100% liegt [195]. Durchschnittliche 25(OH)D-Serumkonzentrationen von 25,6 nmol/L und 67,2 nmol/L konnten im Winter und Sommer beobachtet werden [195].

Besonders ältere Personen sind gefährdet, da sie sowohl eine geringe Sonnenexposition aufweisen als auch eine reduzierte Wirksamkeit der Photokonversion von 7-Dehydrocholesterol zu Vitamin D [233]. Verglichen mit einem jungen Erwachsenen, produziert ein 70-Jähriger weniger als 30% Vitamin D, trotz gleicher Menge an UVB-Exposition [233, 234]. Jedoch nicht nur ältere Personen sind von einer defizitären Vitamin D-Versorgung betroffen [167, 235], sondern auch junge Erwachsene [10, 183, 204, 236, 237]. Tangpricha et al. demonstrierte ebenfalls, dass selbst junge, aktive Personen (25 von 69, 36%) zwischen 18 und 29 Jahren insuffiziente Vitamin D-Spiegel (< 50 nmol/L) nach der Winterzeit vorweisen [222]. Der gegenwärtige Lebensstil und die Arbeitsbedingungen in Industrieländern tragen zu einem vermehrten Auftreten einer defizitären Versorgungslage mit Vitamin D, besonders in den Wintermonaten, bei [228]. Wenn aufgrund solcher Lebensbedingungen keine oder nur eine unzureichende UVB-Exposition möglich ist, reicht die derzeit von der Deutschen Gesellschaft für Ernährung (DGE) empfohlene tägliche Vitamin D-Zufuhr von 5 μg nicht aus, um eine Vitamin D-Versorgung im defizitären Bereich zu kompensieren [211]. Aufgrund der derzeitigen Datenlage wird für Personen mit geringer UVB-Exposition eine tägliche Vitamin D-Zufuhr zwischen 50-100 μg als erforderlich angesehen, um adäquate 25(OH)D-Spiegel im Serum zu gewährleisten [213, 215, 216, 238];

eine Menge, die nur durch Supplementation oder Lebensmittelanreicherung erreicht werden kann.

Calcium

Die myokardiale kontraktile Dysfunktion ist der Endzustand einer Reihe pathophysiologischer Prozesse, in deren Mittelpunkt die gestörte intrazelluläre Calciumhomöostase steht. Sie ist gekennzeichnet durch eine verminderte systolische Kontraktion und eine pathologisch verzögerte diastolische Relaxation. Bei einer schweren Herzinsuffizienz findet sich ein deutlich verminderter Calcium-Anstieg während der Systole, ein verzögerter Abfall während der Diastole und eine erhöhte Ruhe-Calciumkonzentration. Diese Veränderungen der intrazellulären Calcium-Homöostase bei der Herzinsuffizienz vermögen die wesentlichen klinischen Phänomene, verminderte Kontraktilität und verzögerte Relaxation zumindest teilweise zu erklären.

Daher weist Calcium für den Kontraktionsablauf in der Herzmuskelzelle eine zentrale Bedeutung auf. Die Ca^{2+} -Konzentration im Herzmuskel beträgt etwa 2,5 mmol/L H_2O , wobei für die Aktivierung der Zelle eine um den Faktor 100 niedrigere Konzentration als ausreichend gilt [239]. Dabei kommt dem Ca^{2+} eine wichtige Rolle als „second messenger“ zu; es koppelt die Erregung hormoneller und neuronaler Rezeptoren an zelluläre Stoffwechselfvorgänge. Die zur Signalauslösung notwendige Erhöhung des intrazellulären freien Ca^{2+} wird nicht nur durch den vermehrten extrazellulären Calcium-Einstrom über spezielle Calciumkanäle erreicht, sondern auch durch die gesteuerte Ca-Freisetzung aus intrazellulären Puffern. Ein Anstieg der freien Ca^{2+} -Konzentration von 10^{-7} auf 10^{-6} - 10^{-5} mmol/L hebt durch Bindung an Troponin die Hemmung der Aktin-Myosinbindung auf und führt zur Kontraktion der Muskulatur. Gleichzeitig sorgt die Ca-Calmodulin-Bindung über eine Kaskade für die Energiebereitstellung. In den Herzmuskelzellen wird Ca^{2+} durch eine Ca^{2+} -ATPase und einen $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -Austauscher rasch wieder aus der Zelle entfernt und ermöglicht so den raschen Wechsel zwischen Kontraktion und Entspannung der Herzmuskelfasern.

Parathormon

PTH kann das Herz-Kreislauf-System direkt oder indirekt vielschichtig beeinflussen. Die Wirkung erfolgt über Bindung an einen membranständigen Rezeptor im Herzmuskel und Aktivierung intrazellulärer Botensysteme (z.B. cAMP-vermittelt). Dabei wird durch ein Guanidintriphosphatbindungsprotein die membrangebundene Adenylatzyklase aktiviert, die Adenosintriphosphat (ATP) in cAMP überführt und damit eine Kaskade intrazellulärer Phosphorylierungsreaktionen hervorruft [240]. PTH beeinflusst u.a. auch den Einstrom von Calcium in einzelne Zellen und wirkt positiv chronotrop und inotrop [241]. Bei Patienten mit CHI werden jedoch nicht selten erhöhte PTH-Spiegel im Serum beobachtet [179, 242], die mit einer gehäuften Inzidenz an Hyperkontraktilität des Herzmuskels und konsekutiver linksventrikulärer Hypertrophie [243-245] sowie einer erhöhten Mortalität [242, 246-248] einhergehen können.

Bei der Kontrolle der PTH-Synthese sind zwei Faktoren von erheblicher Bedeutung. Sowohl Calcitriol als auch ein Anstieg des Serumcalcium wirken inhibitorisch auf die PTH-Produktion, indem sie in die Transkription und Translation des PTH-Gens eingreifen.

2.4 Klinische Parameter zur Erfassung der Herzfunktion

Die während der ambulanten Routineuntersuchungen erhobenen klinischen Parameter der herzinsuffizienten Patienten wurden zur Beurteilung des Krankheitsbildes während der Studie teilweise mit erfasst. Die studienrelevanten klinischen Parameter werden zum besseren Verständnis im Anschluss ausführlicher dargestellt.

Echokardiographie (Ejektionsfraktion, enddiastolischer Diameter)

Der objektive Nachweis einer kardialen Dysfunktion in Ruhe ist eines der Diagnosekriterien für das Vorliegen einer Herzinsuffizienz. Die Echokardiographie ist dazu die Methode der Wahl. Die echokardiographische Untersuchung liefert wertvolle Parameter zur Erfassung einer diastolischen Funktionsstörung. Sie erlaubt Aussagen über die Morphologie und Funktion des Herzens und ermöglicht so die ätiologische Abklärung valvulärer, myokardialer oder perikardialer Ursachen. Die Echokardiographie stellt die Dimension und die Wanddicke,

sowie die systolische und diastolische Funktion beider Ventrikel dar. Der charakteristische Befund der systolischen linksventrikulären Dysfunktion ist ein vergrößertes Kammervolumen mit deutlich reduzierter Auswurfraction.

Die Ermittlung der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF) dient als guter klinischer Indikator zur Beurteilung der linksventrikulären systolischen Funktion und gehört zu den etablierten Prognoseparametern [249]. Gemäß der Richtlinien zur Organtransplantation/§16 Transplantationsgesetz (Stand: Februar 2003) gilt eine LVEF < 20% als Indikation für eine Herztransplantation. Die LVEF wird folgendermaßen berechnet:

$$\text{LVEF} = \frac{\text{Enddiastolisches Volumen} - \text{Endsystolisches Volumen}}{\text{Enddiastolisches Volumen}}$$

Als linksventrikulären enddiastolischen Diameter (LVEDD) wird die Länge des linken Ventrikels am Ende der Diastole (maximale Dilatation des Ventrikels) bezeichnet. Ist der LVEDD > 75 mm, ist nach den Richtlinien zur Organtransplantation/§16 Transplantationsgesetz (Stand: Februar 2003) eine Herztransplantation indiziert.

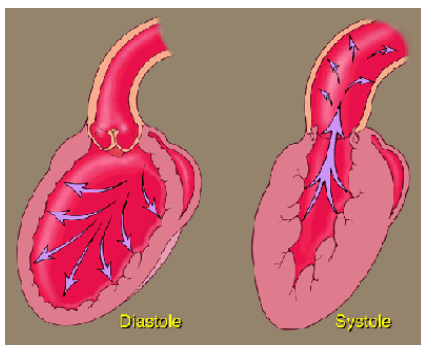


Abbildung 6: Systole und Diastole des Ventrikels

Spiroergometrie (maximale Sauerstoffaufnahme ($\text{VO}_{2\text{max}}$))

Eine Ausbelastung auf dem Fahrradergometer mit gleichzeitiger Registrierung des Gasaustausches hat im wesentlichen zwei Indikationen. Zum einen erlaubt die Spiroergometrie die Bestimmung der ventilatorischen Schwelle (Trainingszustand) und der maximalen Sauerstoffaufnahme als prognostischer Parameter ($\text{VO}_{2\text{max}} < 10 \text{ ml/kg KG/min}$: hohes Risiko; $\text{VO}_{2\text{max}} > 18 \text{ ml/kg KG/min}$: niedriges Risiko) [250, 251]. Zum anderen ist sie hilfreich zur Differenzierung von kardialer und pulmonaler Belastungsdyspnoe. Bei Patienten mit schwerer myokardialer Schädigung, insbesondere zur optimalen Terminierung des

Transplantationszeitpunktes, hat sich die Spiroergometrie als nicht-invasives Verfahren bewährt.



Abbildung 7: Spiroergometrie

Röntgenthorax (Herz-Thorax-Quotient (HTQ))

Neben der Beurteilung von Herzgröße und -form bietet das konventionelle Röntgenbild der Thoraxorgane die Möglichkeit, die Hämodynamik zu berücksichtigen durch Beurteilung der Lungendurchblutung und des Lungenblutvolumens. Die Bestimmung des HTQ zur Diagnose einer Hypertrophie wurde wiederholt als unabhängiger Risikoprädiktor bei CHI beschrieben [249, 252]. Die Diagnose einer linksventrikulären Hypertrophie beinhaltet ein erhöhtes Risiko für das Eintreten einer kardiovaskulären Morbidität oder Letalität, selbst nachdem andere wesentliche Risikofaktoren (Alter, Blutdruck, Nikotinabusus, Diabetes, Übergewicht, Cholesterin) berücksichtigt wurden [253, 254]. Eine linksventrikuläre Hypertrophie geht ebenfalls mit einem erhöhten Risiko für einen plötzlichen Herztod einher.

Das von Groedel [255] eingeführte Maß, das das Verhältnis des Herztransversaldurchmessers zum Thoraxdurchmesser beinhaltet (beträgt in der Regel 1:2) (Abb. 8), ergibt einen oberen Normwert von etwa 0,5. Eine Hypertrophie ($HTQ > 0,5$) im Thoraxröntgen spricht relativ spezifisch für eine Einschränkung der linksventrikulären Pumpfunktion und muss in jedem Fall echokardiographisch abgeklärt werden.

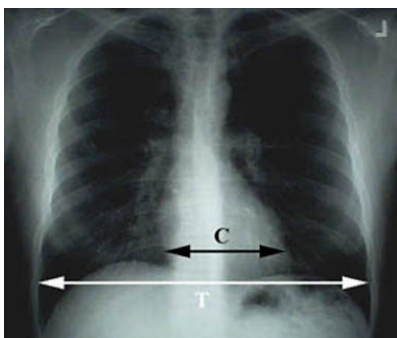


Abbildung 8: Die Bestimmung des Herz-Thorax-Quotienten = Herztransversaldurchmesser (C) : Thoraxtransversaldurchmesser (T)

3 Material und Methoden

3.1 Probanden

Im Rahmen dieser Placebo-kontrollierten Doppelblindstudie wurden im Herz- und Diabeteszentrum NRW insgesamt 123 Patienten mit diagnostizierter Herzinsuffizienz (NYHA-Stadium \geq II) im Zeitraum von März 2002 bis April 2003 rekrutiert. Dabei lagen folgende Ein- und Ausschlusskriterien zugrunde (Tab. 5):

Tabelle 5: Ein- und Ausschlusskriterien zur Teilnahme an der Studie

Einschlusskriterien	Ausschlusskriterien
<ul style="list-style-type: none"> • Patienten mit Herzinsuffizienz (NYHA \geq II) • Alter: 40-70 Jahre • Einverständniserklärung 	<ul style="list-style-type: none"> • Senile Demenz • Akute Herzinsuffizienz sowie Dekompensation innerhalb der letzten 3 Monate • Parallele Teilnahme an einer anderen Studie • Änderung der relevanten Medikation innerhalb der letzten 4 Wochen • Hyperkalzämie • Serumkreatinin > 2 mg/dl • Einnahme von Vitamin D- und Calciumpräparaten • Schwangerschaft und Stillzeit • Sarkoidose • Nephrolithiasis • Biventrikulärer Schrittmacher

Die Studienteilnehmer, 102 Männer und 21 Frauen, wurden randomisiert (4-er Block) zwei Behandlungsgruppen zugeteilt.

Vitamin D-Gruppe: 61 Patienten erhielten täglich ein Vitamin D-Präparat mit einer Dosierung von 50 μ g Cholecalciferol (\cong 2.000 I.E.) sowie ein Calcium-Supplement in Höhe von 500 mg/Tag (\cong 1.250 mg Calciumcarbonat).

Placebo-Gruppe: 62 Patienten erhielten täglich ein entsprechendes Placebo-Präparat sowie ein Calcium-Supplement in einer Höhe von 500 mg/Tag (\cong 1.250 mg Calciumcarbonat).

3.2 Prüfpräparat

Als Prüfpräparat wurde das Vigantol® Öl mit dem Wirkstoff Cholecalciferol der Firma Merck KgaA, Darmstadt, eingesetzt. Als Placebo diente ein ebenfalls von der Firma Merck KgaA, Darmstadt, zur Verfügung gestelltes Vitamin D-freies Migliol-Öl. Dieses wurde in Fläschchen abgefüllt, die mit denen des Vigantol® Öls identisch waren.

Die ursprünglichen Etiketten der Fläschchen wurden mit einem studienspezifischen Aufdruck überklebt, der mit einer 4-stelligen Probandennummer versehen war. Des Weiteren erhielt jeder Aufdruck in Klammern eine arabische Zahl zwischen 1 und 4, da jeder Patient im Verlauf der Studie insgesamt 3-4 Fläschchen bekam. Jeden Tag sollten 3 Tropfen des Öls (50 µg Cholecalciferol) entnommen werden, sodass ein Fläschchen für einen Supplementierungszeitraum von ca. 3 Monaten ausreichte. Durch Überprüfung des Studienpräparates (Anzahl der verbrauchten Fläschchen/Inhalt der Fläschchen) sowie durch Analyse der 25(OH)D-Plasmaspiegel wurde die Compliance der Patienten dokumentiert.

Das Calcium-Präparat mit dem Wirkstoff Calciumcarbonat wurde den Patienten in Form von Kautabletten verabreicht.

3.3 Studiendesign

Die Studien- und Supplementierungsdauer betrug 9 Monate und umfasste 2 Untersuchungszeitpunkte. Im Rahmen der Routineuntersuchungen erfolgten Nüchtern-Blutentnahmen von jeweils ca. 15 ml bei Studienbeginn und am Studienende nach 9 Monaten. Direkt nach der Blutentnahme wurden sowohl Serum- als auch Plasmaproben der Patienten abzentrifugiert und bei -80°C bis zum Zeitpunkt der biochemischen/klinischen Analytik jeweils ca. 10-12 Monate gelagert. Da die 25(OH)D-Plasmakonzentration saisonalen Schwankungen unterliegt, erfolgte die Rekrutierung der Patienten und damit die Blutgewinnung zu verschiedenen Zeitpunkten eines Jahres.

Darüber hinaus wurden die Patienten mittels Fragebogen zur Krankheitsgeschichte und zur körperlichen Befindlichkeit sowie zur körperlichen Leistungsfähigkeit im Alltag befragt. Mit Hilfe von Ernährungsprotokollen, die den Patienten nach einer mündlichen Einweisung zusammen mit einem Anleitungsformular, das die wichtigsten Informationen zur Führung eines Ernährungsprotokolls enthielt, ausgeteilt wurden, war es möglich, die durchschnittliche tägliche Vitamin D- und Calciumzufuhr der Patienten zu erfassen. Die Protokolle wurden von

den Patienten an 3 verschiedenen Tagen während des Untersuchungszeitraums zuhause ausgefüllt, ohne dass sie eine vorherige Beratung zur Ernährungsweise bekamen.

Die aktuelle Medikation sowie relevante Ergebnisse medizintechnischer Untersuchungen, wie Echokardiographie, Spiroergometrie, Röntgen und Blutdruck wurden der Patientenakte entnommen. Ebenfalls wurden Körpergröße und –gewicht erfasst.

3.4 Ethikkommission

Der Studienplan wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer Westfalen-Lippe und der Medizinischen Fakultät der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster bewilligt.

Vor Studienbeginn wurden die Probanden über die Zielsetzung und Versuchsdurchführung der Studie informiert. Jeder Patient gab sein schriftliches Einverständnis zur Durchführung der Untersuchungen und bestätigte damit, dass er über Sinn, Zweck und Nutzen-Risiko-Relation umfassend aufgeklärt wurde und jederzeit ohne Angabe von Gründen die Studie beenden kann.

3.5 Zielparameter

Folgende Tabelle enthält die für die Studie relevanten primären und sekundären Zielparameter. Die Vorgehensweise der analytischen Methoden zur Erfassung der biochemischen Parameter wird im folgenden Kapitel detailliert beschrieben. Die Namen und Symbole der hier benutzten Größen erfolgen entsprechend der Empfehlungen nach IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry). Die aufgeführten klinischen Parameter wurden bei den während der Studie erfolgten ambulanten Routineuntersuchungen der Patienten lediglich miterfasst, waren aber nicht primär Gegenstand der Studie.

Tabelle 6: Zielparameter der Studie

Primäre Endpunkte	Sekundäre Endpunkte
<i>Biochemische Parameter:</i>	<i>Klinische Parameter:</i>
Natriuretische Peptide: NT-proANP, NT-proBNP (Plasma)	• LVEF
Zytokine: TNF- α , IL-10 (Serum)	• LVEDD
Vitamin D-Metabolite: 25(OH)D, Calcitriol (Plasma)	• VO ₂ max.
CRP (Serum)	• HTQ
Calcium (Serum)	<i>Sonstige Parameter:</i>
Parathormon (Serum)	• Mortalitätsrate
	• Körperliche Leistungsfähigkeit

3.6 Analytische Methoden

Die analytischen Bestimmungen erfolgten je nach Testsatz-Bedingungen entweder im Serum oder im Plasma. Die Variationskoeffizienten, die im Rahmen der Präzisionskontrolle zur Reproduzierbarkeit der Methode von den jeweiligen Herstellern sowohl innerhalb als auch zwischen verschiedenen Testreihen ermittelt wurden, basierten auf der Verwendung von Probenmaterial in unterschiedlichen Analytkonzentrationen.

NT-proBNP

Die quantitative Bestimmung des NT-proBNP im Plasma erfolgte mittels Elektrochemilumineszenz-Immunoassay (ECLIA) an dem Analyseautomaten Elecsys® 2010 der Firma Roche. Der NT-proBNP Elecsys Test enthält polyklonale Antikörper vom Schaf, die Epitope erkennen, die im N-terminalen Teil (1-76) des proBNP (1-108) liegen.

Im ersten Inkubationsschritt bilden das Antigen in der Plasmaprobe (20 μ l), ein biotinylierter polyklonaler Nt-proBNP spezifischer Antikörper und ein mit Ruthenium-Komplex markierter polyklonaler NT-proBNP spezifischer Antikörper einen Sandwich-Komplex.

Dieser Komplex wird nach Zugabe von Streptavidin beschichteten Mikropartikeln über Biotin-Streptavidin Wechselwirkung an die Festphase gebunden. Danach wird das Reaktionsgemisch in die Messzelle überführt, wo die Mikropartikel durch magnetische Wirkung auf die Oberfläche der Elektrode fixiert werden. Anschließend werden mit ProCell

die ungebundenen Substanzen entfernt. Durch Anlegen einer Spannung wird die Chemilumineszenzemission induziert und mit dem Photomultiplier gemessen. Anhand einer Kalibrationskurve werden abschließend die Ergebnisse ermittelt.

Tabelle 7 enthält die von der Firma Roche angeführten Daten für die Reproduzierbarkeit dieser Methode.

Tabelle 7: Präzision der NT-proBNP-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen

Probe	Mittelwert [pg/ml]	Präzision innerhalb einer Serie		Gesamt-Präzision	
		Standard- abweichung [pg/ml]	Variations- koeffizient [%]	Standard- abweichung [pg/ml]	Variations- koeffizient [%]
1	175	4,67	2,7	5,6	3,2
2	355	8,68	2,4	10,4	2,9
3	1068	20,5	1,9	27,6	2,6
4	4962	86,9	1,8	114	2,3
5	434	7,69	1,8	10,3	2,4
6	6781	118	1,8	146	2,2

NT-proANP

Die Plasmakonzentration an NT-proANP wurde mittels kompetitivem Radioimmunoassay (RIA) der Firma Biotop Oy bestimmt. Im ersten Schritt werden jeweils 25µl der Standards, Kontrollen und der Plasmaproben in die mit anti-NT-proANP beschichteten Wells gegeben. Die Zugabe eines Tracers (^{125}I NT-proANP) und eines Anti-NT-proANP-Serums bewirkt, dass eine konstante Menge an ^{125}I -Peptid in Anwesenheit dieser Antikörpern durch eine variable Menge von zugesetztem Peptid (Standard, Proben) verdrängt wird. Während der folgenden Inkubation konkurriert das radioaktiv markierte ^{125}I -Peptid mit NT-proANP um eine bestimmte Anzahl von Antikörpern. Steigt die Menge des NT-proANP in der zu untersuchenden Probe bzw. in den Standards an, so verringert sich die Menge an gebundenem ^{125}I -Peptid und umgekehrt. Durch die Messung des gebundenen ^{125}I -Peptids in den angefertigten Standardproben ist es möglich, eine Standardkurve herzustellen, aus der die Quantität des NT-proANP in den Proben berechnet werden kann.

Die Genauigkeit wird folgendermaßen angegeben:

Tabelle 8: Variationskoeffizient (VK) der NT-proANP-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen

	VK [%]
Innerhalb einer Testreihe (n=19)	5,3
Zwischen verschiedenen Testreihen (n=20)	11,2

C-reaktives Protein

Ein Sandwich-Enzymimmunoassay der Firma DRG diente der direkten quantitativen Bestimmung von hochsensitivem C-reaktivem Protein (hs-CRP) im Serum. Die Wells der Mikrotiterstreifen sind mit monoklonalen Antikörpern von Mäusen beschichtet, die gegen eine definierte Bindungsstelle des Antigens gerichtet sind.

Zunächst werden jeweils 5µg der Kontrollseren und der Serumproben 1:5 mit 0,9%iger NaCl verdünnt. Eine weitere Verdünnung erfolgt im Verhältnis 1:101 mit einer Phosphat-Puffer-Lösung (BSA). Im Anschluss werden Standards, verdünnte Kontrollen und verdünnte Proben in die beschichteten Wells gegeben und mit enzymmarkierten Antikörpern (Anti-CRP-Antikörper von der Ziege gekoppelt mit Meerrettichperoxidase) 45 Minuten inkubiert. Dabei ist dieser enzymmarkierte Antikörper gegen ein anderes Epitop des Antigens gerichtet und bildet mit bereits gebundenem Antigen einen Sandwichkomplex. Nichtgebundene Antikörper werden im nachfolgenden Waschschrift entfernt. Anschließend wird eine Substratlösung (TMB) hinzugegeben. Die durch diese enzymatische Reaktion hervorgerufene Farbentwicklung wird durch Zugabe einer Stopplösung (1 N HCL) nach 20 Minuten gestoppt. Die Extinktionen werden mit einem Mikrotiterplatten-Reader bei 450 nm gemessen, wobei die Intensität der gebildeten Farbe proportional zur Antigen-Konzentration der Probe ist.

Die Variationskoeffizienten, die von der Firma DRG ermittelt wurden, sind in folgenden Tabellen aufgeführt.

Tabelle 9: Variationskoeffizienten (VK) der hsCRP-Bestimmung innerhalb einer Testreihe

Panel	Mittelwert [mg/L]	Standardabweichung [mg/L]	VK [%]
1 (n = 22)	0,546	0,041	7,5
2 (n = 22)	0,894	0,037	4,1
3 (n = 22)	2,021	0,085	4,2
4 (n = 22)	3,492	0,146	4,1
5 (n = 20)	17,549	0,397	2,3

Tabelle 10: Variationskoeffizienten (VK) der hsCRP-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen

Panel	Mittelwert [mg/L]	Standardabweichung [mg/L]	VK [%]
1 (n = 20)	0,490	0,020	4,1
2 (n = 20)	0,890	0,023	2,5
3 (n = 20)	1,925	0,078	4,1
4 (n = 20)	3,529	0,114	3,2
5 (n = 20)	17,435	0,438	2,5

Tumor-Nekrose-Faktor- α

Für die quantitative Bestimmung von TNF- α diente der ELISA-Testsatz der Firma DRG. Im ersten Schritt wird ein Inkubationspuffer in die mit anti-TNF- α beschichteten Wells gegeben, gefolgt von jeweils 200 μ l der Standards, Kontrollen und Serumproben. In der darauf folgenden 2-stündigen Inkubationszeit reagiert das TNF- α der Standards, Kontrollen und Proben mit den monoklonalen Antikörpern der Wells. Im anschließenden Waschvorgang werden Antigen-Überschüsse eliminiert. Durch Zugabe eines Enzymkonjugats aus Anti-TNF- α -Antikörpern, gekoppelt mit Meerrettichperoxidase, bindet sich dieses an die gebundenen TNF- α -Antikörper und bildet einen Sandwichkomplex. Ein weiterer Waschvorgang mit verdünnter Waschlösung entfernt ungebundene Komponenten.

Im nächsten Schritt wird eine Farbentwicklungslösung (Tetramethylbenzidin und Wasserstoffperoxid) in alle Wells pipettiert, wobei die dadurch ausgelöste enzymatische Reaktion nach 30 Minuten durch Zugabe einer Stopp-Reagenz (H_2SO_4) beendet wird und zu einer Farbänderung führt. Die Farbintensität ist dabei direkt proportional zu der Konzentration von TNF- α in der Probe. Die Extinktion wird bei einer Wellenlänge von 450 nm im ELISA-Reader gemessen.

Die Präzision des Enzymimmunoassays ist in folgenden Tabellen angegeben.

Tabelle 11: Variationskoeffizienten (VK) der TNF- α -Bestimmung innerhalb einer Testreihe

Panel	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	VK [%]
1 (n = 20)	86,7	4,4	5,2
2 (n = 20)	591	22	3,7

Tabelle 12: Variationskoeffizienten (VK) der TNF- α -Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen

Panel	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	VK [%]
1 (n = 13)	162	13	8
2 (n = 10)	664	66	9,9

Interleukin-10

Die quantitative Bestimmung von hochsensitivem IL-10 erfolgte durch einen Enzymimmunoassay der Firma R&D Systems.

Jeweils 200 μ l der Standards und Serumproben werden in die mit anti-IL-10 Antikörpern beschichteten Wells pipettiert und reagieren während einer 2-stündigen Inkubation mit dem ersten Antikörper. Nachdem ungebundene Komponenten durch einen Waschvorgang eliminiert wurden, wird ein enzymmarkierter Anti-IL-10-Antikörper hinzugefügt, der mit dem bereits gebundenen Antigen während einer 2-stündigen Inkubationszeit einen Sandwichkomplex bildet. Anschließend wird nach einem weiteren Waschschrift eine Substratlösung (Lyophilisiertes NADPH) dazugegeben. In der nachfolgenden 1-stündigen

Inkubation erfolgt eine Dephosphorylierung von NADPH zu NADH. Durch Zugabe einer weiteren enzymatischen Lösung (Alkoholdehydrogenase+Diaphorase+iodonitrotetrazolium violett) reduziert NADH das Tetrazoliumsalz, wodurch ein Farbstoff entsteht. Die Farbintensität ist dabei direkt proportional zur Konzentration in der Probe. Nach einer Inkubationszeit von einer Stunde wird die Farbentwicklung durch Schwefelsäure beendet. Bei einer Wellenlänge von 490 nm werden die Extinktionen im Mikrotiterplatten-Reader gemessen.

Zur Reproduzierbarkeit und Präzision des Tests werden von der Firma R&D Systems folgende Angaben gemacht.

Tabelle 13: Variationskoeffizienten (VK) der IL-10-Bestimmung innerhalb einer Testreihe

Panel	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	VK [%]
1 (n = 20)	4,14	0,34	8,2
2 (n = 20)	17,7	1,5	8,5
3 (n = 20)	35	2,31	6,6

Tabelle 14: Variationskoeffizienten (VK) der IL-10-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen

Panel	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	VK [%]
1 (n = 20)	2,62	0,41	15,6
2 (n = 20)	6,28	0,64	10,2
3 (n = 20)	23,9	1,94	8,1

25-Hydroxyvitamin D

Die quantitative Bestimmung von 25(OH)D erfolgte im Plasma durch einen 25(OH)D RIA-Kit der Firma DiaSorin.

Im ersten Schritt wird 25(OH)D aus jeweils 50µl der Standards, Kontrollen und Plasmaproben mit Hilfe von Azetonitril extrahiert. Nach der Extraktion werden die behandelten Proben im kompetitiven RIA-Verfahren getestet. Die Zugabe eines Tracers

(^{125}I 25(OH)D) und eines Ziegen-Anti-25(OH)D-Serum bewirkt in der 90-minütigen Inkubationszeit die Einstellung eines Gleichgewichtes. Dabei konkurrieren in der Probe enthaltenes und radioaktiv markiertes Antigen um die Bindungsstellen an den Antikörpern.

Nach der Inkubation entspricht das Verhältnis von unmarkiertem zu markiertem freien Antigen demjenigen zwischen den insgesamt gebildeten und den markierten Antigen-Antikörper-Komplexen. Basierend auf dem Massenwirkungsgesetz kommt es dazu, dass bei hohem Antigengehalt der Probe wenig markiertes Antigen an den vorhandenen Antikörper gebunden ist und umgekehrt.

Mit einem zweiten, antikörperausfällendem Komplex (Esel-Antiziegen-Serum) wird nach 20 Minuten Inkubation eine Phasentrennung bewirkt. Danach wird ein NSB/Zusatzpuffer hinzugefügt, um nicht spezifische Bindungen zu reduzieren, bevor die Proben zentrifugiert werden.

Anschließend wird die radioaktive Abstrahlung der Antigen-Antikörper-Komplexe in einem Gammazintillationszähler gemessen. Je höher die gemessene Radioaktivität ist, desto weniger Antigen ist in der Probe enthalten und umgekehrt. Die Auswertung erfolgt über eine Standardkurve.

Die Genauigkeit des Versuchs wird laut DiaSorin folgendermaßen angeführt:

Tabelle 15: Variationskoeffizienten (VK) der 25(OH)D-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen

Panel	Mittelwert [ng/ml]	VK innerhalb einer Testreihe [%]	Gesamt-VK [%]
1 (n = 40)	8,6	11,7	9,4
2 (n = 40)	22,7	10,5	8,2
3 (n = 40)	33	8,6	9,1
4 (n = 40)	49	12,5	11,0

Calcitriol

Der Testkit (Immundiagnostik) für die quantitative Bestimmung von Calcitriol im Plasma arbeitet nach dem Prinzip eines kompetitiven Enzymimmunoassay.

Die Testdurchführung beginnt mit der Extraktion von Calcitriol aus dem Probenmaterial (1000 μl) durch Diisopropylether auf einer Kieselgursäule (Extrelut/Chromabond), welches

anschließend mittels Kieselgelmaterial (Silica-Kartuschen) und verschiedenen Isopropanol/Hexan-Verdünnungen von den anderen Vitamin D-Metaboliten (hauptsächlich dem 25(OH)D und dem 24,25(OH)₂D) abgetrennt wird. Die eluierten Plasmaproben werden dann unter leichtem Stickstoffstrom bei 37°C eingetrocknet. Danach findet eine 1-stündige Vorinkubation der in Ethanol gelösten Proben, Standards und Kontrollen mit einem spezifischen monoklonalen Antikörper (Maus-anti-Calcitriol) statt.

Im nachfolgenden Schritt werden diese in die Wells pipettiert. Während der 16-18-stündigen Inkubation kompetitiert das Calcitriol der Proben und Standards mit dem Tracer (immobilisiert auf der Platte) um die spezifische Bindung an den Antikörper, wobei mit steigender Analyt-Konzentration in den Proben und Standards weniger Antikörper über den Tracer auf der Platte immobilisiert wird. Ungebundene Reaktionspartner werden im anschließenden Waschvorgang entfernt. Nach Zugabe eines Peroxidase-Konjugats folgt eine weitere Inkubation von 1 Stunde, in der sich das Konjugat an die gebundenen Calcitriol-Antikörper bindet. Es folgt ein Waschschrift, der nicht gebundenes Enzym-Konjugat entfernt.

Durch das Hinzufügen einer Substrat-Lösung (Tetramethylbenzidin) wird während der 20 bis 30-minütigen Inkubationszeit eine enzymkatalysierte Farbreaktion eingeleitet, welche durch Zugabe einer Stop-Lösung beendet wird.

Die optische Dichte wird im Elisa-Reader bei 450 nm gemessen, wobei die Farbentwicklung zur nachgewiesenen Analytmenge (Probe bzw. Standard) umgekehrt proportional ist.

Es sind folgende Variationskoeffizienten von Immundiagnostik ermittelt worden.

Tabelle 16: Variationskoeffizienten (VK) der Calcitriol-Bestimmung innerhalb und zwischen Testreihen

	Mittelwert [pg/ml]	VK [%]
Innerhalb einer Testreihe (n = 20)	55,3	6,6
Zwischen verschiedenen Testreihen (n = 20)	39	9,0

Calcium

Der quantitative Nachweis von Calcium erfolgte im Serum mittels Flammen-Atomabsorptionsspektrometrie (AAS 3030, Perkin Elmer). Die Atomabsorptionsspektrometrie beruht generell auf der Absorption von ultraviolettem oder sichtbarem Licht durch neutrale, nicht angeregte, gasförmige Atome.

Zunächst werden jeweils 5µl der Serumproben im Verhältnis 1:101 mit einer Strontiumchlorid-Lösung verdünnt. Das Einsprühen der verdünnten Proben in eine Pressluft/Acetylen-Flamme lässt das Lösungsmittel verdampfen und die in den Proben enthaltenen Moleküle in Atome zerfallen. Die Calcium-Atome werden in dieser Flamme exakt bei der von einer Lichtquelle (Hohlkathodenlampe, deren Kathode aus Calcium besteht) ausgestrahlten Wellenlänge (422,7 nm) absorbiert. Durch die Lichtabsorption bei dieser Wellenlänge gelangen die Calcium-Atome vorübergehend in einen thermisch angeregten Zustand. Je mehr Atome in der zu messenden Probe vorhanden sind, desto höher ist das Ausmaß der Lichtschwächung [256].

Die Konzentration an Calcium in den Proben wird anhand einer Standardgeraden ermittelt. Für die Richtigkeits- und Präzisionskontrolle diente Precinorm U (Boehringer, Mannheim). Der VK liegt < 2,5%.

Parathormon

Die quantitative Bestimmung von intaktem PTH im Serum erfolgte mittels ELISA-Testsatz der Firma DRG.

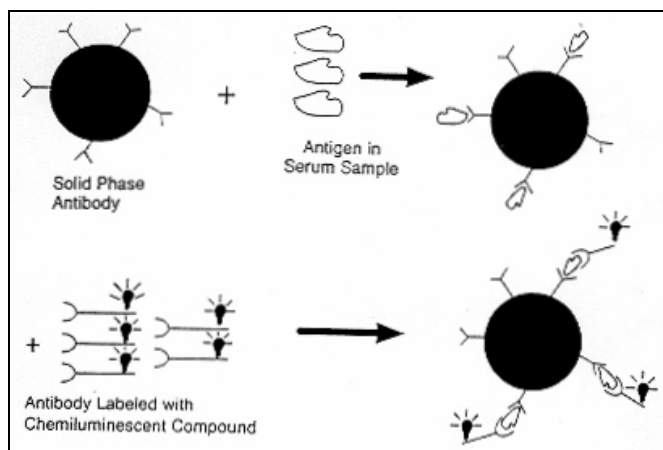


Abbildung 9: PTH-Testprinzip

Im ersten Schritt wird ein Inkubationspuffer in die mit anti-PTH beschichteten Wells gegeben, gefolgt von jeweils 200µl der Standards, Kontrollen und Serumproben. In der darauf folgenden 2-stündigen Inkubationszeit binden die anti-PTH-Antikörper sowohl die mittleren als auch die C-terminalen Fragmente des PTH 39-84, jedoch bildet nur die intakte Form PTH 1-84 einen Sandwichkomplex. Ein anschließender Waschvorgang mit verdünnter Waschlösung dient der Eliminierung ungebundener Komponenten.

Die Zugabe eines Inkubationsserums (lyophilisiert) und Enzymkonjugats, bestehend aus PTH Antiserum konjugiert mit Meerrettichperoxidase in Tris-HCL-Puffer mit bovinem Serum-Albumin, bewirken während der nachfolgenden 30-minütigen Inkubation, dass auch das N-terminale PTH 1-34 gebunden wird. Nach einem weiteren Waschschrift wird eine Farbentwicklungslösung (Tetramethylbenzidin) in alle Wells pipettiert, wobei die dadurch ausgelöste enzymatische Reaktion nach 30 Minuten durch Zugabe einer Stopp-Reagenz (H₂SO₄) beendet wird und zu einer Farbänderung führt. Die Farbintensität ist dabei direkt proportional zu der Konzentration von intaktem PTH in der Probe. Die Extinktion wird bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen.

Die Präzision und Reproduzierbarkeit dieses Testkits wird von DRG wie folgt kalkuliert.

Tabelle 17: Variationskoeffizienten (VK) der PTH-Bestimmung innerhalb einer Testreihe

Panel	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	VK [%]
1 (n = 10)	41	0,5	1,1
2 (n = 10)	594	12	2,0

Tabelle 18: Variationskoeffizienten (VK) der PTH-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen

Panel	Mittelwert [pg/ml]	Standardabweichung [pg/ml]	VK [%]
1 (n = 20)	45,7	3,3	7,1
2 (n = 20)	381	11,1	2,9

Phosphat

Zur Bestimmung von anorganischem Phosphat in den Serumproben (7µl) diente ein photometrischer Farbttest der Firma Wako. Dabei bildet Phosphat mit Ammoniummolybdat in saurer Lösung (Schwefelsäure) Ammoniumphosphomolybdat, einen Farbkomplex, dessen Absorption bei 340 nm der Phosphatkonzentration in der Probe proportional ist. Die Berechnung der Phosphatkonzentration aus der Extinktion der Proben erfolgt mit Hilfe der Extinktion der mitgeführten Standards nach folgender Formel:

$$\text{Berechnung: } \frac{E_2(\text{S}) - E_1(\text{S})}{E_2(\text{Cal}) - E_1(\text{Cal})} \times \text{Cal-Konzentration (mg/dl)} = \text{Phosphatkonzentration}$$

Für die Richtigkeits- und Präzisionskontrolle wurde Precinorm U (Boehringer, Mannheim) eingesetzt. Die Präzision des UV-Tests wird folgendermaßen angegeben:

Tabelle 19: Variationskoeffizienten (VK) der Phosphat-Bestimmung innerhalb einer Testreihe

Panel	Mittelwert [mg/dl]	Standardabweichung [mg/dl]	VK [%]
1 (n = 21)	3,99	0,04	1,09
2 (n = 21)	1,73	0,06	3,84

Tabelle 20: Variationskoeffizienten (VK) der Phosphat-Bestimmung zwischen verschiedenen Testreihen

Panel	Mittelwert [mg/dl]	Standardabweichung [mg/dl]	VK [%]
1 (n = 20)	5,11	0,09	1,93
2 (n = 20)	6,02	0,11	1,85

Albumin

Albumin wurde in den Serumproben (10µl) mit Hilfe eines photometrischen Farbttests der Firma bioMérieux bestimmt.

Durch die Reaktion von Albumin mit Bromkresolgrün (Farbreagenz) im sauren Milieu (pH 4,2) entsteht ein Farbkomplex, dessen Intensität gegen einen Reagenzien-Leerwert bei 628nm

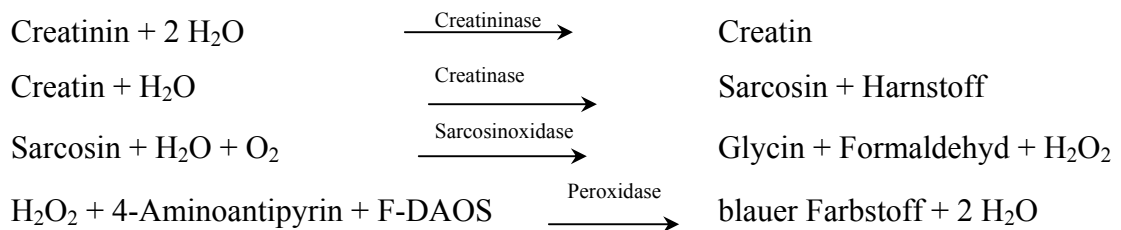
bestimmt wird. Die Albuminkonzentration der Serumproben wurde über die Extinktion der Proben und Standards nach folgender Formel ermittelt:

$$\text{Berechnung: } E_{\text{Probe}} / E_{\text{Standard}} \times 5 (724,5) = \text{g/dl } (\mu\text{mol/l})$$

Als Qualitätskontrolle diente Precinorm U (Boehringer, Mannheim).

Creatinin

Die Creatinin-Bestimmung erfolgte enzymatisch in den Serumproben (5 μ l) mittels Testsatz der Firma Wako nach folgendem Reaktionsschema:



Der erste Schritt der enzymatischen Reaktion beginnt mit der Umwandlung von Creatinin in Creatin durch Creatininase, welches dann durch Creatinase zu Sarcosin und Harnstoff gespalten wird. Durch die anschließende Oxidation des Sarcosin durch Sarcosinoxidase entsteht eine der Creatininkonzentration äquivalente Menge Wasserstoffperoxid, das unter Einwirkung von Peroxidase mit 4-Aminoantipyrin und N-Ethyl-N-(2-hydroxy-3-sulfopropyl)-3,5-dimethoxy-4-fluoroanilin, Natriumsalz (F-DAOS) einen blauen Farbstoff erzeugt. Dessen Extinktion wird bei 600 nm im Photometer gegen einen Blindwert bestimmt. Dabei verhält sich die Menge des gebildeten Farbstoffes proportional zu der Creatininkonzentration.

Die Berechnung der Creatininkonzentration in der Probe ergibt sich aus folgender Formel:

$$\text{Berechnung: } \frac{E_2(\text{S}) - E_1(\text{S})}{E_2(\text{Cal}) - E_1(\text{Cal})} \times \text{Cal-Konzentration (mg/dl)} = \text{Creatininkonzentration}$$

Zur Kontrolle von Präzision und Richtigkeit wurde Precinorm U (Boehringer, Mannheim) verwendet.

3.7 Statistik

Die ermittelten Daten wurden mit Hilfe des statistischen Software-Programms SPSS (Statistical Package for the Social Sciences; Chicago, Illinois), Version 11.0 für Windows, analysiert. Da es sich bei den meisten biochemischen Parameter nach dem Kolmogorov-Smirnov-Test um nicht-normalverteilte Daten handelte, kamen verteilungsunabhängige (nicht-parametrische) Verfahren zum Einsatz. Um Veränderungen zwischen den beiden Untersuchungszeitpunkten innerhalb der Studiengruppen zu erfassen, wurde der Wilcoxon-Test verwendet. Mit dem U-Test nach Mann und Whitney wurden die einzelnen Gruppen untereinander zu Studienbeginn und am Ende der Studie verglichen. Die Ergebnisse nach neun Monaten sind als Differenz zu den Basisdaten dargestellt. Um beide Gruppen diesbezüglich zu vergleichen, wurden zunächst die Daten durch eine logarithmische Transformation normalverteilt, da ein Großteil der Parameter nicht normalverteilt war. Der Vergleich zwischen beiden Gruppen bezüglich der Differenz zu den Basisdaten erfolgte dann mittels ANCOVA, wobei die Basisdaten als Kovariate in die Analyse mit einbezogen wurden. Korrelationen zwischen den ermittelten Daten wurden nach Spearman-Rho berechnet. Alle Analysedaten werden als Median und Interquartile angegeben. Überlebensraten wurden nach der Kaplan-Meier-Methode ermittelt. Da erst nach mindestens 3-6 Monaten ein Plateau der zirkulierenden 25(OH)D-Plasmakonzentrationen erreicht wird [213], wurde die Überlebensrate in beiden Behandlungsgruppen während eines Follow-Up von 15 Monaten berechnet. Der log-rank-Test diente dabei der Bestimmung möglicher Unterschiede bezüglich der Überlebenskurven zwischen beiden Gruppen.

Bei allen statistischen Testverfahren gelten die folgenden Signifikanzniveaus für die Irrtumswahrscheinlichkeit:

$p > 0,05$ nicht signifikant (NS)

$p \leq 0,05$ signifikant

4 Ergebnisse

4.1 Basis-Charakteristika

Die Basis-Charakteristika der 123 eingeschlossenen Patienten sind in Tabelle 21 aufgeführt. Durch die Randomisierung wurden 61 Patienten der Vitamin D-Gruppe und 62 Patienten der Placebo-Gruppe zugeteilt.

Tabelle 21: Basis-Charakteristika der Studienteilnehmer [Median und Interquartile]

Charakteristika	Vitamin D-Gruppe (n=61)	Placebo-Gruppe (n=62)	P-Wert
Männer (n)	52	50	0,500
Durchschnittsalter (in Jahren)	57 (53-63)	54 (50-62)	0,217
Größe (m)	1,76 (1,69-1,82)	1,76 (1,68-1,82)	0,693
Gewicht (kg)	83 (72-91)	79 (71-89)	0,404
Body Mass Index (BMI) (kg/m ²)	26,0 (23,9-29,0)	25,4 (24,3-28,4)	0,756
Raucher (n)	9	7	0,570
Erkrankungen (%)			
Koronare Herzkrankheiten (KHK)	47	40	0,422
Dilatative Kardiomyopathie (DCM)	53	60	0,422
Hypertonie	38	32	0,528
Diabetes	20	23	0,694
Medikamenteneinnahme (%)			
Diuretika	97	100	0,152
Schleifendiuretika	84	84	0,968
Thiazide	26	31	0,589
Aldosteronantagonisten	61	68	0,414
Antihypertonika	93	95	0,682
ACE-Hemmer	72	86	0,071
Digitalisglykoside	71	81	0,192
Beta-Blocker	92	87	0,398
Koronartherapeutika	51	37	0,127
Kaliumsupplemente	25	23	0,794
Magnesiumsupplemente	23	21	0,791
Urikostatika	39	36	0,660
Lipidsenker	53	42	0,244
Antikoagulantien	79	61	0,036

Mit Ausnahme der Einnahme von Antikoagulantien waren beide Gruppen hinsichtlich aller erfassten Parameter vergleichbar. Die Basistherapie umfasste während der Studie konventionell die Gabe von Diuretika, ACE-Hemmern, β -Blockern, Digitalis und Antikoagulantien. Zusätzlich wurde die Erkrankung mit dem Einsatz von Koronartherapeutika, Urikostatika und Lipidsenker behandelt. Zur Verminderung der durch Diuretika bedingten Hypokaliämie und Hypomagnesiämie wurde bei ca. 23% der Patienten Kalium und Magnesium medikamentös zugeführt. Die Medikation wurde während des Studienzeitraums nicht verändert. Beide Gruppen waren bezüglich Größe, Gewicht, begleitende Erkrankungen sowie hinsichtlich der medikamentösen Einstellung vergleichbar.

4.2 Drop-out - Rate

Von den 123 Patienten haben 30 Patienten (28 Männer und 2 Frauen) die Studie nicht beendet (Abb. 10). Davon befanden sich 19 Patienten in der Vitamin D-Gruppe und 11 in der Placebo-Gruppe. Die Anzahl der Drop-outs in beiden Gruppen unterschied sich statistisch nicht signifikant ($P > 0,05$). 5 Patienten beendeten die Studie vorzeitig aufgrund fehlender Compliance, d.h. die Einnahme des Studienpräparates erfolgte nicht vorschriftsgemäß: bei einem Patienten aufgrund von Vergesslichkeit, 2 Patienten wurde die Supplementation zusätzlich zu den anderen erforderlichen Medikamenten zu viel und weitere 2 Patienten waren mit ihrer Erkrankung so beschäftigt, dass sie sich durch die zusätzliche Teilnahme an dieser Studie überfordert fühlten.

Bei den restlichen 25 Patienten, die die Studie nicht beendet haben, waren klinische Gründe die Ursache für das frühere Ausscheiden aus der Studie. Dabei entwickelte 1 Patient aus der Placebo-Gruppe eine Nephrolithiasis, 7 Studienteilnehmer konnten die Studie nicht beenden infolge eines zu stark eingeschränkten Gesundheitszustandes, zum Teil verbunden mit Schlaganfällen, Reanimationspflichtigkeit und sehr häufigen und langen Krankenhausaufenthalten, bei 3 Patienten war die Implantation eines biventrikulären Schrittmachers erforderlich, 5 Patienten mussten transplantiert werden und 9 Patienten sind verstorben.

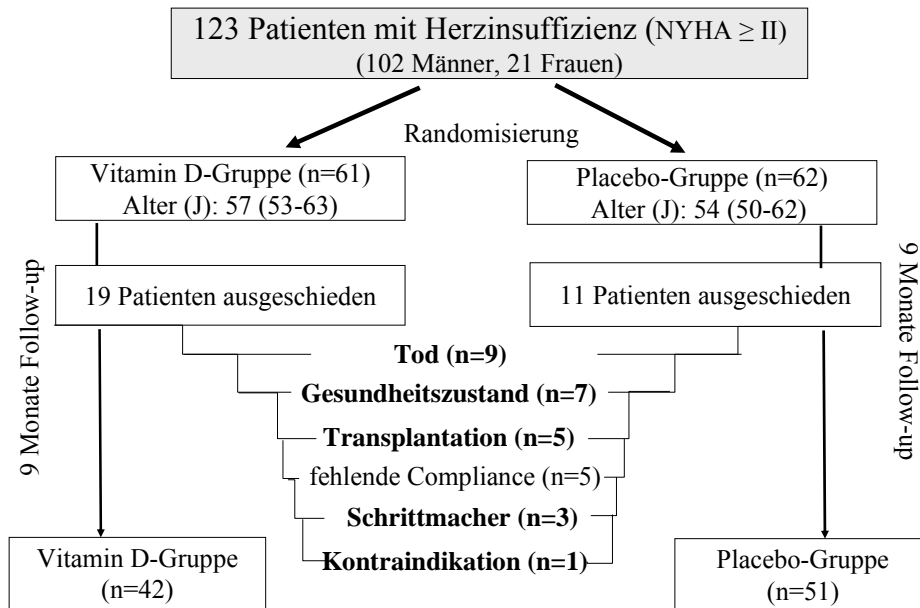


Abbildung 10: Flussdiagramm der Studienteilnehmer

4.3 Basisdaten der ausgeschiedenen Patienten

Wie in Tabelle 22 dargestellt, wiesen die 25 Patienten, die aufgrund klinischer Ursachen ausgeschieden sind, zu Beginn der Studie im Vergleich mit den in der Studie verbliebenen Patienten beider Gruppen signifikant höhere Plasmaspiegel der natriuretischen Peptide NT-proBNP und NT-proANP auf. Die Konzentrationen an CRP, PTH und Calcium im Serum lagen bei diesen Patienten ebenfalls deutlich höher als bei den Studienteilnehmern. Die 25(OH)D-Plasmaspiegel lagen bei den ausgeschiedenen Patienten tendenziell niedriger. Außerdem zeigten sich bei diesen drop-out Patienten die schlechtesten Werte bezüglich der LVEF, LVEDD und des HTQ, verglichen mit den Patienten, die die Studie beendet haben.

Tabelle 22: Biochemische und klinische Parameter der Studiengruppen und der ausgeschiedenen Patienten zu Studienbeginn [Median und Interquartile]

Parameter	Beide Behandlungsgruppen (n = 93)	Drop-out Patienten (n = 25)	P-Wert
NT-proBNP (pg/ml)	835 (231-1524)	1719 (928-2564)	0,003
NT-proANP (nmol/L)	1,00 (0,43-1,83)	1,93 (1,25-2,77)	0,002
25(OH)D (nmol/L)	38,0 (30,0-55,3)	28,0 (22,0-48,5)	0,050
Calcitriol (pmol/L)	55,7 (36,7-91,0)	63,4 (43,2-74,9)	0,340
Calcium (mmol/L)	2,40 (2,32-2,50)	2,50 (2,46-2,63)	0,000
PTH (pg/ml)	37,0 (27,2-53,0)	45,7 (33,2-74,7)	0,029
TNF- α (pg/ml)	22,4 (15,8 31,1)	21,3 (16,1-24,7)	0,443
CRP (mg/L)	2,88 (1,16-7,27)	7,58 (2,53-21,2)	0,014
IL-10 (pg/ml)	0,74 (0,38-1,28)	0,56 (0,30-1,70)	0,694
Phosphat (mg/dl)	3,84 (3,50-4,00)	3,47 (2,98-4,12)	0,077
Creatinin (mg/dl)	0,87 (0,64-1,18)	0,94 (0,68-1,22)	0,573
Albumin (g/dl)	4,69 (4,46-5,02)	4,81 (4,55-5,04)	0,498
LVEF (%)	33,0 (29,0-40,0)	29,0 (26,0-32,5)	0,015
LVEDD (mm)	69,0 (62,0-74,3)	73,0 (69,5-81,0)	0,020
HTQ	0,53 (0,48-0,56)	0,55 (0,51-0,61)	0,026
VO ₂ max. (ml/kg KG/min)	15,7 (13,1-17,6)	14,3 (12,3-16,4)	0,824

4.4 Zielparameter im Gruppenvergleich

Nachfolgende Tabelle zeigt die ermittelten biochemischen und klinischen Parameter der 93 Studienteilnehmer beider Behandlungsgruppen im Studienverlauf.

Tabelle 23: Biochemische und klinische Parameter der Studiengruppen im Studienverlauf [Median und Interquartile]

Parameter	Baseline		Differenz zu den Basisdaten			
	Vitamin D-Gruppe (n = 42)		Placebo-Gruppe (n = 51)		P-Wert zwischen den Gruppen	
	Vitamin D-Gruppe (n = 42)	Placebo-Gruppe (n = 51)	Vitamin D-Gruppe (n = 42)	Placebo-Gruppe (n = 51)	P-Wert zwischen den Gruppen ¹	
NT-proBNP (pg/ml)	721 (444-1140)	859 (180-1869)	+9 (-99; +277)	+50 (-111; +436)	0,909	0,457
NT-proANP (nmol/L)	0,99 (0,52-1,84)	1,00 (0,43-1,81)	+0,05 (-0,24; +0,73)	+0,03 (-0,94; +0,88)	0,923	0,384
CRP (mg/L)	2,50 (0,98-6,60)	3,43 (1,57-12,1)	0,00 (-1,37; +1,71)	-0,05 (-2,80; +2,20)	0,152	0,246
TNF- α (pg/ml)	20,9 (14,1-25,1)	23,0 (16,5-32,7)	-2,0 (-4,3; +5,5)	+2,7 (-19,6; +32,8)*	0,130	0,006
IL-10 (pg/ml)	0,56 (0,31-1,27)	0,91 (0,53-1,35)	+0,24 (-0,11; +0,41)*	-0,20 (-0,39; +0,41)	0,044	0,042
25(OH)D (nmol/L)	36,0 (28,8-55,3)	38,8 (31,8-57,0)	+67,0 (-23,0; +87,8)*	+9,0 (-7,0; +21,3)*	0,561	0,001
Calcitriol (pmol/L)	23,1 (14,0-35,3)	23,6 (16,2-39,0)	+7,5 (-9,2; +14,8)	+0,9 (-7,8; +8,0)	0,836	0,112
Calcium (mmol/L)	9,52 (9,24-10,0)	9,72 (9,28-10,1)	+0,08 (-0,10; +0,17)	-0,12 (-0,09; +0,12)	0,489	0,869
PTH (pg/ml)	34,6 (26,7-48,0)	39,2 (28,9-63,9)	-4,9 (-14,3; +3,3)*	-4,4 (-10,3; +13,1)	0,857	0,007
Phosphat (mg/dl)	3,81 (3,69-4,00)	3,84 (3,44-4,00)	+0,09 (-0,05; +0,05)	-0,03 (-0,06; +0,06)	0,181	0,354
Creatinin (mg/dl)	0,83 (0,65-1,27)	0,90 (0,60-1,15)	0,00 (-0,12; +1,40)	-0,02 (-0,16; +0,16)	0,901	0,844
Albumin (g/dl)	4,62 (4,40-5,01)	4,76 (4,48-5,05)	-0,02 (-0,44; +0,49)	-0,12 (-0,44; +0,50)	0,251	0,607
SBP (mmHg)	123 (114-133)	128 (111-142)	-3 (-14; +8)	-4 (-13; +8)	0,659	0,865
DBP (mmHg)	75,0 (68,0-84,0)	77,0 (65,0-85,0)	-3 (-9; +3)	-2 (-7; +8)	0,716	0,376
LVEF (%)	32,5 (26,8-38,5)	33,0 (29,8-40,0)	+2 (-2; +7)*	+3 (0; +9)*	0,326	0,643
LVEDD (mm)	69,0 (63,0-75,0)	69,0 (61,0-73,5)	-3,0 (-5,8; +1,0)*	-2,5 (-5,8; 0,0)*	0,755	0,768
HTQ	0,53 (0,50-0,56)	0,52 (0,48-0,57)	0,00 (-0,02; +0,02)	0,00 (-0,02; +0,03)	0,917	0,788
VO ₂ max. (ml/kg/KG/min)	16,1 (13,8-17,4)	14,6 (12,8-18,1)	-0,2 (-1,8; +2,0)	+0,9 (-1,4; +2,6)	0,917	0,429

* Differenz zu den Basisdaten ist signifikant innerhalb einer Gruppe

¹ ANCOVA mit den Basiswerten als Kovariate

Primäre Zielparameter

Biochemische Parameter

Mit Ausnahme der IL-10 Serumkonzentration unterschieden sich die Baseline-Werte dieser Parameter in beiden Behandlungsgruppen nicht voneinander.

Während des Studienverlaufs ergaben sich durch die Vitamin D-Supplementierung signifikante Behandlungseffekte bezüglich der 25(OH)D-Spiegel im Plasma sowie der Serumkonzentrationen an TNF- α , IL-10 und PTH zwischen beiden Gruppen. Die anderen biochemischen Parameter zeigten durch die Vitamin D-Supplementierung während der Studie keine Veränderungen.

Die zirkulierenden Konzentrationen an 25(OH)D im Plasma stiegen im Studienzeitraum bei den Patienten, die ein Vitamin D-Präparat einnahmen, um 67 nmol/L (185%) signifikant an ($P=0,000$). In der Placebo-Gruppe kam es hingegen nur zu einem Anstieg von 9 nmol/L (23,5%) ($P=0,055$). Damit konnte die 25(OH)D-Konzentration im Plasma durch die Vitamin D-Supplementation verdreifacht werden und stieg auf 25(OH)D-Werte von 103 nmol/L an.

Zu Beginn der Studie zeigte sich in jeweils 69% der Fälle sowohl bei den Patienten der Vitamin D-Gruppe als auch bei denen der Placebo-Gruppe eine insuffiziente Vitamin D-Versorgung ($25(OH)D < 50$ nmol/L) (Abb. 11). Am Studienende lag der Anteil der Patienten, die eine insuffiziente Vitamin D-Versorgung aufweisen, in der Placebo-Gruppe bei 57%, wohingegen in der Vitamin D-Gruppe nur noch 10% der Patienten einen 25(OH)D-Spiegel unter 50 nmol/L aufwiesen (Abb. 12). Mehr als die Hälfte der Patienten aus der Vitamin D-Gruppe wiesen am Studienende eine adäquate Vitamin D-Versorgung ($25(OH)D > 100$ nmol/L) auf, wobei zu Beginn der Studie bei keinem einzigen Patienten der Vitamin D-Gruppe 25(OH)D-Werte > 100 nmol/L beobachtet werden konnten.

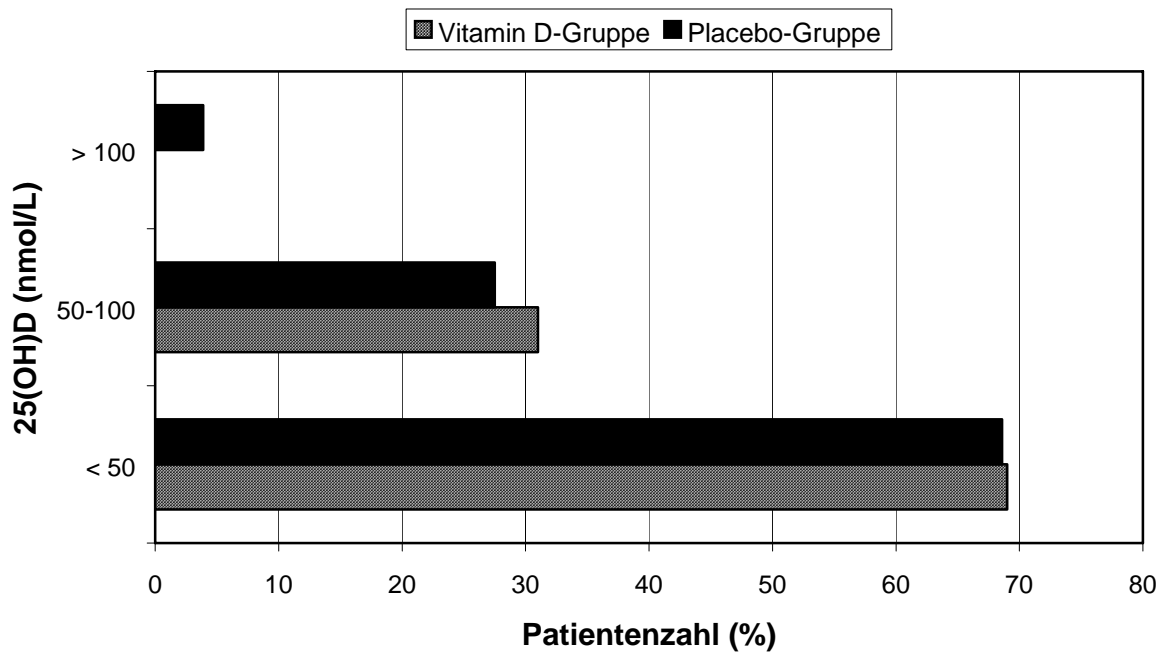


Abbildung 11: Klassifizierung des Vitamin D-Status in der Vitamin D-Gruppe und der Placebo-Gruppe zu Studienbeginn

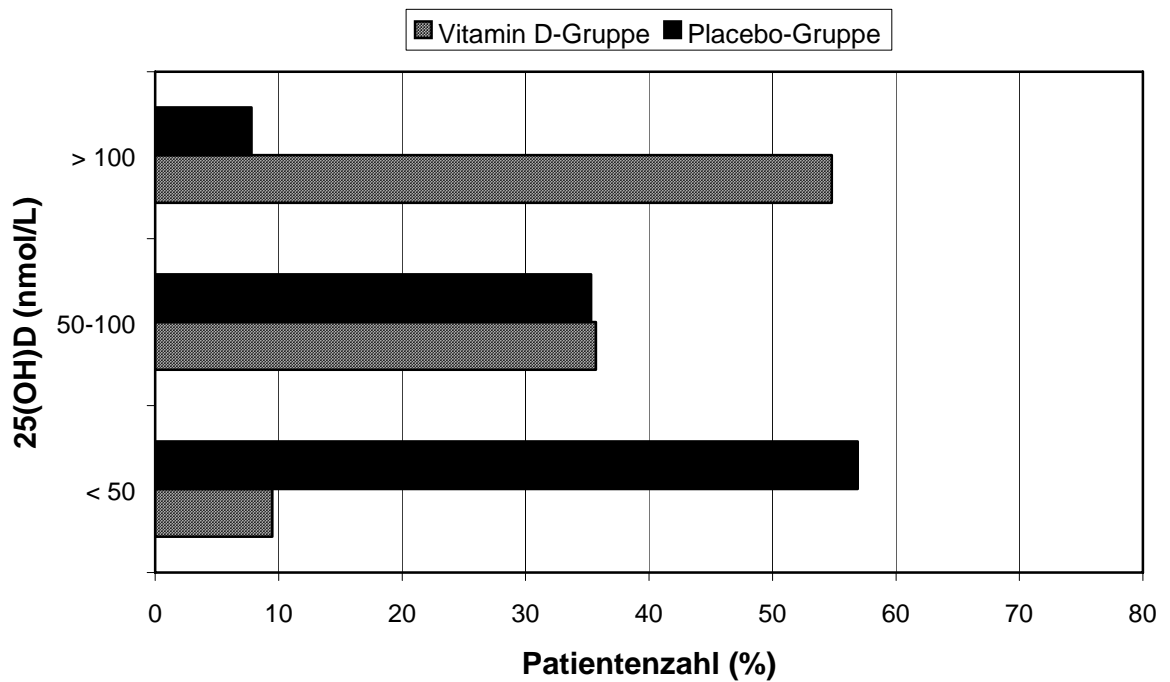


Abbildung 12: Klassifizierung des Vitamin D-Status in der Vitamin D-Gruppe und der Placebo-Gruppe zum Studienende

Wird in diesem Rahmen die Jahreszeit der Patienten-Rekrutierung mitberücksichtigt, zeigte sich, dass die 25(OH)D-Plasmakonzentrationen der Patienten, die im Winter/Frühling rekrutiert wurden, mit durchschnittlich 33,4 nmol/L deutlich niedriger lagen als die der Patienten, die im Sommer/Herbst in die Studie eingeschlossen wurden mit durchschnittlich 48,2 nmol/L (Tab. 24). Die Prävalenz einer Vitamin D-Insuffizienz lag dabei in den Wintermonaten (73,4%) deutlich höher als in den Sommermonaten (26,6%).

Tabelle 24: Saisonale Unterschiede der 25(OH)D-Plasmakonzentration bei allen CHI-Patienten zu Studienbeginn [Median und Interquartile]

Winter/Frühling ^a 25(OH)D (nmol/L) (n = 64)	33,4 (25,8-53,2)
Sommer/Herbst ^b 25(OH)D (nmol/L) (n = 29)	48,2 (34,2-64,5)
Signifikanz (p)	0,006

^aNovember bis April inklusive

^bMai bis Oktober inklusive

Anhand folgender Tabelle lässt sich erkennen, dass durch die Vitamin D-Supplementation eine insuffiziente Vitamin D-Versorgung im Winter vermieden werden konnte. Die 25(OH)D-Spiegel lagen in der Vitamin D-Gruppe sowohl bei den Patienten, die die Studie in den Wintermonaten beendeten als auch bei denen, die die Studie in den Sommermonaten abgeschlossen haben, jeweils etwa doppelt so hoch wie bei den Patienten in der Placebo-Gruppe. Die saisonalen Unterschiede, die zu Studienbeginn noch bei allen Studienteilnehmern vorhanden waren, existierten am Ende der Studie nicht mehr.

Tabelle 25: Saisonale Unterschiede der 25(OH)D-Plasmakonzentration, getrennt nach Behandlungsgruppen am Studienende [Median und Interquartile]

	25(OH)D (nmol/L)		Signifikanz (p)
	Winter/Frühling ^a	Sommer/Herbst ^b	
Placebo-Gruppe	45,5 (31,0-56,0) (n = 31)	58,0 (33,6-78,2) (n = 20)	NS
Vitamin D-Gruppe	95,6 (69,8-125,6) (n = 26)	116,1 (73,7-142,3) (n = 16)	NS
Signifikanz (p)	0,000	0,001	

^aNovember bis April inklusive

^bMai bis Oktober inklusive

Die Serumkonzentrationen an TNF- α lagen in beiden Behandlungsgruppen deutlich höher als bei gesunden Personen generell im Durchschnitt erwartet wird (6 ± 4 pg/ml) (DRG Diagnostics). Bei den Patienten, die Vitamin D supplementierten, blieb der TNF- α -Spiegel konstant (-10%, $P=0,812$), während die TNF- α -Serumkonzentrationen in der Placebo-Gruppe um 12% signifikant anstiegen ($P=0,017$).

Des Weiteren kam es durch die Vitamin D-Supplementierung in der Vitamin D-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der IL-10-Serumkonzentration um 43% ($P=0,035$), während die IL-10-Werte bei den Patienten der Placebo-Gruppe unverändert blieben (-22%, $P=0,579$). Trotz der zu Studienbeginn noch signifikant niedrigeren IL-10-Serumspiegel in der Vitamin D-Gruppe, verglichen mit der Placebo-Gruppe, konnte am Ende der Studie ein signifikanter Behandlungseffekt durch die Vitamin D-Supplementierung erzielt werden.

Hinsichtlich der PTH-Werte im Serum konnte in der Vitamin D-Gruppe durch die Supplementierung des Vitamin D-Präparates ein deutlicher Rückgang um 14% verzeichnet werden ($P=0,034$), während sich in der Placebo-Gruppe keine signifikanten Veränderungen ergaben (-11%, $P=0,582$).

Nachfolgende Tabelle zeigt die PTH-Spiegel aller Patienten bei verschiedenen Stadien der Vitamin D-Versorgung und verdeutlicht die inverse Assoziation zwischen den Vitamin D-Klassen und den dazugehörigen PTH-Konzentrationen im Serum ($r_s=-1,000$; $P<0,01$).

Tabelle 26: PTH-Serumkonzentrationen aller Patienten [Median und Interquartile] bei verschiedenen 25(OH)D-Konzentrationen

25(OH)D (nmol/L)	PTH (pg/ml)
< 25	45,8 (29,6-73,7)
25-<50	38,1 (30,1-55,1)
50-<75	33,8 (26,7-48,0)
75-<100	32,7 (27,3-48,1)
≥ 100	29,9 (25,9-48,9)

Am Ende der Studie wiesen die mit Vitamin D-behandelten Patienten signifikant höhere Vitamin D-Spiegel und signifikant niedrigere Serumkonzentrationen an TNF- α und PTH auf als die Patienten der Placebo-Gruppe.

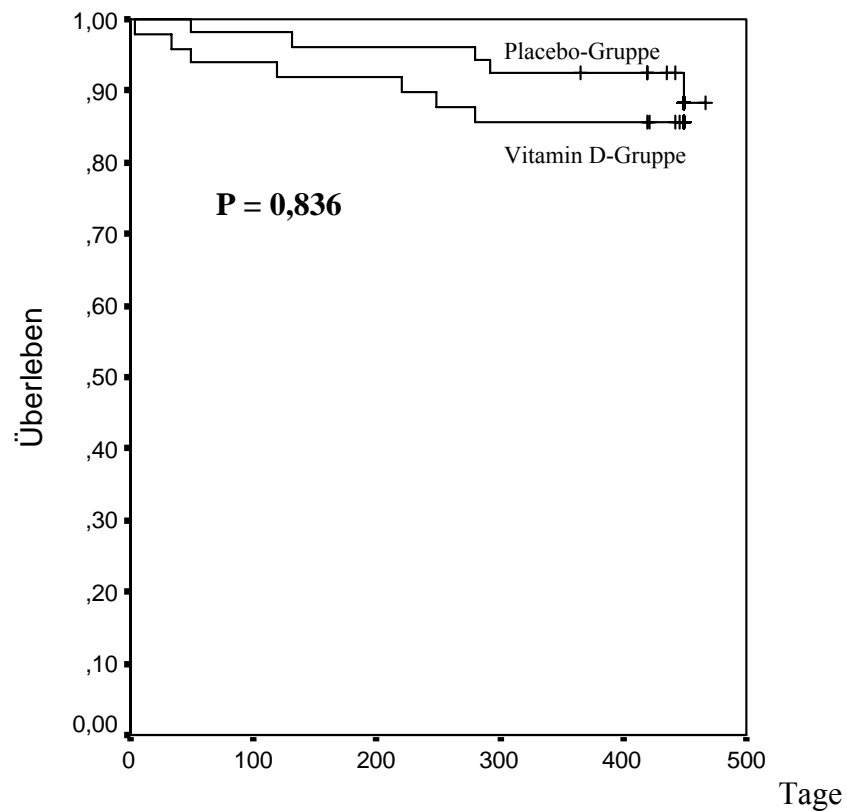
Sekundäre Zielparameter

Klinische Parameter

Hinsichtlich klinischer Untersuchungsergebnisse der Echokardiographie, Blutdruckmessung, Röntgenthorax und Spiroergometrie unterschieden sich beide Behandlungsgruppen zu Studienbeginn nicht voneinander. Während des Studienverlaufs konnte ein signifikanter Anstieg der LVEF und eine signifikante Abnahme des LVEDD sowohl in der Vitamin D-Gruppe ($P=0,018$ bzw. $P=0,025$) als auch in der Placebo-Gruppe ($P=0,003$ bzw. $P=0,005$) erzielt werden. Das Ausmaß der Differenz zu den Basisdaten unterschied sich jedoch nicht zwischen beiden Gruppen, sodass ein behandlungsspezifischer Effekt ausblieb. Die anderen klinischen Parameter blieben während des Studienzeitraums unverändert.

Mortalitätsrate

Die Mortalitätsrate unterschied sich in beiden Behandlungsgruppen nicht voneinander (Abb. 13). Während eines Follow-ups von 15 Monaten verstarben insgesamt 13 Patienten, davon 7 aus der Vitamin D-Gruppe und 6 aus der Placebo-Gruppe. Die Überlebensraten der Vitamin D-Gruppe und der Placebo-Gruppe lagen bei 85,7% bzw. bei 88,2% ($P=0,836$).



“Patients at risk”

Placebo-Gruppe	62	61	60	58	58	56
Vitamin D-Gruppe	61	58	57	54	54	54

Abbildung 13: Kaplan-Meier-Überlebenskurve der CHI-Patienten, getrennt nach Behandlungsgruppe

Körperliche Leistungsfähigkeit

Die Auswertung des Fragebogens zur körperlichen Leistungsfähigkeit hat keine signifikanten Veränderungen innerhalb der Gruppen im Studienverlauf ergeben (Tab. 27). Auch zwischen den Gruppen konnte weder zu Studienbeginn noch am Ende der Studie ein Unterschied festgestellt werden ($P > 0,05$).

Tabelle 27: Auswertung des Fragebogens (siehe Anlage)

Messpunkte	<u>Vitamin D-Gruppe (%)</u>			<u>Placebo-Gruppe (%)</u>		
	Beginn	Ende	P-Wert	Beginn	Ende	P-Wert
<u>Körperliches Befinden:</u>			0,851			0,308
Sehr schlecht	2,4	2,4		0	5,9	
Eher schlecht	19,0	19,0		21,6	15,7	
Mittelmäßig	33,3	35,7		35,3	39,2	
Gut	38,1	38,1		35,3	37,3	
Sehr gut	7,1	4,8		7,8	2,0	
<u>Maximale Gehstrecke ohne Atemnot:</u>			1,000			0,987
Bis 100 m	21,4	28,6		19,6	25,5	
Bis 500 m	33,3	26,2		31,4	21,6	
Bis 2 km	28,6	21,4		25,5	27,5	
Unbegrenzt	16,7	23,8		23,5	25,5	
<u>Maximale Anzahl an Treppenstufen ohne Atemnot:</u>			0,819			0,984
Keine	2,4	2,4		0,0	5,9	
Bis 6 Stufen	9,5	7,1		13,7	5,9	
Bis 12 Stufen	40,4	47,6		39,2	39,2	
Mehr als eine Etage	47,6	42,9		47,1	49,0	
<u>Schlafposition:</u>			0,129			0,380
Flach	28,6	21,4		27,5	25,5	
Mit zusätzlichem Kissen	16,7	14,3		13,7	9,8	
In Oberkörperhochlage	47,6	54,8		49,0	52,9	
Nahezu sitzend	7,1	9,5		9,8	11,8	
<u>Nykturiehäufigkeit:</u>			0,617			1,000
Kein Mal	9,5	14,3		29,4	29,4	
1-2 mal	64,3	57,1		45,1	47,1	
2-3 mal	11,9	16,7		13,7	9,8	
Mehr als 3 mal	10,0	11,9		11,8	13,7	

Der überwiegende Teil der Patienten in der Vitamin D-Gruppe (33-38%) sowie der Placebo-Gruppe (35-39%) stufte sein körperliches Befinden am Anfang und am Ende der Studie als „mittelmäßig“ und „gut“ ein. Bei der Frage nach der maximalen Gehstrecke ohne Anzeichen von Atemnot verteilte sich der prozentuale Anteil der Patienten beider Gruppen bezüglich der Angaben von „bis zu 100 m“ über „bis zu 500 m“ und „bis 2 km“ bis hin zu „unbegrenzt“ sowohl zu Studienbeginn als auch am Ende der Studie annähernd gleichmäßig. Die meisten Patienten der Vitamin D-Gruppe (40-48%) und auch der Placebo-Gruppe (39-49%) gaben zu beiden Untersuchungszeitpunkten an, 12 Treppenstufen oder auch mehr gehen zu können, ohne dass Atemnot eintritt. Ungefähr die Hälfte aller Patienten können aufgrund von Atemnot nur noch in Oberkörperhochlage schlafen und müssen nachts 1-2 mal die Toilette aufsuchen, um die vermehrte Flüssigkeitsansammlung im Körper, die infolge der eingeschränkten renalen Funktion auftritt, durch erhöhte Urinausscheidung wieder abzubauen.

Auswertung der Ernährungsprotokolle

Die Ernährungsprotokolle wurden von den Patienten während des Studienverlaufs ohne vorherige Beratung zuhause ausgefüllt und umfassten daher eine traditionelle Kost. Die Auswertung der Ernährungsprotokolle ergab während des Studienzeitraums im Durchschnitt eine tägliche, alimentäre Vitamin D-Aufnahme von $1,9 \mu\text{g} \pm 2,1 \mu\text{g}$ bei der Vitamin D-Gruppe und $2,2 \mu\text{g} \pm 3,0 \mu\text{g}$ bei der Placebo-Gruppe sowie eine durchschnittliche Calciumzufuhr mit der Nahrung von $1029 \text{ mg} \pm 355 \text{ mg}$ bzw. $940 \text{ mg} \pm 376 \text{ mg}$ pro Tag. Beide Gruppen unterschieden sich weder im Hinblick auf die Vitamin D-Aufnahme noch auf die Calcium-Zufuhr mit der Nahrung voneinander ($P > 0,05$).

5 Diskussion

Studiendesign/Methodik

Im Rahmen dieser randomisierten, doppelblinden, placebo-kontrollierten Studie wurde erstmals der Einfluss einer Vitamin D-Supplementierung auf biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz untersucht. Die Vitamin D-Supplementierung erfolgte in einer Höhe von 50 µg Cholecalciferol (2.000 IE) pro Tag. Diese Menge gilt derzeit als höchste tägliche Dosis, die nach Angaben des Food and Nutrition Board der USA und der D.A.CH.-Arbeitsgruppe als unbedenklich anzusehen ist und somit ohne Risiko einer Hypercalcämie eingenommen werden kann [194, 257]. Die Höhe der Dosierung basiert auf einer Reihe von Studien, die gezeigt haben, dass eine geringe tägliche Vitamin D-Zufuhr von beispielsweise 5-15 µg nicht ausreicht, um einer insuffizienten Vitamin D-Versorgung ($25(\text{OH})\text{D} < 50 \text{ nmol/L}$) bei mangelnder UVB-Exposition vorzubeugen [210, 258, 259]. Im allgemeinen wird davon ausgegangen, dass $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel von mindestens 50 nmol/L notwendig sind, um die Vitamin D-abhängigen Körperfunktionen in ausreichendem Maße zu gewährleisten [165, 209, 238]. Bereits zur Erhaltung von $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegeln von mindestens 40 nmol/L scheint eine tägliche Aufnahme von mindestens 20-25 µg (800-1000 IE) Vitamin D erforderlich zu sein [260]. Daher erfolgte die Supplementierung bei den CHI-Patienten in einer Höhe von 50 µg/Tag, welches zu adäquaten $25(\text{OH})\text{D}$ -Plasmaspiegeln von $>100 \text{ nmol/L}$ führte.

Da es studienzufolge bekannt ist, dass 1 µg Cholecalciferol pro Tag die $25(\text{OH})\text{D}$ -Plasmaspiegel im Durchschnitt um 0,7-1 nmol/L erhöht [238, 260], ist davon auszugehen, dass die im Rahmen der Studie täglich aufgenommene, alimentäre Zufuhr von Vitamin D in einer Höhe von lediglich 1,9 µg (Vitamin D-Gruppe) bzw. 2,2 µg (Placebo-Gruppe) im Hinblick auf die $25(\text{OH})\text{D}$ -Plasmaspiegel keinen Einfluss gehabt hat.

Die Compliance der Patienten wurde durch Überprüfung des Studienpräparates (Anzahl der verbrauchten Fläschchen/Inhalt der Fläschchen) sowie durch Analyse der $25(\text{OH})\text{D}$ -Spiegel im Plasma kontrolliert. Der Anstieg der $25(\text{OH})\text{D}$ -Konzentration bei den Patienten, die Vitamin D supplementierten, gegenüber dem der Placebo-Gruppe zeigte den gemäß Studienanforderungen ordnungsgemäßen Umgang mit den Prüfpräparaten.

Da die Rekrutierung und damit die Gewinnung der Blutproben zu verschiedenen Zeitpunkten über das ganze Jahr erfolgte, kann davon ausgegangen werden, dass die gewonnenen Daten dieser Studie die Auswirkungen der Intervention reflektieren und nicht der Jahreszeit. Jedoch liegt im Rahmen einer Interventions-Studie mit Vitamin D die einzigartige Problematik vor, dass eine solche Studie, trotz der Durchführung unter doppelblinden, placebo-kontrollierten Bedingungen, immer durch die kutane Vitamin D-Synthese, die 80-90% der jährlichen Vitamin D-Versorgung bestreitet, beeinflusst wird. Daher lässt sich der einzelne Effekt des Vitamin D-Präparates, unabhängig von der körpereigenen Vitamin D-Synthese, nur schwer herauskristallisieren. Außerdem kam es dadurch auch in der vorliegenden Studie dazu, dass selbst in der Placebo-Gruppe, die kein Vitamin D-Präparat erhalten hatte, ebenfalls ein Anstieg der 25(OH)D-Plasmakonzentration um fast 24% zu verzeichnen war. Ohne diesen Einfluss der kutanen Vitamin D-Synthese wären die Auswirkungen der Vitamin D-Supplementierung möglicherweise größer und deutlicher gewesen.

Beiden Gruppen wurde zusätzlich täglich ein Calciumpräparat in einer Dosierung von 500 mg Calcium verabreicht. Daher kann ein unabhängiger Einfluss des Calciumpräparats auf die myokardiale Funktion während des Studienverlaufs nicht ausgeschlossen werden (s. Kap. 2.3). Dies könnte die Ergebnisse beider Studiengruppen beeinflussen. Da aber die Calciumzufuhr in westlichen Ländern oftmals unter den Zufuhrempfehlungen von 1000-1200 mg/Tag liegt [261, 262] und dies ebenso der Fall bei einem Teil der Patienten dieser Studie war (s. Kap. 4.4), schien es unethisch zu sein, nicht beiden Gruppen auch ein Calciumsupplement zu verabreichen.

Die Drop-out-Rate lag bei dem Patientenkollektiv dieser Studie relativ hoch. In dem Zusammenhang muss bedacht werden, dass es sich dabei um sehr kranke Patienten handelte. Die hohe Anzahl an ausgeschiedenen Patienten spiegelt generelle Beobachtungen wider, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (NYHA \geq II) hohe Komplikations- und Mortalitätsraten aufweisen.

Neben den selbst analysierten biochemischen Parametern wurden auch klinische Parameter miterhoben, die im Rahmen der ambulanten Routineuntersuchungen erfasst wurden. Sie waren somit nicht primär Gegenstand der Studie. Die hohen Anforderungen im Rahmen wissenschaftlicher Studien an die Präzision der eingesetzten Methoden war somit nicht a priori gegeben. So können beispielsweise untersucherabhängige Schwankungen bei der Bestimmung klinischer Parameter nicht ausgeschlossen werden.

Primäre Zielparameter

Signifikante Behandlungseffekte durch die Vitamin D-Supplementierung ergaben sich zwischen beiden Gruppen während des Studienverlaufs bezüglich der 25(OH)D-Spiegel im Plasma sowie im Hinblick auf die Serumkonzentrationen an TNF- α , IL-10 und PTH.

Es konnte gezeigt werden, dass eine tägliche Vitamin D-Supplementierung von 50 μ g (2000 IE) über 9 Monate die Plasmakonzentration an 25(OH)D verdreifacht und dabei zu Spiegeln von 103 nmol/L führt. 25(OH)D-Werte zwischen 80 und 225 nmol/L werden derzeit generell sowohl für Gesunde als auch beispielsweise für Patienten mit endokrinen Erkrankungen als wünschenswert erachtet [165, 205, 213-215]. Auch in der Placebo-Gruppe konnte ein geringfügiger Anstieg der 25(OH)D-Plasmakonzentration auf 47 nmol/L beobachtet werden, was durch eine UVB-bedingte Vitamin D-Synthese in der Haut nach Sonneneinstrahlung erklärbar ist. Dennoch war die kutane Vitamin D-Synthese in der Placebo-Gruppe offensichtlich nicht ausreichend, da die Werte insgesamt auf eine insuffiziente Vitamin D-Versorgung (\leq 50 nmol/L) hindeuten [202, 209, 210]. Während zu Beginn der Studie bei jeweils 69% der Patienten sowohl aus der Vitamin D-Gruppe als auch aus der Placebo-Gruppe eine insuffiziente Vitamin D-Versorgung vorlag, lag am Ende der Studie der Anteil der Patienten, die insuffiziente 25(OH)D-Plasmakonzentrationen aufwiesen, in der Placebo-Gruppe bei 57%, wohingegen in der Vitamin D-Gruppe nur noch 10% der Patienten einen 25(OH)D-Spiegel unter 50 nmol/L aufwiesen. Allgemein wird davon ausgegangen, dass 25(OH)D-Spiegel von mindestens 50 nmol/L notwendig sind, um die Vitamin D-abhängigen Körperfunktionen in ausreichendem Maße zu gewährleisten [165, 209, 238]. Wie weiter oben ausgeführt, sind jedoch deutlich höhere Plasmaspiegel an 25(OH)D wünschenswert, um alle Vitamin D-abhängigen Körperfunktionen tatsächlich zu optimieren.

Anhand der vorliegenden Studie konnte erstmals gezeigt werden, dass eine Vitamin D-Supplementierung in vivo zu einem signifikanten Anstieg der im Blut zirkulierenden Konzentrationen an IL-10 führt und einen in der Placebo-Gruppe beobachteten Anstieg der zirkulierenden Spiegel an TNF- α unterdrücken kann (siehe Tabelle 23). Damit stimmen die Ergebnisse mit in vitro Untersuchungen an humanen Monozyten [181] sowie mit tierexperimentellen Studien an Mäusen überein [180], die gezeigt haben, dass Vitamin D in der Lage ist, die Freisetzung von TNF- α zu unterdrücken sowie die IL-10-Synthese zu steigern [180, 181]. Auch andere experimentelle Studien zeigten, dass die durch eine UVB-

Bestrahlung bewirkte Erhöhung der 25(OH)D-Spiegel im Plasma zum Anstieg der IL-10-Konzentration führt [184]. Außerdem liefern epidemiologische Daten an gesunden Personen den Hinweis, dass hohe 25(OH)D-Plasmaspiegel mit hohen IL-10-Konzentrationen im Serum assoziiert sind [183]. Da IL-10 in der Lage ist, die Produktion von pro-inflammatorischen Zytokinen, die u.a. zur Progression der Herzinsuffizienz beitragen, zu supprimieren, wird diesem Zytokin auch eine wichtige kardioprotektive Rolle zugesprochen [263-265]. Es liegen ebenfalls Hinweise aus experimentellen Daten vor, dass es durch einen IL-10-Mangel zu schwerer Atherosklerose kommen [147] kann und umgekehrt experimenteller Gentransfer von IL-10 in der Lage ist, Atherosklerose im Tiermodell zu vermindern [266-268].

Im Gegensatz zu den protektiven Wirkungen von IL-10 verdichten sich die Hinweise, dass hohe TNF- α -Konzentrationen zur Pathogenese und Progression der Herzinsuffizienz beitragen [118, 269]. Der mögliche Nutzen einer Anti-TNF- α -Therapie in der Behandlung der Herzinsuffizienz erweckt daher zur Zeit großes Interesse [123, 124]. So werden derzeit auch auf experimenteller Ebene therapeutische Maßnahmen erforscht, um dem erhöhten Spiegel an TNF- α im Blut von herzinsuffizienten Patienten entgegenzuwirken [123].

Eine Untersuchung von Stumpf et al. zeigte, dass die Serumspiegel des anti-inflammatorischen Zytokins IL-10 bei Patienten mit CHI und NYHA Stadium >II im Vergleich zu gesunden Kontrollpersonen signifikant niedriger sind, während umgekehrt die Serumspiegel des pro-inflammatorischen Zytokins TNF- α signifikant höher sind (Stumpf et al. 2003). In Übereinstimmung damit konnten auch in unserer Studie niedrigere IL-10-Werte und höhere TNF- α -Konzentrationen im Serum beobachtet werden. Andere Studien hingegen zeigten jedoch, dass auch anti-inflammatorische Zytokine wie IL-10 bei Patienten mit CHI erhöht sind [122, 270, 271]. Es liegen Hinweise vor, dass die Synthese von IL-10 als Immunmodulator bei inflammatorischen Prozessen erhöht ist [35, 272, 273]. Möglicherweise wird die Produktion von IL-10 bei herzinsuffizienten Patienten im Sinne eines Feedback-Mechanismus hochreguliert, sodass die gesteigerte Produktion pro-inflammatorischer Zytokine wie TNF- α reduziert wird. Da die IL-10-Spiegel in der Placebo-Gruppe der vorliegenden Studie nicht parallel zu den erhöhten TNF- α -Werten angestiegen sind, repräsentieren die IL-10-Konzentrationen möglicherweise eine Verschlechterung der Zytokin-vermittelten kardioprotektiven Wirkung bei diesen Patienten.

Der genaue Mechanismus der Zytokinproduktion im Rahmen der Herzinsuffizienz ist noch unklar. Bei gesunden Personen greift TNF- α in die Regulation der IL-10-Synthese mit ein

[274]: IL-10 unterdrückt die TNF- α -Synthese und umgekehrt stimulieren erhöhte TNF- α -Werte bei CHI-Patienten die IL-10-Sekretion [275]. Auch wenn die Interpretation der Zytokine aufgrund des komplexen Zytokinnetzwerks schwierig ist, ist anzunehmen, dass eine Dysregulation des Zytokin-Netzwerkes zur Entstehung und Progression der Herzinsuffizienz beiträgt.

Es konnte gezeigt werden, dass hohe TNF- α -Serumwerte auch zu niedrigen Calcitriol-Spiegeln im Plasma führen [276], eine Konstellation, die auch bei den Patienten der vorliegenden Studie beobachtet werden konnte. Umgekehrt vermag Calcitriol die Sekretion von TNF- α dosisabhängig zu unterdrücken [277, 278]. Die mittleren Calcitriolspiegel der Patienten der vorliegenden Studie in Höhe von 55-57 pmol/L lagen in beiden Gruppen ähnlich niedrig wie in einer mit gleicher Analysenmethodik durchgeführten Vorläuferstudie bei Patienten mit CHI [10]. Somit lagen auch bei dieser aktuellen Studie die Plasma-Calcitriolspiegel deutlich niedriger als für ein gesundes Vergleichskollektiv zu erwarten wäre [10]. Verschiedene epidemiologische Studien deuten darauf hin, dass bei gesunden Erwachsenen erhöhte Plasmaspiegel an 25(OH)D auch mit signifikant erhöhten Werten an Calcitriol im Plasma einhergehen [279-282]. In einer Interventionsstudie bei Frauen mittleren Alters konnte gezeigt werden, dass eine Vitamin D-Supplementierung nicht nur zu einem signifikanten Anstieg der Plasmaspiegel an 25(OH)D, sondern auch an Calcitriol führt [279]. Die Ergebnisse der vorliegenden Untersuchung können diese Daten nicht bestätigen. In Übereinstimmung mit anderen Studien [204, 283] konnte in dieser Studie die Calcitriol-Konzentration durch die Supplementierung mit Vitamin D nicht signifikant verändert werden, sodass ein positiver Effekt der Vitamin D-Supplementierung auf die Plasmaspiegel an Calcitriol ausgeblieben zu sein scheint. Möglicherweise ist eine länger als neun Monate andauernde Intervention mit Vitamin D bei eventuell höherer Dosierung (>50 μ g Cholecalciferol) notwendig, um eine stärkere Suppression der TNF- α -Spiegel zu bewirken. Vor dem Hintergrund, dass erhöhte TNF- α -Konzentrationen zu einer ausgeprägten Supprimierung der Calcitriolsynthese führen [276], ist es auch denkbar, dass die erhöhten TNF- α -Werte einem signifikanten Anstieg der Calcitriolkonzentration im Wege standen. In diesem Zusammenhang ist außerdem von Bedeutung, dass der durchschnittliche 25(OH)D-Spiegel in der Vitamin D-Gruppe nach der Vitamin D-Intervention bei 103 nmol/L lag, während einige Vitamin D-Forscher einen Plasmaspiegel an 25(OH)D von bis zu 225 nmol/L und eine orale Vitamin D-Aufnahme von 75-125 μ g (3.000-5.000 IE) pro Tag bei mangelnder UV-

Lichtexposition als notwendig erachten, um alle Vitamin D-abhängigen Körperfunktionen zu optimieren [165, 205, 213], vor allem im Hinblick auf den Einfluss von Vitamin D auf diverse chronische Erkrankungen.

Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bezüglich der Serumkonzentrationen an TNF- α und IL-10 können demnach so interpretiert werden, dass das Vitamin D-Präparat in der Lage ist, das Zytokinprofil bei Patienten mit CHI zu verbessern. Vor dem Hintergrund, dass IL-10 als anti-inflammatorisches Zytokin die Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine hemmen kann, scheint der in der Vitamin D-Gruppe beobachtete Anstieg der IL-10-Serumkonzentration das inflammatorische Milieu bei der CHI zu reduzieren. Insofern können diese gewonnenen Ergebnisse von großer praktischer Bedeutung im Hinblick neuer Therapieoptionen für Erkrankungen, wie die CHI sein, die mit erhöhten Konzentrationen an pro-inflammatorischen Zytokinen einhergehen.

Viele Gewebe, u.a. auch Herzmuskelzellen, besitzen Rezeptoren für Calcitriol [172, 284], was auf eine physiologische Funktion von Calcitriol im Herzmuskel hinweist. Da Herzmuskelzellen offensichtlich keine 1- α -Hydroxylase-Aktivität besitzen, um aus 25(OH)D selbst Calcitriol zu synthetisieren [285, 286], ist das Herz in besonderem Maße auf das im Blut zirkulierende Calcitriol angewiesen. In vitro-Studien haben gezeigt, dass Calcitriol in der Lage ist, den bei CHI gestörten intrazellulären Calciumstoffwechsel zu normalisieren [287, 288]. Des Weiteren vermag Calcitriol sowohl die Synthese als auch die Sekretion der atrial natriuretischen Peptide in Kardiomyozyten zu unterdrücken [289]. Da es bei der vorliegenden Studie nicht zu einem signifikanten Anstieg der Plasma-Calcitriolspiegel in der Vitamin D-Gruppe kam, ist davon auszugehen, dass zumindest ein Teil der potentiell günstigen Wirkungen von Vitamin D auf die myokardiale Funktion ausblieb. Dies zeigt sich auch darin, dass sich die Plasmaspiegel der natriuretischen Peptide, der biochemischen Indikatoren für den Schweregrad der Herzinsuffizienz, durch die Vitamin D-Supplementierung nicht veränderten.

Pro- und anti-inflammatorische Zytokine werden dagegen in wesentlichem Maße von Immunzellen wie Monozyten und Makrophagen produziert, die im Gegensatz zum Herzmuskel eine 1- α -Hydroxylase besitzen, sodass sie durch ein entsprechendes Substratangebot an 25(OH)D im Plasma selbst in der Lage sind, die Calcitriolsynthese anzuregen [290].

Epidemiologische Studien weisen auf einen inversen Zusammenhang zwischen den PTH-Werten im Serum und den zirkulierenden 25(OH)D-Spiegeln sowohl bei gesunden Erwachsenen hin [204, 291-293], als auch bei Patienten mit CHI [10, 179]. Auch in dieser Studie konnte der inverse Zusammenhang zwischen den PTH- und verschiedenen 25(OH)D-Klassen bei den CHI-Patienten bestätigt werden (Tab. 26). Es ist bekannt, dass sowohl eine Supplementation mit Vitamin D und Calcium [196, 294] als auch eine alleinige Calcium-Supplementation [295, 296] die PTH-Konzentration im Serum vermindern kann. Die durch die Vitamin D- und Calcium-Supplementation hervorgerufene Erhöhung der 25(OH)D-Spiegel bewirkte eine Reduktion der PTH-Serumkonzentration um 14%. So lagen die PTH-Werte bei den Patienten der Vitamin D-Gruppe am Ende der Studie deutlich niedriger als bei denen der Placebo-Gruppe, sodass der Anteil der Patienten aus der Vitamin D-Gruppe, die zu Studienbeginn PTH-Werte oberhalb des Normbereichs (10-60 pg/ml) aufwiesen, durch die Intervention um 57% gesenkt werden konnte. Teilweise werden auch bereits PTH-Konzentrationen von 10-46 pg/ml oder 9-34 pg/ml als Referenzbereiche genannt [297]. Durch die alleinige Calcium-Supplementation in der Placebo-Gruppe kam es hingegen zu keinem signifikanten Abfall der PTH-Konzentration (-11%, $P > 0,05$) (Tab. 23).

In Bezug auf die natriuretischen Peptide NT-proBNP und NT-proANP konnten durch die Vitamin D-Supplementierung keine Effekte erzielt werden. Obwohl sich die LVEF und der LVEDD während der Vitamin D- und/oder Calcium-Gabe in beiden Gruppen signifikant verbesserten, zeigte weder NT-proBNP noch NT-proANP als Indikatoren für den Schweregrad der Herzinsuffizienz entsprechende Veränderungen. Die Gründe dafür bleiben unklar. Ein Einfluss der medikamentösen Therapie mit ACE-Hemmern, Diuretika, β -Blockern und Vasodilantien auf die Plasmakonzentration der natriuretischen Peptide ist nicht auszuschließen [83, 298-300], wodurch die Aussagekraft dieser Marker bezüglich der Überprüfung der Effektivität einer Vitamin D-Supplementierung und für das Monitoring des Krankheitsverlaufs relativiert wird. In Bezug auf die Beurteilung der natriuretischen Peptide liegen außerdem Hinweise vor, die ausdrücken, dass durch die hohen intraindividuellen Variationen der NT-proBNP-Plasmaspiegel eine adäquate Interpretation von Veränderungen in Bezug auf die Diagnose, Prognose und vor allem zur Therapieoptimierung der CHI nicht möglich ist [301]. Aufgrund der hohen intraindividuellen Variationen der NT-proBNP und NT-proANP-Plasmaspiegel auch in dieser Studie, ist die Funktion dieser Marker bezüglich einer Beurteilung der Effektivität der Vitamin D-Supplementierung und der Verlaufskontrolle

in Frage zu stellen. Des Weiteren können sich beispielsweise die Plasmaspiegel von NT-proBNP bei CHI-Patienten unter leitliniengerechter Herzinsuffizienztherapie normalisieren und sogar unterhalb der von den jeweiligen Anbietern vorgegebenen oberen Grenzwerte des Normbereichs liegen [302]. So liegen die BNP-Plasmaspiegel mit akuter kardialer Dekompensation durchschnittlich 2- bis 3-fach höher als bei Patienten mit einer chronischen Herzinsuffizienz [303].

Sekundäre Zielparameter

Weder bei den klinischen Parametern noch im Hinblick auf die Mortalitätsrate konnten während des Studienverlaufs behandlungsspezifische Effekte der Vitamin D-Supplementierung erzielt werden.

Es konnten zwar signifikante Verbesserungen der LVEF sowie des LVEDD sowohl in der Vitamin D-Gruppe ($P=0,018$ bzw. $P=0,025$) als auch in der Placebo-Gruppe ($P=0,003$ bzw. $P=0,005$) beobachtet werden; das Ausmaß der Differenz zu den Basiswerten unterschied sich jedoch nicht zwischen beiden Gruppen, sodass ein behandlungsspezifischer Effekt ausblieb. Weshalb sich die Ejektionsfraktion des Herzens sowie der enddiastolische Durchmesser nicht nur in der Vitamin D-Gruppe, sondern auch in der Placebo-Gruppe am Ende der Studie signifikant verbessert hatten, kann nicht abschließend beurteilt werden. Es kann nicht ausgeschlossen werden, dass dieser Effekt auf study bias zurückzuführen ist. Aufgrund der Tatsache, dass Calcium die Menge an extrazellulärem Aktivator-Calcium erhöhen kann, welches notwendig ist, um die myokardiale Kontraktion zu initiieren [10], ist es jedoch auch denkbar, dass das Calcium-Präparat, welches von beiden Studiengruppen eingenommen wurde, entweder direkt oder indirekt über einen leichten Abfall der PTH-Serumspiegel zu einer Verbesserung der linksventrikulären Funktion und des enddiastolischen Diameters führte.

Im Gegensatz zu tierexperimentellen Studien, die gezeigt haben, dass Vitamin D zur Verhinderung einer myokardialen Hypertrophie beitragen kann [304] konnte in unserer Studie kein Effekt der Vitamin D-Supplementierung auf den HTQ erzielt werden. Möglicherweise wäre eine längerandauernde Supplementierung von Vitamin D notwendig, bis der HTQ auf Therapiemaßnahmen anspricht und signifikante Veränderungen zeigen würde.

Eine Reihe epidemiologischer und klinischer Studien weisen auch auf einen inversen Zusammenhang zwischen Vitamin D-Metaboliten und Blutdruck und/oder Plasmareninaktivität hin [185, 279, 305-308]. So konnte gezeigt werden, dass es zu einer Blutdrucksenkung kommt, wenn die 25(OH)D-Spiegel durch UVB-Strahlen über 100 nmol/L ansteigen [309, 310]. Als pathophysiologische Erklärungsansätze werden dabei die Reduktion des Parathormonspiegels, die Relaxation glatter Gefäßmuskulatur sowie die direkte Inhibition des RAAS durch Vitamin D-Metabolite diskutiert [311], auch wenn der genaue zugrundeliegende Mechanismus noch weitgehend unklar ist. Obwohl in der vorliegenden Arbeit die 25(OH)D-Werte nach der Vitamin D-Supplementierung ebenfalls im Durchschnitt auf 103 nmol/L anstiegen und auch die PTH-Serumkonzentration um 14% gesunken ist, konnte kein Effekt des Vitamin D-Präparates auf den Blutdruck der Patienten erzielt werden. Durch die Tatsache, dass 93% der Patienten in der Vitamin D-Gruppe mit Antihypertonika behandelt wurden und 97% zusätzlich Diuretika mit ebenfalls antihypertensiver Wirkung einnahmen, kann möglicherweise der fehlende Effekt einer Vitamin D-Supplementierung auf die Blutdruckwerte erklärt werden. Da der Blutdruck bei diesen Patienten zur Entlastung des Herzens durch den medikamentösen Einsatz bereits konstant sehr niedrig gehalten wird, scheint ein additiver Nutzen des Vitamin D-Präparates im Sinne einer weiteren Senkung des Blutdrucks nicht mehr möglich zu sein.

Drop-out - Patienten

Ein weiteres interessantes Ergebnis der vorliegenden Studie war, dass die Patienten, die aufgrund einer massiven Verschlechterung ihres Gesundheitszustandes vorzeitig ausgeschieden sind, die höchsten Plasmakonzentrationen an natriuretischen Peptiden sowie die höchsten Serumkonzentrationen an CRP und PTH zu Studienbeginn aufwiesen und ihre klinischen Parameter (LVEF, LVEDD, HTQ) ebenfalls deutlich schlechter waren im Vergleich mit den Patienten, die die Studie beenden konnten (Tab. 22). Die erhöhten Spiegel an natriuretischen Peptiden und CRP stimmen mit früheren Ergebnissen überein, die eine schlechte Prognose sowie eine hohe Mortalitätsrate bei herzinsuffizienten Patienten mit hohen NT-proBNP- [84] und NT-proANP-Konzentrationen im Plasma [71] und hohen CRP-Serumkonzentrationen [115] festgestellt haben. Erwähnenswert in diesem Zusammenhang ist eine kürzlich publizierte Studie, die gezeigt hat, dass durch eine hohe Vitamin D-Gabe die CRP-Konzentrationen im Serum bei Patienten mit chronischen Erkrankungen deutlich stärker abfallen als bei einer gering-dosierten Vitamin D-Gabe [312]. Da in der vorliegenden Studie

durch die Vitamin D-Supplementierung jedoch kein Effekt auf die CRP-Spiegel beobachtet werden konnte, bedarf es hinsichtlich des potentiellen Zusammenhangs zwischen der CRP-Serumkonzentration und der Dosis und Dauer einer Vitamin D-Supplementation noch weiterer Untersuchungen.

Es ist bekannt, dass sich übermäßig hohe PTH-Spiegel negativ auf die kardiale Funktion im Sinne einer linksventrikulären Hypertrophie, linksventrikulären Dysfunktion und interstitiellen Fibrose auswirken [245, 313-316]. Interessanterweise lagen die PTH-Serumkonzentrationen bei Männern mit linksventrikulärer Hypertrophie bei $44,1 \pm 26,2$ pg/ml verglichen mit PTH-Werten von $29,4 \pm 13,9$ pg/ml bei Männern ohne linksventrikuläre Hypertrophie [245]. Die linksventrikuläre Hypertrophie ist allgemein als Prädiktor für das Auftreten von Komplikationen ebenso bekannt wie für eine schlechte Prognose bei bereits bestehender Herzinsuffizienz [317, 318]. Vor diesem Hintergrund kann auch ein PTH-Wert von $45,7$ pg/ml, wie er bei den ausgeschiedenen Patienten in der vorliegenden Studie festgestellt wurde, auf eine Verschlechterung der Myokardfunktion hindeuten. Es wurde ebenfalls ein deutlicher Zusammenhang zwischen der PTH-Konzentration im Serum und der Hypertrophie, verdeutlicht als HTQ, beobachtet. Bei PTH-Werten ≥ 70 pg/ml lag der HTQ um 6% höher als bei Patienten mit niedrigeren PTH-Spiegeln ($P < 0,01$); bei PTH-Konzentration ≥ 110 pg/ml war der HTQ bereits 13% höher als bei niedrigeren PTH-Werten ($P < 0,05$). Diese Tatsache vermag die Hypothese von PTH in der Rolle als hypertropher Faktor zunehmend zu untermauern.

Neben den negativen PTH-Wirkungen konnten jedoch auch günstige Effekte von PTH auf die Herzmuskelfunktion beschrieben werden, wie Steigerung der Herzrate, des myokardialen Blutflusses sowie des kardialen Outputs [241]. Aus diesem Grund kann angenommen werden, dass die höheren PTH-Spiegel bei den ausgeschiedenen Patienten, verglichen mit denen, die die Studie beendet haben, zumindest zum Teil als Resultat eines Adaptationsprozesses an die Schwere der Erkrankung betrachtet werden können. Daher ist es auch denkbar, dass sich die erhöhten PTH-Werte im Sinne eines Kompensationsmechanismus der Herzinsuffizienz entwickeln und nicht nur durch einen niedrigen Vitamin D-Status resultieren, obwohl die pathophysiologischen Mechanismen für diesen Zusammenhang noch unklar sind. Die erhöhten PTH-Spiegel der ausgeschiedenen Patienten könnten zu einer Calciumfreisetzung aus den Knochen geführt haben und damit möglicherweise verantwortlich sein für die leicht erhöhten Calcium-Spiegel dieser Patienten bei Studienbeginn (Tab. 22).

Fazit

Insgesamt bleibt festzuhalten, dass vor allem die Ergebnisse zum Zytokinstoffwechsel vielversprechend sind. Die gewonnenen Studiendaten bestätigen *in vitro* Untersuchungen, dass Vitamin D eine anti-inflammatorische Wirkung zu haben scheint. Dies könnte für die Zukunft neue therapeutische Möglichkeiten eröffnen. Des Weiteren können durch die vorliegenden Daten Hinweise geliefert werden, dass erhöhte PTH-Serumkonzentrationen mit der Progression der Herzinsuffizienz zusammenhängen. Eine zusätzliche Calcium-Supplementation vermag vielleicht klinische Parameter, wie die linkventrikuläre Ejektionsfraktion und den enddiastolischen Diameter, zu verbessern. Zusammengefasst kann angenommen werden, dass eine gestörte Vitamin D/PTH/Calcium-Achse möglicherweise zur Progression der CHI beiträgt.

6 Zusammenfassung

Im Rahmen dieser placebo-kontrollierten, randomisierten, Doppelblind-Studie wurde erstmals der Frage nachgegangen, wie sich eine Supplementierung mit Vitamin D auf die Mortalitätsrate sowie auf verschiedene biochemische und klinische Parameter bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz (CHI) auswirkt. Als Anlass für diese Studie wurden frühere Ergebnisse einer kürzlich durchgeführten Untersuchung genommen, die gezeigt haben, dass Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz erheblich niedrigere Plasmaspiegel der Vitamin D-Metabolite 25-Hydroxyvitamin D (25(OH)D) und Calcitriol aufweisen als gesunde Personen gleichen Alters, sodass die Hypothese aufgestellt wurde, dass ein niedriger Vitamin D-Status zur Pathogenese und/oder der Symptomatik der chronischen Herzinsuffizienz beitragen kann.

123 Patienten mit diagnostizierter Herzinsuffizienz (NYHA-Stadium \geq II) wurden im Zeitraum von März 2002 bis April 2003 rekrutiert und randomisiert (4-er Block) zwei Behandlungsgruppen zugeteilt; 61 Patienten erhielten täglich 50 μ g (2.000 I.E.) Cholecalciferol sowie ein Calcium-Präparat in Höhe von 500 mg (Vitamin D-Gruppe) und 62 Patienten erhielten täglich ein entsprechendes Placebo-Präparat sowie ein Calcium-Präparat in Höhe von 500 mg (Placebo-Gruppe) über einen Zeitraum von 9 Monaten. Biochemische und klinische Parameter wurden zu Studienbeginn und nach 9 Monaten erfasst.

Von den 123 Patienten haben 30 Patienten (28 Männer und 2 Frauen) die Studie nicht beendet. 5 Patienten beendeten die Studie vorzeitig aufgrund fehlender Compliance und bei den restlichen 25 Patienten, die die Studie nicht beendet haben, waren klinische Gründe (z.B. sehr kritischer Gesundheitszustand, Transplantation, Tod) die Ursache für das frühere Ausscheiden aus der Studie.

Die 25 Patienten, die aufgrund klinischer Ursachen ausgeschieden sind, wiesen zu Beginn der Studie im Vergleich mit den in der Studie verbliebenen Patienten beider Gruppen signifikant höhere Plasmaspiegel der natriuretischen Peptide NT-proBNP und NT-proANP sowie deutlich höhere Konzentrationen an C-reaktivem Protein, Parathormon (PTH) und Calcium im Serum auf, während die 25(OH)D-Plasmaspiegel bei den ausgeschiedenen Patienten tendenziell niedriger lagen. Außerdem zeigten sich bei diesen drop-out Patienten die schlechtesten Werte bezüglich der linksventrikulären Ejektionsfraktion (LVEF), dem linksventrikulären enddiastolischen Diameter (LVEDD) und des Herz-Thorax-Quotienten, verglichen mit den Patienten, die die Studie beendet haben.

Während des Studienverlaufs ergaben sich durch die Vitamin D-Supplementierung signifikante Behandlungseffekte bezüglich der 25(OH)D-Spiegel im Plasma sowie der Serumkonzentrationen an Tumor-Nekrose-Faktor alpha (TNF- α), Interleukin 10 (IL-10) und PTH. Die anderen biochemischen Parameter zeigten durch die Vitamin D-Supplementierung während der Studie keine Veränderungen.

Die zirkulierenden Konzentrationen an 25(OH)D im Plasma stiegen im Studienzeitraum bei den Patienten, die ein Vitamin D-Präparat einnahmen, um 67 nmol/L (185%) signifikant an ($P=0,000$). In der Placebo-Gruppe kam es hingegen nur zu einem Anstieg von 9 nmol/L (23,5%) ($P=0,05$). Damit konnte die 25(OH)D-Konzentration im Plasma durch die Vitamin D-Supplementation verdreifacht werden und stieg auf 25(OH)D-Werte von 103 nmol/L an.

Bei den Patienten, die Vitamin D supplementierten, blieb der TNF- α -Spiegel konstant (-10%, $P=0,812$), während die TNF- α -Serumkonzentrationen in der Placebo-Gruppe um 12% signifikant anstiegen ($P=0,017$). Des Weiteren kam es in der Vitamin D-Gruppe zu einem signifikanten Anstieg der IL-10-Serumkonzentration um 43% ($P=0,035$), während die IL-10-Werte bei den Patienten der Placebo-Gruppe unverändert blieben (-22%, $P=0,579$). Hinsichtlich der PTH-Werte im Serum konnte in der Vitamin D-Gruppe ein deutlicher Rückgang um 14% verzeichnet werden ($P=0,034$), während sich in der Placebo-Gruppe keine signifikanten Veränderungen ergaben (-11%, $P=0,582$).

Am Ende der Studie wiesen die mit Vitamin D-behandelten Patienten signifikant höhere Vitamin D-Spiegel und signifikant niedrigere Serumkonzentrationen an TNF- α und PTH auf als die Patienten der Placebo-Gruppe.

Ein behandlungsspezifischer Effekt der Vitamin D-Supplementierung auf klinische Parameter blieb aus. Auch wenn während des Studienverlaufs ein signifikanter Anstieg der LVEF und eine signifikante Abnahme des LVEDD sowohl in der Vitamin D-Gruppe ($P=0,018$ bzw. $P=0,025$) als auch in der Placebo-Gruppe ($P=0,003$ bzw. $P=0,005$) erzielt werden konnte, unterschied sich das Ausmaß der Differenz zu den Basisdaten jedoch nicht zwischen beiden Gruppen. Die Mortalitätsrate unterschied sich während eines Follow-Up von 15 Monaten in beiden Behandlungsgruppen nicht voneinander.

Es bleibt festzuhalten, dass vor allem die Ergebnisse zum Zytokinstoffwechsel vielversprechend sind. Die Ergebnisse der vorliegenden Studie bezüglich der Serumkonzentrationen an TNF- α und IL-10 können demnach so interpretiert werden, dass das Vitamin D-Präparat in der Lage ist, das Zytokinprofil bei Patienten mit CHI zu verbessern. Vor dem Hintergrund, dass IL-10 als anti-inflammatorisches Zytokin die Sekretion pro-inflammatorischer Zytokine hemmen kann, scheint der in der Vitamin D-Gruppe beobachtete Anstieg der IL-10-Serumkonzentration das inflammatorische Milieu bei der CHI zu reduzieren. Insofern können diese gewonnenen Ergebnisse von großer praktischer Bedeutung im Hinblick neuer Therapieoptionen für Erkrankungen, wie die CHI sein, die mit erhöhten Konzentrationen an pro-inflammatorischen Zytokinen einhergehen. Ebenfalls kann angenommen werden, dass eine gestörte Vitamin D/PTH/Calcium-Achse zur Progression der Herzinsuffizienz beiträgt.

7 Literaturverzeichnis

1. Jessup, M. and S. Brozena. Heart failure. *N Engl J Med*, **2003**, 348(20): 2007-18.
2. Remme, W.J. and K. Swedberg. Guidelines for the diagnosis and treatment of chronic heart failure. *Eur Heart J*, **2001**, 22(17): 1527-60.
3. American Heart Association. Heart disease and stroke statistics - 2003 update.
4. Kannel, W.B. Vital epidemiologic clues in heart failure. *J Clin Epidemiol*, **2000**, 53(3): 229-35.
5. Redfield, M.M. Heart failure--an epidemic of uncertain proportions. *N Engl J Med*, **2002**, 347(18): 1442-4.
6. Levy, D., S. Kenchaiah, M.G. Larson, et al. Long-term trends in the incidence of and survival with heart failure. *N Engl J Med*, **2002**, 347(18): 1397-402.
7. Rauchhaus, M., W. Doehner, D.P. Francis, et al. Plasma cytokine parameters and mortality in patients with chronic heart failure. *Circulation*, **2000**, 102(25): 3060-7.
8. Bleumink, G.S., A.M. Knetsch, M.C. Sturkenboom, et al. Quantifying the heart failure epidemic: prevalence, incidence rate, lifetime risk and prognosis of heart failure The Rotterdam Study. *Eur Heart J*, **2004**, 25(18): 1614-9.
9. Statistisches Jahrbuch 2005 für die Bundesrepublik Deutschland. **2005**, Wiesbaden: Statistisches Bundesamt.
10. Zittermann, A., S.S. Schleithoff, G. Tenderich, H.K. Berthold, R. Korfer, and P. Stehle. Low vitamin D status: a contributing factor in the pathogenesis of congestive heart failure? *J Am Coll Cardiol*, **2003**, 41(1): 105-12.
11. Hunt, S.A., D.W. Baker, M.H. Chin, et al. ACC/AHA Guidelines for the Evaluation and Management of Chronic Heart Failure in the Adult: Executive Summary A Report of the American College of Cardiology/American Heart Association Task Force on Practice Guidelines (Committee to Revise the 1995 Guidelines for the Evaluation and Management of Heart Failure): Developed in Collaboration With the International Society for Heart and Lung Transplantation; Endorsed by the Heart Failure Society of America. *Circulation*, **2001**, 104(24): 2996-3007.
12. McMurray, J.J. and S. Stewart. Epidemiology, aetiology, and prognosis of heart failure. *Heart*, **2000**, 83(5): 596-602.
13. Cohn, J.N. and G. Tognoni. A randomized trial of the angiotensin-receptor blocker valsartan in chronic heart failure. *N Engl J Med*, **2001**, 345(23): 1667-75.
14. Nohria, A., E. Lewis, and L.W. Stevenson. Medical management of advanced heart failure. *Jama*, **2002**, 287(5): 628-40.
15. Boersma, E., U. Keil, D. De Bacquer, et al. Blood pressure is insufficiently controlled in European patients with established coronary heart disease. *J Hypertens*, **2003**, 21(10): 1831-40.
16. Jiang, W., J. Alexander, E. Christopher, et al. Relationship of depression to increased risk of mortality and rehospitalization in patients with congestive heart failure. *Arch Intern Med*, **2001**, 161(15): 1849-56.
17. Emdin, M., C. Passino, C. Prontera, et al. Cardiac natriuretic hormones, neuro-hormones, thyroid hormones and cytokines in normal subjects and patients with heart failure. *Clin Chem Lab Med*, **2004**, 42(6): 627-36.
18. Bohm, M. [Pathophysiology of heart failure today]. *Herz*, **2002**, 27(2): 75-91.

19. Francis, G.S., C. Benedict, D.E. Johnstone, et al. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure. A substudy of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *Circulation*, **1990**, 82(5): 1724-9.
20. Cohn, J.N., R. Ferrari, and N. Sharpe. Cardiac remodeling--concepts and clinical implications: a consensus paper from an international forum on cardiac remodeling. Behalf of an International Forum on Cardiac Remodeling. *J Am Coll Cardiol*, **2000**, 35(3): 569-82.
21. Anversa, P., J. Kajstura, and G. Olivetti. Myocyte death in heart failure. *Curr Opin Cardiol*, **1996**, 11(3): 245-51.
22. Middlekauff, H.R. Mechanisms and implications of autonomic nervous system dysfunction in heart failure. *Curr Opin Cardiol*, **1997**, 12(3): 265-75.
23. Pousset, F., R. Isnard, P. Lechat, et al. Prognostic value of plasma endothelin-1 in patients with chronic heart failure. *Eur Heart J*, **1997**, 18(2): 254-8.
24. Shan, K., K. Kurrelmeyer, Y. Seta, et al. The role of cytokines in disease progression in heart failure. *Curr Opin Cardiol*, **1997**, 12(3): 218-23.
25. Levin, E.R., D.G. Gardner, and W.K. Samson. Natriuretic peptides. *N Engl J Med*, **1998**, 339(5): 321-8.
26. Spieker, L.E., G. Noll, F.T. Ruschitzka, and T.F. Luscher. Endothelin receptor antagonists in congestive heart failure: a new therapeutic principle for the future? *J Am Coll Cardiol*, **2001**, 37(6): 1493-505.
27. Schrier, R.W. and W.T. Abraham. Hormones and hemodynamics in heart failure. *N Engl J Med*, **1999**, 341(8): 577-85.
28. Sabbah, H.N. and V.G. Sharov. Apoptosis in heart failure. *Prog Cardiovasc Dis*, **1998**, 40(6): 549-62.
29. Tan, L.B., J.E. Jalil, R. Pick, J.S. Janicki, and K.T. Weber. Cardiac myocyte necrosis induced by angiotensin II. *Circ Res*, **1991**, 69(5): 1185-95.
30. Francis, G.S., J.N. Cohn, G. Johnson, T.S. Rector, S. Goldman, and A. Simon. Plasma norepinephrine, plasma renin activity, and congestive heart failure. Relations to survival and the effects of therapy in V-HeFT II. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation*, **1993**, 87(6 Suppl): VI40-8.
31. Rousseau, M.F., M.A. Konstam, C.R. Benedict, et al. Progression of left ventricular dysfunction secondary to coronary artery disease, sustained neurohormonal activation and effects of ibopamine therapy during long-term therapy with angiotensin-converting enzyme inhibitor. *Am J Cardiol*, **1994**, 73(7): 488-93.
32. Weil, J. and G. Riegger. [Therapy of ischemic and nonischemic heart failure. Current status and prospects]. *Internist (Berl)*, **2002**, 43 Suppl 1: S8, S11-8.
33. Levine, B., J. Kalman, L. Mayer, H.M. Fillit, and M. Packer. Elevated circulating levels of tumor necrosis factor in severe chronic heart failure. *N Engl J Med*, **1990**, 323(4): 236-41.
34. Torre-Amione, G., S. Kapadia, J. Lee, et al. Tumor necrosis factor-alpha and tumor necrosis factor receptors in the failing human heart. *Circulation*, **1996**, 93(4): 704-11.
35. Bozkurt, B., S.B. Kribbs, F.J. Clubb, Jr., et al. Pathophysiologically relevant concentrations of tumor necrosis factor-alpha promote progressive left ventricular dysfunction and remodeling in rats. *Circulation*, **1998**, 97(14): 1382-91.

36. Swedberg, K., P. Eneroth, J. Kjekshus, and S. Snapinn. Effects of enalapril and neuroendocrine activation on prognosis in severe congestive heart failure (follow-up of the CONSENSUS trial). CONSENSUS Trial Study Group. *Am J Cardiol*, **1990**, 66(11): 40D-44D; discussion 44D-45D.
37. Chung, E.S., M. Packer, K.H. Lo, A.A. Fasanmade, and J.T. Willerson. Randomized, double-blind, placebo-controlled, pilot trial of infliximab, a chimeric monoclonal antibody to tumor necrosis factor-alpha, in patients with moderate-to-severe heart failure: results of the anti-TNF Therapy Against Congestive Heart Failure (ATTACH) trial. *Circulation*, **2003**, 107(25): 3133-40.
38. Anker, S.D. and A.J. Coats. How to RECOVER from RENAISSANCE? The significance of the results of RECOVER, RENAISSANCE, RENEWAL and ATTACH. *Int J Cardiol*, **2002**, 86(2-3): 123-30.
39. Nolan, Y., A. Minogue, E. Vereker, A.E. Bolton, V.A. Campbell, and M.A. Lynch. Attenuation of LPS-induced changes in synaptic activity in rat hippocampus by Vasogen's Immune Modulation Therapy. *Neuroimmunomodulation*, **2002**, 10(1): 40-6.
40. Torre-Amione, G., F. Sestier, B. Radovancevic, and J. Young. Effects of a novel immune modulation therapy in patients with advanced chronic heart failure: results of a randomized, controlled, phase II trial. *J Am Coll Cardiol*, **2004**, 44(6): 1181-6.
41. Kinnunen, P., O. Vuolteenaho, and H. Ruskoaho. Mechanisms of atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. *Endocrinology*, **1993**, 132(5): 1961-70.
42. Mair, J. Role of cardiac natriuretic peptide testing in heart failure. *Clin Chem*, **2002**, 48(7): 977-8.
43. Maisel, A. B-type natriuretic peptide levels: a potential novel "white count" for congestive heart failure. *J Card Fail*, **2001**, 7(2): 183-93.
44. Koller, K.J. and D.V. Goeddel. Molecular biology of the natriuretic peptides and their receptors. *Circulation*, **1992**, 86(4): 1081-8.
45. Almeida, F.A., M. Suzuki, R.M. Scarborough, J.A. Lewicki, and T. Maack. Clearance function of type C receptors of atrial natriuretic factor in rats. *Am J Physiol*, **1989**, 256(2 Pt 2): R469-75.
46. Charles, C.J., E.A. Espiner, M.G. Nicholls, et al. Clearance receptors and endopeptidase 24.11: equal role in natriuretic peptide metabolism in conscious sheep. *Am J Physiol*, **1996**, 271(2 Pt 2): R373-80.
47. Cowie, M.R. and G.F. Mendez. BNP and congestive heart failure. *Prog Cardiovasc Dis*, **2002**, 44(4): 293-321.
48. Mair, J., A. Hammerer-Lercher, and B. Puschendorf. The impact of cardiac natriuretic peptide determination on the diagnosis and management of heart failure. *Clin Chem Lab Med*, **2001**, 39(7): 571-88.
49. Wilkins, M.R., J. Redondo, and L.A. Brown. The natriuretic-peptide family. *Lancet*, **1997**, 349(9061): 1307-10.
50. Suga, S., K. Nakao, K. Hosoda, et al. Receptor selectivity of natriuretic peptide family, atrial natriuretic peptide, brain natriuretic peptide, and C-type natriuretic peptide. *Endocrinology*, **1992**, 130(1): 229-39.
51. Stein, B.C. and R.I. Levin. Natriuretic peptides: physiology, therapeutic potential, and risk stratification in ischemic heart disease. *Am Heart J*, **1998**, 135(5 Pt 1): 914-23.

52. Itoh, H., R.E. Pratt, and V.J. Dzau. Atrial natriuretic polypeptide inhibits hypertrophy of vascular smooth muscle cells. *J Clin Invest*, **1990**, 86(5): 1690-7.
53. Furuya, M., K. Aisaka, T. Miyazaki, et al. C-type natriuretic peptide inhibits intimal thickening after vascular injury. *Biochem Biophys Res Commun*, **1993**, 193(1): 248-53.
54. Rahman, S.N., G.E. Kim, A.S. Mathew, et al. Effects of atrial natriuretic peptide in clinical acute renal failure. *Kidney Int*, **1994**, 45(6): 1731-8.
55. Dietz, J.R. Release of natriuretic factor from rat heart-lung preparation by atrial distension. *Am J Physiol*, **1984**, 247(6 Pt 2): R1093-6.
56. Itoh, H., K. Nakao, A. Sugawara, et al. Gamma-atrial natriuretic polypeptide (gamma ANP)-derived peptides in human plasma: cosecretion of N-terminal gamma ANP fragment and alpha ANP. *J Clin Endocrinol Metab*, **1988**, 67(3): 429-37.
57. Hartter, E., S. Khalafpour, A. Missbichler, G. Hawa, and W. Woloszczuk. Enzyme immunoassays for fragments (epitopes) of human proatrial natriuretic peptides. *Clin Chem Lab Med*, **2000**, 38(1): 27-32.
58. Dickstein, K., A.I. Larsen, V. Bonarjee, M. Thoresen, T. Aarsland, and C. Hall. Plasma proatrial natriuretic factor is predictive of clinical status in patients with congestive heart failure. *Am J Cardiol*, **1995**, 76(10): 679-83.
59. Franz, M., W. Woloszczuk, and W.H. Horl. N-terminal fragments of the proatrial natriuretic peptide in patients before and after hemodialysis treatment. *Kidney Int*, **2000**, 58(1): 374-83.
60. Davidson, N.C., A.A. Naas, J.K. Hanson, N.S. Kennedy, W.J. Coutie, and A.D. Struthers. Comparison of atrial natriuretic peptide B-type natriuretic peptide, and N-terminal proatrial natriuretic peptide as indicators of left ventricular systolic dysfunction. *Am J Cardiol*, **1996**, 77(10): 828-31.
61. Iivanainen, A.M., I. Tikkanen, R. Tilvis, J. Heikkila, T. Helenius, and M. Kupari. Associations between atrial natriuretic peptides, echocardiographic findings and mortality in an elderly population sample. *J Intern Med*, **1997**, 241(4): 261-8.
62. Hall, C., H. Ihlen, V. Bonarjee, K. Dickstein, and J. Kjekshus. N-terminal proatrial natriuretic peptide in primary care: relation to echocardiographic indices of cardiac function in mild to moderate cardiac disease. *Int J Cardiol*, **2003**, 89(2-3): 197-205.
63. Jernberg, T., M. Stridsberg, and B. Lindahl. Usefulness of plasma N-terminal proatrial natriuretic peptide (proANP) as an early predictor of outcome in unstable angina pectoris or non-ST-elevation acute myocardial infarction. *Am J Cardiol*, **2002**, 89(1): 64-6.
64. Omland, T., V.V. Bonarjee, D.W. Nilsen, et al. Prognostic significance of N-terminal pro-atrial natriuretic factor (1-98) in acute myocardial infarction: comparison with atrial natriuretic factor (99-126) and clinical evaluation. *Br Heart J*, **1993**, 70(5): 409-14.
65. Azizi, C., G. Maistre, H. Kalotka, et al. Plasma levels and molecular forms of proatrial natriuretic peptides in healthy subjects and in patients with congestive heart failure. *J Endocrinol*, **1996**, 148(1): 51-7.
66. Wallen, T., S. Landahl, T. Hedner, C. Hall, Y. Saito, and K. Nakao. Atrial natriuretic peptides predict mortality in the elderly. *J Intern Med*, **1997**, 241(4): 269-75.
67. Lerman, A., R.J. Gibbons, R.J. Rodeheffer, et al. Circulating N-terminal atrial natriuretic peptide as a marker for symptomless left-ventricular dysfunction. *Lancet*, **1993**, 341(8853): 1105-9.

68. Hall, C., J.L. Rouleau, L. Moye, et al. N-terminal proatrial natriuretic factor. An independent predictor of long-term prognosis after myocardial infarction. *Circulation*, **1994**, 89(5): 1934-42.
69. Gottlieb, S.S., M.L. Kukin, D. Ahern, and M. Packer. Prognostic importance of atrial natriuretic peptide in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, **1989**, 13(7): 1534-9.
70. McDowell, G., C. Patterson, S. Maguire, C. Shaw, D.P. Nicholls, and C. Hall. Variability of Nt-proANP and C-ANP. *Eur J Clin Invest*, **2002**, 32(8): 545-8.
71. Cappellin, E., R. Gatti, P. Spinella, et al. Plasma atrial natriuretic peptide (ANP) fragments proANP (1-30) and proANP (31-67) measurements in chronic heart failure: a useful index for heart transplantation? *Clin Chim Acta*, **2001**, 310(1): 49-52.
72. Berger, R., M. Huelsmann, K. Strecker, et al. Neurohormonal risk stratification for sudden death and death owing to progressive heart failure in chronic heart failure. *Eur J Clin Invest*, **2005**, 35(1): 24-31.
73. Cowie, M.R., A.D. Struthers, D.A. Wood, et al. Value of natriuretic peptides in assessment of patients with possible new heart failure in primary care. *Lancet*, **1997**, 350(9088): 1349-53.
74. McDonagh, T.A., S.D. Robb, D.R. Murdoch, et al. Biochemical detection of left-ventricular systolic dysfunction. *Lancet*, **1998**, 351(9095): 9-13.
75. Hammerer-Lercher, A., B. Puschendorf, and J. Mair. Cardiac natriuretic peptides: new laboratory parameters in heart failure patients. *Clin Lab*, **2001**, 47(5-6): 265-77.
76. Tsuruda, T., G. Boerrigter, B.K. Huntley, et al. Brain natriuretic Peptide is produced in cardiac fibroblasts and induces matrix metalloproteinases. *Circ Res*, **2002**, 91(12): 1127-34.
77. Bemiss, C.J., B.D. Mahon, A. Henry, V. Weaver, and M.T. Cantorna. Interleukin-2 is one of the targets of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the immune system. *Arch Biochem Biophys*, **2002**, 402(2): 249-54.
78. Seino, Y., A. Ogawa, T. Yamashita, et al. Application of NT-proBNP and BNP measurements in cardiac care: a more discerning marker for the detection and evaluation of heart failure. *Eur J Heart Fail*, **2004**, 6(3): 295-300.
79. Hunt, P.J., A.M. Richards, M.G. Nicholls, T.G. Yandle, R.N. Doughty, and E.A. Espiner. Immunoreactive amino-terminal pro-brain natriuretic peptide (NT-PROBNP): a new marker of cardiac impairment. *Clin Endocrinol (Oxf)*, **1997**, 47(3): 287-96.
80. Mueller, T., A. Gegenhuber, W. Poelz, and M. Haltmayer. Biochemical diagnosis of impaired left ventricular ejection fraction--comparison of the diagnostic accuracy of brain natriuretic peptide (BNP) and amino terminal proBNP (NT-proBNP). *Clin Chem Lab Med*, **2004**, 42(2): 159-63.
81. Lee, S.C., T.L. Stevens, S.M. Sandberg, et al. The potential of brain natriuretic peptide as a biomarker for New York Heart Association class during the outpatient treatment of heart failure. *J Card Fail*, **2002**, 8(3): 149-54.
82. Tsutamoto, T., A. Wada, K. Maeda, et al. Attenuation of compensation of endogenous cardiac natriuretic peptide system in chronic heart failure: prognostic role of plasma brain natriuretic peptide concentration in patients with chronic symptomatic left ventricular dysfunction. *Circulation*, **1997**, 96(2): 509-16.

83. Hildebrandt, P., M. Boesen, M. Olsen, K. Wachtell, and B. Groenning. N-terminal pro brain natriuretic peptide in arterial hypertension--a marker for left ventricular dimensions and prognosis. *Eur J Heart Fail*, **2004**, 6(3): 313-7.
84. Hartmann, F., M. Packer, A.J. Coats, et al. NT-proBNP in severe chronic heart failure: rationale, design and preliminary results of the COPERNICUS NT-proBNP substudy. *Eur J Heart Fail*, **2004**, 6(3): 343-50.
85. Koglin, J., S. Pehlivanli, M. Schwaiblmair, M. Vogeser, P. Cremer, and W. vonScheidt. Role of brain natriuretic peptide in risk stratification of patients with congestive heart failure. *J Am Coll Cardiol*, **2001**, 38(7): 1934-41.
86. Jarai, R., N. Iordanova, A. Raffetseder, et al. Risk assessment in patients with unstable angina/non-ST-elevation myocardial infarction and normal N-terminal pro-brain natriuretic peptide levels by N-terminal pro-atrial natriuretic peptide. *Eur Heart J*, **2005**, 26(3): 250-6.
87. Fonseca, C., P.M. Sarmiento, A. Minez, et al. Comparative value of BNP and NT-proBNP in diagnosis of heart failure. *Rev Port Cardiol*, **2004**, 23(7-8): 979-91.
88. Sirithunyanont, C., W. Leowattana, Y. Sukumalchantra, et al. Role of the plasma brain natriuretic peptide in differentiating patients with congestive heart failure from other diseases. *J Med Assoc Thai*, **2003**, 86 Suppl 1: S87-95.
89. Richards, A.M., M.G. Nicholls, T.G. Yandle, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: new neurohormonal predictors of left ventricular function and prognosis after myocardial infarction. *Circulation*, **1998**, 97(19): 1921-9.
90. Pfister, R., M. Scholz, K. Wielckens, E. Erdmann, and C.A. Schneider. Use of NT-proBNP in routine testing and comparison to BNP. *Eur J Heart Fail*, **2004**, 6(3): 289-93.
91. Kruger, S., J. Graf, D. Kunz, T. Stickel, P. Hanrath, and U. Janssens. brain natriuretic peptide levels predict functional capacity in patients with chronic heart failure. *J Am Coll Cardiol*, **2002**, 40(4): 718-22.
92. Gardner, R.S., F. Ozalp, A.J. Murday, S.D. Robb, and T.A. McDonagh. N-terminal pro-brain natriuretic peptide. A new gold standard in predicting mortality in patients with advanced heart failure. *Eur Heart J*, **2003**, 24(19): 1735-43.
93. Richards, A.M., R. Doughty, M.G. Nicholls, et al. Plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide and adrenomedullin: prognostic utility and prediction of benefit from carvedilol in chronic ischemic left ventricular dysfunction. Australia-New Zealand Heart Failure Group. *J Am Coll Cardiol*, **2001**, 37(7): 1781-7.
94. Tsutamato, T., A. Wada, K. Maeda, et al. Plasma brain natriuretic peptide level as a biochemical marker of morbidity and mortality in patients with asymptomatic or minimally symptomatic left ventricular dysfunction. Comparison with plasma angiotensin II and endothelin-1. *Eur Heart J*, **1999**, 20(24): 1799-807.
95. Hulsmann, M., R. Berger, B. Sturm, et al. Prediction of outcome by neurohumoral activation, the six-minute walk test and the Minnesota Living with Heart Failure Questionnaire in an outpatient cohort with congestive heart failure. *Eur Heart J*, **2002**, 23(11): 886-91.
96. Groenning, B.A., I. Raymond, P.R. Hildebrandt, J.C. Nilsson, M. Baumann, and F. Pedersen. Diagnostic and prognostic evaluation of left ventricular systolic heart failure by plasma N-terminal pro-brain natriuretic peptide concentrations in a large sample of the general population. *Heart*, **2004**, 90(3): 297-303.

97. Berger, R., M. Huelsman, K. Strecker, et al. B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation*, **2002**, *105*(20): 2392-7.
98. Kirk, V., M. Bay, J. Parner, et al. N-terminal proBNP and mortality in hospitalised patients with heart failure and preserved vs. reduced systolic function: data from the prospective Copenhagen Hospital Heart Failure Study (CHHF). *Eur J Heart Fail*, **2004**, *6*(3): 335-41.
99. McCullough, P.A. and K.R. Sandberg. Sorting out the evidence on natriuretic peptides. *Rev Cardiovasc Med*, **2003**, *4 Suppl 4*: S13-9.
100. Taniguchi, R., Y. Sato, T. Yamada, et al. Combined measurements of cardiac troponin T and N-terminal pro-brain natriuretic peptide in patients with heart failure. *Circ J*, **2004**, *68*(12): 1160-4.
101. Richards, A.M., J.G. Lainchbury, M.G. Nicholls, R.W. Troughton, and T.G. Yandle. BNP in hormone-guided treatment of heart failure. *Trends Endocrinol Metab*, **2002**, *13*(4): 151-5.
102. Troughton, R.W., C.M. Frampton, T.G. Yandle, E.A. Espiner, M.G. Nicholls, and A.M. Richards. Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet*, **2000**, *355*(9210): 1126-30.
103. Maisel, A. B-type natriuretic peptide levels: diagnostic and prognostic in congestive heart failure: what's next? *Circulation*, **2002**, *105*(20): 2328-31.
104. Friesewinkel, O., M. Furrer, G. Hanggi, and A. Rutschmann. [Severe heart failure: treatment optimisation and monitoring using plasma NT-proBNP levels--an useful tool in clinical practice]. *Schweiz Rundsch Med Prax*, **2004**, *93*(12): 476-80.
105. Haass, M., R. Dietz, T.A. Fischer, R.E. Lang, and W. Kubler. Role of right and left atrial dimensions for release of atrial natriuretic peptide in left-sided valvular heart disease and idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, **1988**, *62*(10 Pt 1): 764-70.
106. Hama, N., H. Itoh, G. Shirakami, et al. Rapid ventricular induction of brain natriuretic peptide gene expression in experimental acute myocardial infarction. *Circulation*, **1995**, *92*(6): 1558-64.
107. Anand, I.S., L.D. Fisher, Y.T. Chiang, et al. Changes in brain natriuretic peptide and norepinephrine over time and mortality and morbidity in the Valsartan Heart Failure Trial (Val-HeFT). *Circulation*, **2003**, *107*(9): 1278-83.
108. Hammerer-Lercher, A., E. Neubauer, S. Muller, O. Pachinger, B. Puschendorf, and J. Mair. Head-to-head comparison of N-terminal pro-brain natriuretic peptide, brain natriuretic peptide and N-terminal pro-atrial natriuretic peptide in diagnosing left ventricular dysfunction. *Clin Chim Acta*, **2001**, *310*(2): 193-7.
109. Pemberton, C.J., M.L. Johnson, T.G. Yandle, and E.A. Espiner. Deconvolution analysis of cardiac natriuretic peptides during acute volume overload. *Hypertension*, **2000**, *36*(3): 355-9.
110. Danesh, J., R. Collins, P. Appleby, and R. Peto. Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: meta-analyses of prospective studies. *Jama*, **1998**, *279*(18): 1477-82.
111. Danesh, J., P. Whincup, M. Walker, et al. Low grade inflammation and coronary heart disease: prospective study and updated meta-analyses. *Bmj*, **2000**, *321*(7255): 199-204.

112. Haverkate, F., S.G. Thompson, S.D. Pyke, J.R. Gallimore, and M.B. Pepys. Production of C-reactive protein and risk of coronary events in stable and unstable angina. European Concerted Action on Thrombosis and Disabilities Angina Pectoris Study Group. *Lancet*, **1997**, 349(9050): 462-6.
113. Koenig, W., M. Sund, M. Frohlich, et al. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation*, **1999**, 99(2): 237-42.
114. Ridker, P.M. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation*, **2003**, 107(3): 363-9.
115. Harris, T.B., L. Ferrucci, R.P. Tracy, et al. Associations of elevated interleukin-6 and C-reactive protein levels with mortality in the elderly. *Am J Med*, **1999**, 106(5): 506-12.
116. Chatenoud, L. Allograft rejection: the role of the cytokine network. *Eur Cytokine Netw*, **1992**, 3(6): 509-13.
117. Neumann, F.J., I. Ott, M. Gawaz, et al. Cardiac release of cytokines and inflammatory responses in acute myocardial infarction. *Circulation*, **1995**, 92(4): 748-55.
118. Koller-Strametz, J., R. Pacher, B. Frey, T. Kos, W. Woloszczuk, and B. Stanek. Circulating tumor necrosis factor-alpha levels in chronic heart failure: relation to its soluble receptor II, interleukin-6, and neurohumoral variables. *J Heart Lung Transplant*, **1998**, 17(4): 356-62.
119. Amosova, E.N., Y.V. Shpak, A.V. Nedozhdiy, and L.V. Produsevich. Proinflammatory cytokine levels in patients with diastolic heart failure. *Kardiol Pol*, **2004**, 61(7): 17-20.
120. Mann, D.L. and J.B. Young. Basic mechanisms in congestive heart failure. Recognizing the role of proinflammatory cytokines. *Chest*, **1994**, 105(3): 897-904.
121. Kell, R., A. Haunstetter, T.J. Dengler, C. Zugck, W. Kubler, and M. Haass. Do cytokines enable risk stratification to be improved in NYHA functional class III patients? Comparison with other potential predictors of prognosis. *Eur Heart J*, **2002**, 23(1): 70-8.
122. Aukrust, P., T. Ueland, E. Lien, et al. Cytokine network in congestive heart failure secondary to ischemic or idiopathic dilated cardiomyopathy. *Am J Cardiol*, **1999**, 83(3): 376-82.
123. Kubota, T., G.S. Bounoutas, M. Miyagishima, et al. Soluble tumor necrosis factor receptor abrogates myocardial inflammation but not hypertrophy in cytokine-induced cardiomyopathy. *Circulation*, **2000**, 101(21): 2518-25.
124. Deswal, A., B. Bozkurt, Y. Seta, et al. Safety and efficacy of a soluble P75 tumor necrosis factor receptor (Enbrel, etanercept) in patients with advanced heart failure. *Circulation*, **1999**, 99(25): 3224-6.
125. Liu, L. and S.P. Zhao. The changes of circulating tumor necrosis factor levels in patients with congestive heart failure influenced by therapy. *Int J Cardiol*, **1999**, 69(1): 77-82.
126. Mann, D.L., A. Deswal, B. Bozkurt, and G. Torre-Amione. New therapeutics for chronic heart failure. *Annu Rev Med*, **2002**, 53: 59-74.

127. Arras, M., A. Hoche, R. Bohle, P. Eckert, W. Riedel, and J. Schaper. Tumor necrosis factor-alpha in macrophages of heart, liver, kidney, and in the pituitary gland. *Cell Tissue Res*, **1996**, 285(1): 39-49.
128. Torre-Amione, G., S. Kapadia, C. Benedict, H. Oral, J.B. Young, and D.L. Mann. Proinflammatory cytokine levels in patients with depressed left ventricular ejection fraction: a report from the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD). *J Am Coll Cardiol*, **1996**, 27(5): 1201-6.
129. Wagner, D.R., A. Combes, C. McTiernan, V.J. Sanders, B. Lemster, and A.M. Feldman. Adenosine inhibits lipopolysaccharide-induced cardiac expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res*, **1998**, 82(1): 47-56.
130. Kapadia, S.R., H. Oral, J. Lee, M. Nakano, G.E. Taffet, and D.L. Mann. Hemodynamic regulation of tumor necrosis factor-alpha gene and protein expression in adult feline myocardium. *Circ Res*, **1997**, 81(2): 187-95.
131. Meldrum, D.R., C.A. Dinarello, J.C. Cleveland, Jr., et al. Hydrogen peroxide induces tumor necrosis factor alpha-mediated cardiac injury by a P38 mitogen-activated protein kinase-dependent mechanism. *Surgery*, **1998**, 124(2): 291-6; discussion 297.
132. Gurevitch, J., I. Frolkis, Y. Yuhás, et al. Tumor necrosis factor-alpha is released from the isolated heart undergoing ischemia and reperfusion. *J Am Coll Cardiol*, **1996**, 28(1): 247-52.
133. Hegewisch, S., H.J. Weh, and D.K. Hossfeld. TNF-induced cardiomyopathy. *Lancet*, **1990**, 335(8684): 294-5.
134. Horgan, M.J., G.P. Palace, J.E. Everitt, and A.B. Malik. TNF-alpha release in endotoxemia contributes to neutrophil-dependent pulmonary edema. *Am J Physiol*, **1993**, 264(4 Pt 2): H1161-5.
135. Yokoyama, T., L. Vaca, R.D. Rossen, W. Durante, P. Hazarika, and D.L. Mann. Cellular basis for the negative inotropic effects of tumor necrosis factor-alpha in the adult mammalian heart. *J Clin Invest*, **1993**, 92(5): 2303-12.
136. Yokoyama, T., M. Nakano, J.L. Bednarczyk, B.W. McIntyre, M. Entman, and D.L. Mann. Tumor necrosis factor-alpha provokes a hypertrophic growth response in adult cardiac myocytes. *Circulation*, **1997**, 95(5): 1247-52.
137. Bryant, D., L. Becker, J. Richardson, et al. Cardiac failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation*, **1998**, 97(14): 1375-81.
138. Kubota, T., C.F. McTiernan, C.S. Frye, et al. Dilated cardiomyopathy in transgenic mice with cardiac-specific overexpression of tumor necrosis factor-alpha. *Circ Res*, **1997**, 81(4): 627-35.
139. Sivasubramanian, N., M.L. Coker, K.M. Kurrelmeyer, et al. Left ventricular remodeling in transgenic mice with cardiac restricted overexpression of tumor necrosis factor. *Circulation*, **2001**, 104(7): 826-31.
140. Franco, F., G.D. Thomas, B. Giroir, et al. Magnetic resonance imaging and invasive evaluation of development of heart failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha. *Circulation*, **1999**, 99(3): 448-54.
141. Ayala, A., C.D. Herdon, D.L. Lehman, C.A. Ayala, and I.H. Chaudry. Differential induction of apoptosis in lymphoid tissues during sepsis: variation in onset, frequency, and the nature of the mediators. *Blood*, **1996**, 87(10): 4261-75.

142. Ohta, H., Y. Yatomi, E.A. Sweeney, S. Hakomori, and Y. Igarashi. A possible role of sphingosine in induction of apoptosis by tumor necrosis factor-alpha in human neutrophils. *FEBS Lett*, **1994**, 355(3): 267-70.
143. Pagani, F.D., L.S. Baker, C. Hsi, M. Knox, M.P. Fink, and M.S. Visner. Left ventricular systolic and diastolic dysfunction after infusion of tumor necrosis factor-alpha in conscious dogs. *J Clin Invest*, **1992**, 90(2): 389-98.
144. Gulick, T., S.J. Pieper, M.A. Murphy, L.G. Lange, and G.F. Schreiner. A new method for assessment of cultured cardiac myocyte contractility detects immune factor-mediated inhibition of beta-adrenergic responses. *Circulation*, **1991**, 84(1): 313-21.
145. Benedict, C.R., D.H. Weiner, D.E. Johnstone, et al. Comparative neurohormonal responses in patients with preserved and impaired left ventricular ejection fraction: results of the Studies of Left Ventricular Dysfunction (SOLVD) Registry. The SOLVD Investigators. *J Am Coll Cardiol*, **1993**, 22(4 Suppl A): 146A-153A.
146. Deswal, A., N.J. Petersen, A.M. Feldman, J.B. Young, B.G. White, and D.L. Mann. Cytokines and cytokine receptors in advanced heart failure: an analysis of the cytokine database from the Vesnarinone trial (VEST). *Circulation*, **2001**, 103(16): 2055-9.
147. Mallat, Z., S. Besnard, M. Duriez, et al. Protective role of interleukin-10 in atherosclerosis. *Circ Res*, **1999**, 85(8): e17-24.
148. Wang, P., P. Wu, M.I. Siegel, R.W. Egan, and M.M. Billah. Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor kappa B (NF kappa B) activation in human monocytes. IL-10 and IL-4 suppress cytokine synthesis by different mechanisms. *J Biol Chem*, **1995**, 270(16): 9558-63.
149. Moore, K.W., A. O'Garra, R. de Waal Malefyt, P. Vieira, and T.R. Mosmann. Interleukin-10. *Annu Rev Immunol*, **1993**, 11: 165-90.
150. Pradier, O., C. Gerard, A. Delvaux, et al. Interleukin-10 inhibits the induction of monocyte procoagulant activity by bacterial lipopolysaccharide. *Eur J Immunol*, **1993**, 23(10): 2700-3.
151. Gniadecki, R. Nongenomic signaling by vitamin D: a new face of Src. *Biochem Pharmacol*, **1998**, 56(10): 1273-7.
152. Falkenstein, E., H.C. Tillmann, M. Christ, M. Feuring, and M. Wehling. Multiple actions of steroid hormones--a focus on rapid, nongenomic effects. *Pharmacol Rev*, **2000**, 52(4): 513-56.
153. Norman, A.W., X. Song, L. Zanello, C. Bula, and W.H. Okamura. Rapid and genomic biological responses are mediated by different shapes of the agonist steroid hormone, 1alpha,25(OH)2vitamin D3. *Steroids*, **1999**, 64(1-2): 120-8.
154. Reichel, H. [Vitamin D and D hormones. Current status of therapy]. *Internist (Berl)*, **1998**, 39(6): 657-67.
155. Jakob, F. [1,25(OH)2-vitamin D3. The vitamin D hormone]. *Internist (Berl)*, **1999**, 40(4): W414-30.
156. Walters, M.R., T.T. Ilenchuk, and W.C. Claycomb. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 stimulates ⁴⁵Ca²⁺ uptake by cultured adult rat ventricular cardiac muscle cells. *J Biol Chem*, **1987**, 262(6): 2536-41.
157. Drittanti, L.N., R.L. Boland, and A.R. de Boland. Induction of specific proteins in cultured skeletal muscle cells by 1,25-dihydroxyvitamin D-3. *Biochim Biophys Acta*, **1989**, 1012(1): 16-23.

158. Santillan, G.E., G. Vazquez, and R.L. Boland. Activation of a beta-adrenergic-sensitive signal transduction pathway by the secosteroid hormone 1,25-(OH)₂-vitamin D₃ in chick heart. *J Mol Cell Cardiol*, **1999**, 31(5): 1095-104.
159. Selles, J., T. Bellido, and R. Boland. Modulation of calcium uptake in cultured cardiac muscle cells by 1,25-dihydroxyvitamin D₃. *J Mol Cell Cardiol*, **1994**, 26(12): 1593-9.
160. Deluca, H.F. and M.T. Cantorna, Vitamin D: its role and uses in immunology, in *Faseb J*. **2001**. p. 2579-85.
161. Nemere, I. and M.C. Farach-Carson. Membrane receptors for steroid hormones: a case for specific cell surface binding sites for vitamin D metabolites and estrogens. *Biochem Biophys Res Commun*, **1998**, 248(3): 443-9.
162. Norman, A.W. Receptors for 1alpha,25(OH)₂D₃: past, present, and future. *J Bone Miner Res*, **1998**, 13(9): 1360-9.
163. O'Connell, T.D. and R.U. Simpson. Immunochemical identification of the 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor protein in human heart. *Cell Biol Int*, **1996**, 20(9): 621-4.
164. Barger-Lux, M.J., R.P. Heaney, S.J. Lanspa, J.C. Healy, and H.F. DeLuca. An investigation of sources of variation in calcium absorption efficiency. *J Clin Endocrinol Metab*, **1995**, 80(2): 406-11.
165. Zittermann, A. Vitamin D in preventive medicine: are we ignoring the evidence? *Br J Nutr*, **2003**, 89(5): 552-72.
166. Holick, M.F. Noncalcemic actions of 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and clinical applications. *Bone*, **1995**, 17(2 Suppl): 107S-111S.
167. Holick, M.F. Vitamin D: A millenium perspective. *J Cell Biochem*, **2003**, 88(2): 296-307.
168. Holick, M.F. Vitamin D: importance in the prevention of cancers, type 1 diabetes, heart disease, and osteoporosis. *Am J Clin Nutr*, **2004**, 79(3): 362-71.
169. Jones, G., S.A. Strugnell, and H.F. DeLuca. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*, **1998**, 78(4): 1193-231.
170. van den Bemd, G.J. and G.T. Chang. Vitamin D and vitamin D analogs in cancer treatment. *Curr Drug Targets*, **2002**, 3(1): 85-94.
171. Deluca, H.F. and M.T. Cantorna. Vitamin D: its role and uses in immunology. *Faseb J*, **2001**, 15(14): 2579-85.
172. Mathieu, C. and L. Adorini. The coming of age of 1,25-dihydroxyvitamin D(3) analogs as immunomodulatory agents. *Trends Mol Med*, **2002**, 8(4): 174-9.
173. Hewison, M., M.A. Gacad, J. Lemire, and J.S. Adams. Vitamin D as a cytokine and hematopoietic factor. *Rev Endocr Metab Disord*, **2001**, 2(2): 217-27.
174. Reinhart, G.A. Vitamin D analogs: novel therapeutic agents for cardiovascular disease? *Curr Opin Investig Drugs*, **2004**, 5(9): 947-51.
175. Olgun, H., N. Ceviz, and B. Ozkan. A case of dilated cardiomyopathy due to nutritional vitamin D deficiency rickets. *Turk J Pediatr*, **2003**, 45(2): 152-4.
176. Carlton-Conway, D., R. Tulloh, L. Wood, and D. Kanabar. Vitamin D deficiency and cardiac failure in infancy. *J R Soc Med*, **2004**, 97(5): 238-9.
177. Gillor, A., P. Groneck, J. Kaiser, and A. Schmitz-Stolbrink. [Congestive heart failure in rickets caused by vitamin D deficiency]. *Monatsschr Kinderheilkd*, **1989**, 137(2): 108-10.

178. Brunvand, L., P. Haga, S.E. Tangsrud, and E. Haug. Congestive heart failure caused by vitamin D deficiency? *Acta Paediatr*, **1995**, 84(1): 106-8.
179. Shane, E., D. Mancini, K. Aaronson, et al. Bone mass, vitamin D deficiency, and hyperparathyroidism in congestive heart failure. *Am J Med*, **1997**, 103(3): 197-207.
180. Zhu, Y., B.D. Mahon, M. Froicu, and M.T. Cantorna. Calcium and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 target the TNF-alpha pathway to suppress experimental inflammatory bowel disease. *Eur J Immunol*, **2005**, 35(1): 217-24.
181. Canning, M.O., K. Grotenhuis, H. de Wit, C. Ruwhof, and H.A. Drexhage. 1-alpha,25-Dihydroxyvitamin D3 (1,25(OH)(2)D(3)) hampers the maturation of fully active immature dendritic cells from monocytes. *Eur J Endocrinol*, **2001**, 145(3): 351-7.
182. Michel, G., A. Gailis, B. Jarzebska-Deussen, A. Muschen, A. Mirmohammadsadegh, and T. Ruzicka. 1,25-(OH)2-vitamin D3 and calcipotriol induce IL-10 receptor gene expression in human epidermal cells. *Inflamm Res*, **1997**, 46(1): 32-4.
183. Zittermann, A., J. Dembinski, and P. Stehle. Low vitamin D status is associated with low cord blood levels of the immunosuppressive cytokine interleukin-10. *Pediatr Allergy Immunol*, **2004**, 15(3): 242-6.
184. Hart, P.H., M.A. Grimbaldeston, A. Jaksic, et al. Ultraviolet B-induced suppression of immune responses in interleukin-4-/- mice: relationship to dermal mast cells. *J Invest Dermatol*, **2000**, 114(3): 508-13.
185. Li, Y.C., J. Kong, M. Wei, Z.F. Chen, S.Q. Liu, and L.P. Cao. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest*, **2002**, 110(2): 229-38.
186. Bader, M. and D. Ganten. Regulation of renin: new evidence from cultured cells and genetically modified mice. *J Mol Med*, **2000**, 78(3): 130-9.
187. Xiang, W., J. Kong, S. Chen, et al. Cardiac Hypertrophy in Vitamin D Receptor Knockout Mice: Role of the Systemic and Cardiac Renin-Angiotensin Systems. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, **2004**.
188. Holick, M.F.: Vitamin D: photobiology, metabolism, mechanism of action, and clinical applications. In: Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism, edn.3, M.J. Favus, Editor. Lippincott-Raven, Philadelphia, **1999**.
189. Brenza, H.L. and H.F. DeLuca. Regulation of 25-hydroxyvitamin D3 1 α -hydroxylase gene expression by parathyroid hormone and 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Arch Biochem Biophys*, **2000**, 381(1): 143-52.
190. Adams, J.S., T.L. Clemens, J.A. Parrish, and M.F. Holick. Vitamin-D synthesis and metabolism after ultraviolet irradiation of normal and vitamin-D-deficient subjects. *N Engl J Med*, **1982**, 306(12): 722-5.
191. Eastwood, J.B., H.E. de Wardener, R.W. Gray, and J.L. Lemann, Jr. Normal plasma-1,25-(OH)2-vitamin-D concentrations in nutritional osteomalacia. *Lancet*, **1979**, I(8131): 1377-8.
192. Hine, T.J. and N.B. Roberts. Seasonal variation in serum 25-hydroxy vitamin D3 does not affect 1,25-dihydroxy vitamin D. *Ann Clin Biochem*, **1994**, 31 (Pt 1): 31-4.
193. Guillemant, J., S. Cabrol, A. Allemandou, G. Peres, and S. Guillemant. Vitamin D-dependent seasonal variation of PTH in growing male adolescents. *Bone*, **1995**, 17(6): 513-6.

194. Food and Nutrition Board, I.o.M., Dietary Reference Intakes for Calcium, Magnesium, Phosphorus, Vitamin D, and Fluoride, in National Academy Press. **1997**: Washington DC.
195. McKenna, M.J. Differences in vitamin D status between countries in young adults and the elderly. *Am J Med*, **1992**, 93(1): 69-77.
196. Lips, P., T. Duong, A. Oleksik, et al. A global study of vitamin D status and parathyroid function in postmenopausal women with osteoporosis: baseline data from the multiple outcomes of raloxifene evaluation clinical trial. *J Clin Endocrinol Metab*, **2001**, 86(3): 1212-21.
197. Kauppinen-Makelin, R., R. Tahtela, E. Loyttyniemi, J. Karkkainen, and M.J. Valimaki. A high prevalence of hypovitaminosis D in Finnish medical in- and outpatients. *J Intern Med*, **2001**, 249(6): 559-63.
198. Chapuy, M.C., P. Preziosi, M. Maamer, et al. Prevalence of vitamin D insufficiency in an adult normal population. *Osteoporos Int*, **1997**, 7(5): 439-43.
199. McKenna, M.J. and R. Freaney. Secondary hyperparathyroidism in the elderly: means to defining hypovitaminosis D. *Osteoporos Int*, **1998**, 8 Suppl 2: S3-6.
200. Thomas, M.K., D.M. Lloyd-Jones, R.I. Thadhani, et al. Hypovitaminosis D in medical inpatients. *N Engl J Med*, **1998**, 338(12): 777-83.
201. Haden, S.T., G.E. Fuleihan, J.E. Angell, N.M. Cotran, and M.S. LeBoff. Calcidiol and PTH levels in women attending an osteoporosis program. *Calcif Tissue Int*, **1999**, 64(4): 275-9.
202. Need, A.G., M. Horowitz, H.A. Morris, and B.C. Nordin. Vitamin D status: effects on parathyroid hormone and 1, 25-dihydroxyvitamin D in postmenopausal women. *Am J Clin Nutr*, **2000**, 71(6): 1577-81.
203. Lips, P.: Vitamin D, How to define normal values for serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D? In: Vitamin D, D. Feldman, J.W. Pike, and F.H. Glorieux, Editors. Elsevier Academic Press, Amsterdam, **2005**.
204. Vieth, R., Y. Ladak, and P.G. Walfish. Age-related changes in the 25-hydroxyvitamin D versus parathyroid hormone relationship suggest a different reason why older adults require more vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, **2003**, 88(1): 185-91.
205. Vieth, R. Vitamin D supplementation, 25-hydroxyvitamin D concentrations, and safety. *Am J Clin Nutr*, **1999**, 69(5): 842-56.
206. Scharla, S.H. Prevalence of subclinical vitamin D deficiency in different European countries. *Osteoporos Int*, **1998**, 8 Suppl 2: S7-12.
207. Prabhala, A., R. Garg, and P. Dandona. Severe myopathy associated with vitamin D deficiency in western New York. *Arch Intern Med*, **2000**, 160(8): 1199-203.
208. Basha, B., D.S. Rao, Z.H. Han, and A.M. Parfitt. Osteomalacia due to vitamin D depletion: a neglected consequence of intestinal malabsorption. *Am J Med*, **2000**, 108(4): 296-300.
209. Malabanan, A., I.E. Veronikis, and M.F. Holick. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet*, **1998**, 351(9105): 805-6.
210. Vieth, R., D.E. Cole, G.A. Hawker, H.M. Trang, and L.A. Rubin. Wintertime vitamin D insufficiency is common in young Canadian women, and their vitamin D intake does not prevent it. *Eur J Clin Nutr*, **2001b**, 55(12): 1091-7.

211. Lamberg-Allardt, C.J., T.A. Outila, M.U. Karkkainen, H.J. Rita, and L.M. Valsta. Vitamin D deficiency and bone health in healthy adults in Finland: could this be a concern in other parts of Europe? *J Bone Miner Res*, **2001**, *16*(11): 2066-73.
212. Heaney, R.P., M.S. Dowell, C.A. Hale, and A. Bendich. Calcium absorption varies within the reference range for serum 25-hydroxyvitamin D. *J Am Coll Nutr*, **2003**, *22*(2): 142-6.
213. Vieth, R., S. Kimball, A. Hu, and P.G. Walfish. Randomized comparison of the effects of the vitamin D3 adequate intake versus 100 mcg (4000 IU) per day on biochemical responses and the wellbeing of patients. *Nutr J*, **2004**, *3*(1): 8.
214. Grant, W.B. and M.F. Holick. Benefits and requirements of vitamin D for optimal health: a review. *Altern Med Rev*, **2005**, *10*(2): 94-111.
215. Hollis, B.W. Circulating 25-hydroxyvitamin D levels indicative of vitamin D sufficiency: implications for establishing a new effective dietary intake recommendation for vitamin D. *J Nutr*, **2005**, *135*(2): 317-22.
216. Heaney, R.P. Vitamin D: how much do we need, and how much is too much? *Osteoporos Int*, **2000**, *11*(7): 553-5.
217. Harkness, L. and B. Cromer. Low levels of 25-hydroxy vitamin D are associated with elevated parathyroid hormone in healthy adolescent females. *Osteoporos Int*, **2005**, *16*(1): 109-13.
218. Bonjour, J.P., M.A. Schurch, and R. Rizzoli. Nutritional aspects of hip fractures. *Bone*, **1996**, *18*(3 Suppl): 139S-144S.
219. Linhares, E.R., D.A. Jones, J.M. Round, and R.H. Edwards. Effect of nutrition on vitamin D status: studies on healthy and poorly nourished Brazilian children. *Am J Clin Nutr*, **1984**, *39*(4): 625-30.
220. Holmes, R.P. and F.A. Kummerow. The relationship of adequate and excessive intake of vitamin D to health and disease. *J Am Coll Nutr*, **1983**, *2*(2): 173-99.
221. Nesby-O'Dell, S., K.S. Scanlon, M.E. Cogswell, et al. Hypovitaminosis D prevalence and determinants among African American and white women of reproductive age: third National Health and Nutrition Examination Survey, 1988-1994. *Am J Clin Nutr*, **2002**, *76*(1): 187-92.
222. Tangpricha, V., E.N. Pearce, T.C. Chen, and M.F. Holick. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med*, **2002**, *112*(8): 659-62.
223. Rucker, D., J.A. Allan, G.H. Fick, and D.A. Hanley. Vitamin D insufficiency in a population of healthy western Canadians. *Cmaj*, **2002**, *166*(12): 1517-24.
224. Looker, A.C., B. Dawson-Hughes, M.S. Calvo, E.W. Gunter, and N.R. Sahyoun. Serum 25-hydroxyvitamin D status of adolescents and adults in two seasonal subpopulations from NHANES III. *Bone*, **2002**, *30*(5): 771-7.
225. Arya, V., R. Bhambri, M.M. Godbole, and A. Mithal. Vitamin D status and its relationship with bone mineral density in healthy Asian Indians. *Osteoporos Int*, **2004**, *15*(1): 56-61.
226. Shaw, N.J. and B.R. Pal. Vitamin D deficiency in UK Asian families: activating a new concern. *Arch Dis Child*, **2002**, *86*(3): 147-9.
227. Kudlacek, S., B. Schneider, M. Peterlik, et al. Assessment of vitamin D and calcium status in healthy adult Austrians. *Eur J Clin Invest*, **2003**, *33*(4): 323-31.

228. Pasco, J.A., M.J. Henry, G.C. Nicholson, K.M. Sanders, and M.A. Kotowicz. Vitamin D status of women in the Geelong Osteoporosis Study: association with diet and casual exposure to sunlight. *Med J Aust*, **2001**, *175*(8): 401-5.
229. Gannage-Yared, M.H., R. Chemali, N. Yaacoub, and G. Halaby. Hypovitaminosis D in a sunny country: relation to lifestyle and bone markers. *J Bone Miner Res*, **2000**, *15*(9): 1856-62.
230. Fuleihan, G.E. and M. Deeb. Hypovitaminosis D in a sunny country. *N Engl J Med*, **1999**, *340*(23): 1840-1.
231. Bettica, P., M. Bevilacqua, T. Vago, and G. Norbiato. High prevalence of hypovitaminosis D among free-living postmenopausal women referred to an osteoporosis outpatient clinic in northern Italy for initial screening. *Osteoporos Int*, **1999**, *9*(3): 226-9.
232. Carnevale, V., S. Modoni, M. Pileri, et al. Longitudinal evaluation of vitamin D status in healthy subjects from southern Italy: seasonal and gender differences. *Osteoporos Int*, **2001**, *12*(12): 1026-30.
233. Holick, M.F., L.Y. Matsuoka, and J. Wortsman. Age, vitamin D, and solar ultraviolet. *Lancet*, **1989**, *2*(8671): 1104-5.
234. Need, A.G., H.A. Morris, M. Horowitz, and C. Nordin. Effects of skin thickness, age, body fat, and sunlight on serum 25-hydroxyvitamin D. *Am J Clin Nutr*, **1993**, *58*(6): 882-5.
235. Dawson-Hughes, B., S.S. Harris, and G.E. Dallal. Plasma calcidiol, season, and serum parathyroid hormone concentrations in healthy elderly men and women. *Am J Clin Nutr*, **1997**, *65*(1): 67-71.
236. Outila, T.A., M.U. Karkkainen, and C.J. Lamberg-Allardt. Vitamin D status affects serum parathyroid hormone concentrations during winter in female adolescents: associations with forearm bone mineral density. *Am J Clin Nutr*, **2001**, *74*(2): 206-10.
237. Harris, S.S. and B. Dawson-Hughes. Plasma vitamin D and 25OHD responses of young and old men to supplementation with vitamin D3. *J Am Coll Nutr*, **2002**, *21*(4): 357-62.
238. Heaney, R.P., K.M. Davies, T.C. Chen, M.F. Holick, and M.J. Barger-Lux. Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr*, **2003**, *77*(1): 204-10.
239. Schar, B., B. Seifert, U.K. Weber, and C. Ludwig. [Hypocalcemia as a rare cause of acute left heart failure. Case report and review of the literature]. *Schweiz Med Wochenschr*, **1997**, *127*(45): 1862-6.
240. Reichel, H. and E. Ritz. [Endocrine regulation of calcium metabolism]. *Urologe A*, **1995**, *34*(2): W169-80; quiz 179.
241. Ogino, K., D. Burkhoff, and J.P. Bilezikian. The hemodynamic basis for the cardiac effects of parathyroid hormone (PTH) and PTH-related protein. *Endocrinology*, **1995**, *136*(7): 3024-30.
242. Carlstedt, F., L. Lind, L. Wide, et al. Serum levels of parathyroid hormone are related to the mortality and severity of illness in patients in the emergency department. *Eur J Clin Invest*, **1997**, *27*(12): 977-81.
243. Stefanelli, T., H. Mayr, J. Bergler-Klein, S. Globits, W. Woloszczuk, and B. Niederle. Primary hyperparathyroidism: incidence of cardiac abnormalities and partial reversibility after successful parathyroidectomy. *Am J Med*, **1993**, *95*(2): 197-202.

244. Hara, S., Y. Ubara, K. Arizono, et al. Relation between parathyroid hormone and cardiac function in long-term hemodialysis patients. *Miner Electrolyte Metab*, **1995**, *21*(1-3): 72-6.
245. Saleh, F.N., H. Schirmer, J. Sundsfjord, and R. Jorde. Parathyroid hormone and left ventricular hypertrophy. *Eur Heart J*, **2003**, *24*(22): 2054-60.
246. Burchard, K.W., D.S. Gann, J. Colliton, and J. Forster. Ionized calcium, parathormone, and mortality in critically ill surgical patients. *Ann Surg*, **1990**, *212*(4): 543-9; discussion 549-50.
247. Avram, M.M., N. Mittman, M.M. Myint, and P. Fein. Importance of low serum intact parathyroid hormone as a predictor of mortality in hemodialysis and peritoneal dialysis patients: 14 years of prospective observation. *Am J Kidney Dis*, **2001**, *38*(6): 1351-7.
248. Sambrook, P.N., J.S. Chen, L.M. March, et al. Serum parathyroid hormone is associated with increased mortality independent of 25-hydroxy vitamin d status, bone mass, and renal function in the frail and very old: a cohort study. *J Clin Endocrinol Metab*, **2004**, *89*(11): 5477-81.
249. Cohn, J.N., G.R. Johnson, R. Shabetai, et al. Ejection fraction, peak exercise oxygen consumption, cardiothoracic ratio, ventricular arrhythmias, and plasma norepinephrine as determinants of prognosis in heart failure. The V-HeFT VA Cooperative Studies Group. *Circulation*, **1993**, *87*(6 Suppl): VI5-16.
250. Mancini, D.M., H. Eisen, W. Kussmaul, R. Mull, L.H. Edmunds, Jr., and J.R. Wilson. Value of peak exercise oxygen consumption for optimal timing of cardiac transplantation in ambulatory patients with heart failure. *Circulation*, **1991**, *83*(3): 778-86.
251. Zugck, C., C. Kruger, S. Durr, et al. Is the 6-minute walk test a reliable substitute for peak oxygen uptake in patients with dilated cardiomyopathy? *Eur Heart J*, **2000**, *21*(7): 540-9.
252. Kelly, T.L., R. Cremo, C. Nielsen, and R. Shabetai. Prediction of outcome in late-stage cardiomyopathy. *Am Heart J*, **1990**, *119*(5): 1111-21.
253. Levy, D., R.J. Garrison, D.D. Savage, W.B. Kannel, and W.P. Castelli. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham Heart Study. *N Engl J Med*, **1990**, *322*(22): 1561-6.
254. Verdecchia, P., G. Carini, A. Circo, et al. Left ventricular mass and cardiovascular morbidity in essential hypertension: the MAVI study. *J Am Coll Cardiol*, **2001**, *38*(7): 1829-35.
255. Groedel, F.M.: Die Röntgenuntersuchung des Herzens. In: Lehrbuch und Atlas der Röntgendiagnostik in der Inneren Medizin und ihren Grenzgebieten. Lehmanns, München, **1938**.
256. Bruhn, H. and K. Koberstein: Quantitative Analyseverfahren. In: Lehrbuch der Labormedizin, H.F.U. Bruhn, Editor. Schattauer, Stuttgart-New York, **1999**.
257. Munro, I. Derivation of tolerable upper intake levels of nutrients. *Am J Clin Nutr*, **2001**, *74*(6): 865-7.
258. Glerup, H., K. Mikkelsen, L. Poulsen, et al. Commonly recommended daily intake of vitamin D is not sufficient if sunlight exposure is limited. *J Intern Med*, **2000**, *247*(2): 260-8.

259. Lehtonen-Veromaa, M., T. Mottonen, K. Irjala, et al. Vitamin D intake is low and hypovitaminosis D common in healthy 9- to 15-year-old Finnish girls. *Eur J Clin Nutr*, **1999**, 53(9): 746-51.
260. Vieth, R., P.C. Chan, and G.D. MacFarlane. Efficacy and safety of vitamin D3 intake exceeding the lowest observed adverse effect level. *Am J Clin Nutr*, **2001**, 73(2): 288-94.
261. Ervin, R.B. and J. Kennedy-Stephenson. Mineral intakes of elderly adult supplement and non-supplement users in the third national health and nutrition examination survey. *J Nutr*, **2002**, 132(11): 3422-7.
262. . Ernährungsbericht 2004, ed. D.G.f. Ernährung. **2004**, Rheinbreitbach: MedienHaus Plump.
263. de Waal Malefyt, R., J. Abrams, B. Bennett, C.G. Figdor, and J.E. de Vries. Interleukin 10(IL-10) inhibits cytokine synthesis by human monocytes: an autoregulatory role of IL-10 produced by monocytes. *J Exp Med*, **1991**, 174(5): 1209-20.
264. Fiorentino, D.F., A. Zlotnik, T.R. Mosmann, M. Howard, and A. O'Garra. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol*, **1991**, 147(11): 3815-22.
265. Ohtsuka, T., M. Hamada, G. Hiasa, et al. Effect of beta-blockers on circulating levels of inflammatory and anti-inflammatory cytokines in patients with dilated cardiomyopathy. *J Am Coll Cardiol*, **2001**, 37(2): 412-7.
266. Pinderski, L.J., M.P. Fischbein, G. Subbanagounder, et al. Overexpression of interleukin-10 by activated T lymphocytes inhibits atherosclerosis in LDL receptor-deficient Mice by altering lymphocyte and macrophage phenotypes. *Circ Res*, **2002**, 90(10): 1064-71.
267. Pinderski Oslund, L.J., C.C. Hedrick, T. Olvera, et al. Interleukin-10 blocks atherosclerotic events in vitro and in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, **1999**, 19(12): 2847-53.
268. Von Der Thusen, J.H., J. Kuiper, M.L. Fekkes, P. De Vos, T.J. Van Berkel, and E.A. Biessen. Attenuation of atherogenesis by systemic and local adenovirus-mediated gene transfer of interleukin-10 in LDLr^{-/-} mice. *Faseb J*, **2001**, 15(14): 2730-2.
269. Packer, M. Is tumor necrosis factor an important neurohormonal mechanism in chronic heart failure? *Circulation*, **1995**, 92(6): 1379-82.
270. Yamaoka, M., S. Yamaguchi, M. Okuyama, and H. Tomoike. Anti-inflammatory cytokine profile in human heart failure: behavior of interleukin-10 in association with tumor necrosis factor-alpha. *Jpn Circ J*, **1999**, 63(12): 951-6.
271. Wykretowicz, A., J. Furmaniuk, J. Smielecki, et al. The oxygen stress index and levels of circulating interleukin-10 and interleukin-6 in patients with chronic heart failure. *Int J Cardiol*, **2004**, 94(2-3): 283-7.
272. Katsikis, P.D., C.Q. Chu, F.M. Brennan, R.N. Maini, and M. Feldmann. Immunoregulatory role of interleukin 10 in rheumatoid arthritis. *J Exp Med*, **1994**, 179(5): 1517-27.
273. Daftarian, P.M., A. Kumar, M. Kryworuchko, and F. Diaz-Mitoma. IL-10 production is enhanced in human T cells by IL-12 and IL-6 and in monocytes by tumor necrosis factor-alpha. *J Immunol*, **1996**, 157(1): 12-20.
274. Le Moine, O., P. Stordeur, L. Schandene, et al. Adenosine enhances IL-10 secretion by human monocytes. *J Immunol*, **1996**, 156(11): 4408-14.

275. van der Poll, T., J. Jansen, M. Levi, H. ten Cate, J.W. ten Cate, and S.J. van Deventer. Regulation of interleukin 10 release by tumor necrosis factor in humans and chimpanzees. *J Exp Med*, **1994**, *180*(5): 1985-8.
276. Haug, C.J., P. Aukrust, E. Haug, L. Morkrid, F. Muller, and S.S. Froland. Severe deficiency of 1,25-dihydroxyvitamin D3 in human immunodeficiency virus infection: association with immunological hyperactivity and only minor changes in calcium homeostasis. *J Clin Endocrinol Metab*, **1998**, *83*(11): 3832-8.
277. Muller, K., P.M. Haahr, M. Diamant, K. Rieneck, A. Kharazmi, and K. Bendtzen. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 inhibits cytokine production by human blood monocytes at the post-transcriptional level. *Cytokine*, **1992**, *4*(6): 506-12.
278. Spittler, A., M. Willheim, F. Leutmezer, et al. Effects of 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and cytokines on the expression of MHC antigens, complement receptors and other antigens on human blood monocytes and U937 cells: role in cell differentiation, activation and phagocytosis. *Immunology*, **1997**, *90*(2): 286-93.
279. Pfeifer, M., B. Begerow, H.W. Minne, D. Nachtigall, and C. Hansen. Effects of a short-term vitamin D(3) and calcium supplementation on blood pressure and parathyroid hormone levels in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab*, **2001**, *86*(4): 1633-7.
280. Zittermann, A., K. Scheld, and P. Stehle. Seasonal variations in vitamin D status and calcium absorption do not influence bone turnover in young women. *Eur J Clin Nutr*, **1998**, *52*(7): 501-6.
281. Zittermann, A., O. Sabatschus, S. Jantzen, et al. Exercise-trained young men have higher calcium absorption rates and plasma calcitriol levels compared with age-matched sedentary controls. *Calcif Tissue Int*, **2000**, *67*(3): 215-9.
282. Docio, S., J.A. Riancho, A. Perez, J.M. Olmos, J.A. Amado, and J. Gonzalez-Macias. Seasonal deficiency of vitamin D in children: a potential target for osteoporosis-preventing strategies? *J Bone Miner Res*, **1998**, *13*(4): 544-8.
283. Barger-Lux, M.J., R.P. Heaney, S. Dowell, T.C. Chen, and M.F. Holick. Vitamin D and its major metabolites: serum levels after graded oral dosing in healthy men. *Osteoporos Int*, **1998**, *8*(3): 222-30.
284. Bidmon, H.J., J. Gutkowska, R. Murakami, and W.E. Stumpf. Vitamin D receptors in heart: effects on atrial natriuretic factor. *Experientia*, **1991**, *47*(9): 958-62.
285. Hewison, M., D. Zehnder, R. Chakraverty, and J.S. Adams. Vitamin D and barrier function: a novel role for extra-renal 1 alpha-hydroxylase. *Mol Cell Endocrinol*, **2004**, *215*(1-2): 31-8.
286. Zehnder, D., R. Bland, M.C. Williams, et al. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin d(3)-1 alpha-hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab*, **2001**, *86*(2): 888-94.
287. Weishaar, R.E. and R.U. Simpson. Involvement of vitamin D3 with cardiovascular function. II. Direct and indirect effects. *Am J Physiol*, **1987**, *253*(6 Pt 1): E675-83.
288. Hochhauser, E., J. Barak, T. Kushnir, et al. Mechanical, biochemical, and structural effects of vitamin D deficiency on the chick heart. *Angiology*, **1989**, *40*(4 Pt 1): 300-8.
289. Wu, J., M. Garami, L. Cao, Q. Li, and D.G. Gardner. 1,25(OH)2D3 suppresses expression and secretion of atrial natriuretic peptide from cardiac myocytes. *Am J Physiol*, **1995**, *268*(6 Pt 1): E1108-13.
290. Hewison, M., D. Zehnder, R. Bland, and P.M. Stewart. 1alpha-Hydroxylase and the action of vitamin D. *J Mol Endocrinol*, **2000**, *25*(2): 141-8.

291. Pepe, J., E. Romagnoli, I. Nofroni, et al. Vitamin D status as the major factor determining the circulating levels of parathyroid hormone: a study in normal subjects. *Osteoporos Int*, **2004**.
292. Vieth, R. and D. Fraser. Vitamin D insufficiency: no recommended dietary allowance exists for this nutrient. *Cmaj*, **2002**, *166*(12): 1541-2.
293. Dawson-Hughes, B., H. R., L. P., M. P., and V. R.: Vitamin D Round Table. In: Nutritional Aspects of Osteoporosis, B. Dawson-Hughes, Heaney R., Burckhard P.. Editor. Academic Press, New York, **2004**.
294. Dawson-Hughes, B., S.S. Harris, E.A. Krall, and G.E. Dallal. Effect of calcium and vitamin D supplementation on bone density in men and women 65 years of age or older. *N Engl J Med*, **1997**, *337*(10): 670-6.
295. Scarioano, J.K., D.J. Vanderjagt, T. Thacher, C.O. Isichei, B.W. Hollis, and R.H. Glew. Calcium supplements increase the serum levels of crosslinked N-telopeptides of bone collagen and parathyroid hormone in rachitic Nigerian children. *Clin Biochem*, **1998**, *31*(5): 421-7.
296. Karkkainen, M.U., J.W. Wiersma, and C.J. Lamberg-Allardt. Postprandial parathyroid hormone response to four calcium-rich foodstuffs. *Am J Clin Nutr*, **1997**, *65*(6): 1726-30.
297. Souberbielle, J.C., C. Cormier, C. Kindermans, et al. Vitamin D status and redefining serum parathyroid hormone reference range in the elderly. *J Clin Endocrinol Metab*, **2001**, *86*(7): 3086-90.
298. Groenning, B.A., J.C. Nilsson, P.R. Hildebrandt, et al. Neurohumoral prediction of left-ventricular morphologic response to beta-blockade with metoprolol in chronic left-ventricular systolic heart failure. *Eur J Heart Fail*, **2002a**, *4*(5): 635-46.
299. Kelly, R. and A.D. Struthers. Are natriuretic peptides clinically useful as markers of heart failure? *Ann Clin Biochem*, **2001**, *38*(Pt 2): 94-102.
300. Kawai, K., K. Hata, H. Takaoka, H. Kawai, and M. Yokoyama. Plasma brain natriuretic peptide as a novel therapeutic indicator in idiopathic dilated cardiomyopathy during beta-blocker therapy: a potential of hormone-guided treatment. *Am Heart J*, **2001**, *141*(6): 925-32.
301. Bruins, S., M.R. Fokkema, J.W. Romer, et al. High intraindividual variation of B-type natriuretic peptide (BNP) and amino-terminal proBNP in patients with stable chronic heart failure. *Clin Chem*, **2004**, *50*(11): 2052-8.
302. McGeoch, G., J. Lainchbury, G.I. Town, L. Toop, E. Espiner, and A.M. Richards. Plasma brain natriuretic peptide after long-term treatment for heart failure in general practice. *Eur J Heart Fail*, **2002**, *4*(4): 479-83.
303. Maisel, A.S., P. Krishnaswamy, R.M. Nowak, et al. Rapid measurement of B-type natriuretic peptide in the emergency diagnosis of heart failure. *N Engl J Med*, **2002**, *347*(3): 161-7.
304. Wu, J., M. Garami, T. Cheng, and D.G. Gardner. 1,25(OH)₂ vitamin D₃ and retinoic acid antagonize endothelin-stimulated hypertrophy of neonatal rat cardiac myocytes. *J Clin Invest*, **1996**, *97*(7): 1577-88.
305. Kimura, Y., M. Kawamura, M. Owada, et al. Effectiveness of 1,25-dihydroxyvitamin D supplementation on blood pressure reduction in a pseudohypoparathyroidism patient with high renin activity. *Intern Med*, **1999**, *38*(1): 31-5.

306. Park, C.W., Y.S. Oh, Y.S. Shin, et al. Intravenous calcitriol regresses myocardial hypertrophy in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis*, **1999**, 33(1): 73-81.
307. Kristal-Boneh, E., P. Froom, G. Harari, and J. Ribak. Association of calcitriol and blood pressure in normotensive men. *Hypertension*, **1997**, 30(5): 1289-94.
308. Lind, L., A. Hanni, H. Lithell, A. Hvarfner, O.H. Sorensen, and S. Ljunghall. Vitamin D is related to blood pressure and other cardiovascular risk factors in middle-aged men. *Am J Hypertens*, **1995**, 8(9): 894-901.
309. Rostand, S.G. Ultraviolet light may contribute to geographic and racial blood pressure differences. *Hypertension*, **1997**, 30(2 Pt 1): 150-6.
310. Krause, R., M. Buhning, W. Hopfenmuller, M.F. Holick, and A.M. Sharma. Ultraviolet B and blood pressure. *Lancet*, **1998**, 352(9129): 709-10.
311. Sigmund, C.D. Regulation of renin expression and blood pressure by vitamin D(3). *J Clin Invest*, **2002**, 110(2): 155-6.
312. Van den Berghe, G., D. Van Roosbroeck, P. Vanhove, P.J. Wouters, L. De Pourcq, and R. Bouillon. Bone turnover in prolonged critical illness: effect of vitamin D. *J Clin Endocrinol Metab*, **2003**, 88(10): 4623-32.
313. Rostand, S.G. and T.B. Drueke. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Kidney Int*, **1999**, 56(2): 383-92.
314. Nagashima, M., K. Hashimoto, T. Shinsato, et al. Marked improvement of left ventricular function after parathyroidectomy in a hemodialysis patient with secondary hyperparathyroidism and left ventricular dysfunction. *Circ J*, **2003**, 67(3): 269-72.
315. Nasri, H. and A. Baradaran. Close association between parathyroid hormone and left ventricular function and structure in end-stage renal failure patients under maintenance hemodialysis. *J Ayub Med Coll Abbottabad*, **2004**, 16(2): 3-8.
316. Kamycheva, E., J. Sundsfjord, and R. Jorde. Serum parathyroid hormone levels predict coronary heart disease: the Tromso Study. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil*, **2004**, 11(1): 69-74.
317. Levy, D., R.J. Garrison, D.D. Savage, W.B. Kannel, and W.P. Castelli. Left ventricular mass and incidence of coronary heart disease in an elderly cohort. The Framingham Heart Study. *Ann Intern Med*, **1989**, 110(2): 101-7.
318. Ghali, J.K., Y. Liao, B. Simmons, A. Castaner, G. Cao, and R.S. Cooper. The prognostic role of left ventricular hypertrophy in patients with or without coronary artery disease. *Ann Intern Med*, **1992**, 117(10): 831-6.

8 Anhang

Patienteninformation

Einverständniserklärung

Anleitung zur Einnahme des Prüfpräparates

Fragebogen zur Krankheitsgeschichte

Fragebogen zur körperlichen Leistungsfähigkeit

Ernährungsprotokoll

Anleitung zur Durchführung des Ernährungsprotokolls

PATIENTENINFORMATION

zur Studie

Einfluss einer Vitamin D-Supplementierung auf biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz

Sehr geehrte(r) Patient(in),

Am Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen wird eine wissenschaftliche Studie durchgeführt, bei der mögliche Ursachen der Herzschwäche erforscht werden. Im Rahmen der Studie soll untersucht werden, inwieweit die Verabreichung von Vitamin D den Krankheitsverlauf günstig beeinflussen kann. Mit diesem Schreiben möchten wir Ihnen einige Informationen zur Studie geben und Sie bitten, durch Ihre Teilnahme zum Gelingen beizutragen.

Hintergrund der Studie: Die Ursachen der Herzinsuffizienz sind bisher nicht vollständig bekannt. Bei herzinsuffizienten Patienten wird die eingeschränkte Herzmuskelkontraktion unter anderem auf einen gestörten Calcium-Stoffwechsel zurückgeführt. Für die Einleitung der Muskelkontraktion ist der Einstrom von Calcium in die Herzmuskelzellen erforderlich. Durch Vitamin D kann dieser notwendige Calcium-Einstrom gefördert werden. Kürzlich wurde von uns eine Studie abgeschlossen, bei der erstmals eine verschlechterte Vitamin D-Versorgung sowie eine geringe Calciumversorgung bei Patienten mit Herzinsuffizienz festgestellt wurde. Ein niedriger Vitamin D-Status scheint ursächlich an der Krankheitsentstehung und am Krankheitsverlauf der Herzinsuffizienz beteiligt zu sein, sodass niedrige Vitamin D-Konzentrationen im Blut mit der Schwere der Herzerkrankung in Verbindung gebracht werden können.

Eine ergänzende Therapie zur Medikamenteneinnahme mit Vitamin D und Calcium erscheint daher sinnvoll, um die Kontraktionskraft des Herzens zu steigern, d.h. die Leistung der „Pumpe“ zu verbessern.

Studienablauf: Patienten, die sich zur Teilnahme an der Studie entschließen, sollen 9 Monate lang täglich zusätzlich ein Calcium-Präparat einnehmen. Ein Teil der Gruppe erhält ein Vitamin D-Präparat, während der andere Teil der Gruppe zusätzlich ein Scheinpräparat (Plazebo) erhält. Die Einteilung in einer der beiden Gruppen erfolgt nach dem Zufallsprinzip. Diese Vorgehensweise ist notwendig, um nachher bei der Auswertung eindeutig zeigen zu können, ob möglicherweise auftretende Verbesserungen der Erkrankung tatsächlich auf das Vitamin D-Präparat zurückzuführen sind.

Bisher ist nicht bekannt, ob durch zusätzliche Vitamin D-Gabe günstige Wirkungen auf Ihre Erkrankung erzielt werden können.

Während jeder Kontrolluntersuchung, zu der Sie zum Herzzentrum in Bad Oeynhausen kommen, erfolgt bei den Studienteilnehmern eine Blutentnahme. Die Blutentnahme erfolgt im Rahmen der Routine-Blutabnahme und beträgt ca. 15 ml. Darüber hinaus werden krankheitsbezogene Daten mittels EKG, Echokardiographie und Spiroergometrie während der Routineuntersuchung sowie Körpergröße und –gewicht erfasst. Zusätzlich ist ein Fragebogen von 5 Minuten Dauer zur Krankheitsgeschichte zu beantworten sowie ein Ernährungsprotokoll am Tag vor jeder Untersuchung zu führen.

Alle Untersuchungen werden von einem Arzt oder anderen wissenschaftlichen Fachkräften durchgeführt und überwacht.

Risiken: Unerwünschte Wirkungen sind durch die Einnahme des Präparates im Allgemeinen nicht zu erwarten, da es sich bei der verabreichten Menge um empfohlene Dosierungsempfehlungen handelt. Bei der gleichzeitigen Behandlung mit Herzglykosiden und Thiaziddiuretika kann es zur Erhöhung des Blutcalciumspiegels kommen. Sie werden daher in der Klinik hinsichtlich EKG und Calciumspiegel überwacht. Die Blutentnahmen beinhalten die üblichen Risiken, wie Hämatombildung (Bluterguss, blauer Fleck) oder Venenentzündungen an der jeweiligen Einstichstelle der Kanüle.

Versicherung: Das Auftreten unerwünschter Wirkungen ist unwahrscheinlich. Als Teilnehmer der Studie sind Sie dennoch gegen mögliche Gesundheitsschäden versichert bei:

**Gerling-Versicherung (Firmen- und Privat-Service)
Versicherungsschein-Nummer: 70-005569305-6**

Die Versicherungsbedingungen und Obliegenheiten, die für den Versicherungsschutz erforderlich sind, werden Ihnen ausgehändigt.

Durch Ihre Bereitschaft, an dieser Studie teilzunehmen, können Sie dazu beitragen, dass die Ursachen der Herzinsuffizienz besser verstanden werden. Die Ergebnisse können möglicherweise für vorbeugende Maßnahmen sowie für die Behandlung der Erkrankung von Bedeutung sein. Deshalb möchten wir uns vorab bei Ihnen recht herzlich bedanken. Sollten Sie weitere Fragen haben, können Sie sich jederzeit an uns wenden.

Ansprechpartner für Rückfragen:

Dr. med. Gero Tenderich
Oberarzt der Klinik für Thorax- und Kardiovaskularchirurgie
Herz- und Diabeteszentrum Nordrhein-Westfalen
Georgstr. 11
D-32545 Bad Oeynhausen
Tel.: +49-5731-972246
Fax.: +49-5731-972261
Email: gtenderich@hdz-nrw.de

PD Dr. oecotroph. A. Zittermann
Institut für Ernährungswissenschaft der Universität Bonn
Endenicher Allee 11-13
53115 Bonn
Tel.: 0228 / 732016
Fax.: 0228 / 733217
Email: a.zittermann@uni-bonn.de

Einverständniserklärung

Name: _____

Geburtsdatum: _____

Das Original dieser Einwilligungserklärung verbleibt bei den Unterlagen. Eine Kopie der Einwilligungserklärung wird dem Patienten ausgehändigt.

Ich erkläre, dass ich die Patienteninformation zur wissenschaftlichen Untersuchung:

**„Einfluss einer Vitamin D-Supplementierung
auf biochemische Indikatoren der Herzinsuffizienz“**

und diese Einverständniserklärung erhalten habe.

- Ich wurde für mich ausreichend mündlich und schriftlich von Frau/Herrn Dr. med. über die wissenschaftliche Untersuchung informiert.
- Ich erkläre, dass ich damit einverstanden bin, dass Blut, welches entnommen wird und nicht für die Routineuntersuchung nötig ist, für die o.g. wissenschaftliche Untersuchung genutzt werden kann.
- Ich weiss, dass ich jederzeit meine Einwilligung, ohne Angaben von Gründen, widerrufen kann, ohne dass dies für mich nachteilige Folgen hat.
- Ich erkläre, dass ich mit der im Rahmen der klinischen Prüfung erfolgenden Aufzeichnung von Krankheitsdaten/ Studiendaten und ihrer anonymisierten Weitergabe zur Überprüfung an die zuständige Überwachungsbehörde oder die zuständige Bundesoberbehörde und, soweit es sich um personenbezogene Daten handelt, mit deren Einsichtnahme durch zur Verschwiegenheit verpflichtete Beauftragte der Behörde einverstanden bin.
- Über die Versicherungsbedingungen und Obliegenheiten im Rahmen der Studie bin ich aufgeklärt worden. Die Versicherungsbedingungen wurden mir ausgehändigt.
- Mit der vorstehend geschilderten Vorgehensweise bin ich einverstanden und bestätige dies mit meiner Unterschrift.

(Datum)

(Patient)

Wie nehme ich das Prüfpräparat ein?

Allgemeine Hinweise

- Es handelt sich um ein **sehr konzentriertes** Präparat. Halten Sie die Einnahmевorschriften deshalb bitte jeden Tag genau ein, da bei **unsachgemäßer** Anwendung *Nebenwirkungen* nicht ausgeschlossen werden können.
- Wenn Sie versehentlich die Einnahme des Präparates vergessen haben, notieren Sie das entsprechende Datum und fahren am nächsten Tag wie gewohnt mit der Einnahme fort.
- Bitte nehmen Sie jeden Tag einmal 3 Tropfen des Nährstoffpräparates **während** einer **fetthaltigen** Mahlzeit ein. Das Präparat ist **geschmackneutral**, sodass Sie keine Geschmacksveränderungen bemerken werden.
- Ein Fläschchen reicht ungefähr für **100 Tage**. Bringen Sie die Flaschen (auch, wenn Sie noch nicht ganz leer sind) bitte beim nächsten Untersuchungstermin wieder mit. Sie werden regelmäßig neue Flaschen für den nächsten Zeitraum erhalten.

Dosierungsanleitung:

- Bitte nehmen Sie *täglich* **3 Tropfen** des Präparates ein. Achten Sie darauf, dass die Einnahme *immer* mit einer **fetthaltigen** Mahlzeit verbunden ist.

Beispiel:

- Sie geben 3 Tropfen auf eine *Scheibe Brot mit Butter, Käse oder Wurst*. Um Verluste zu vermeiden, tropfen Sie die Flüssigkeit nur auf die Stelle, die Sie als nächstes verzehren.
- Sie nehmen ein Stück *Fleisch oder Fisch* auf eine Gabel und geben darauf die Tropfen.
- Sie nehmen die Tropfen in einem Löffel *fetthaltiger Suppe, Eintopf, Milch oder Joghurt* (mind.3,5%Fett) auf.

Tipp:

- Nehmen Sie das Vitamin D am besten immer **zu einer bestimmten** fetthaltigen Mahlzeit am Tag ein, um die **Gewöhnung** an die tägliche Einnahme zu erleichtern.

- ➡ Die **Calciumtablette** nehmen Sie bitte **1x** am Tag ein.

Fragebogen zur Krankheitsgeschichte

Alle Angaben unterliegen der Schweigepflicht

Name:..... Vorname:.....

Geburtsdatum:/...../19..... Größe:cm Gewicht:kg

Geschlecht: weiblich männlich Raucher Nichtraucher

Checkliste „Klinische Charakteristika“

- Herz-/Kreislaufkrankungen (Koronare Herzerkrankung; Dilatative Kardiomyopathie; Myokardinfarkt in der Vergangenheit; Bypass-Operationen) (wenn ja, welche?)
.....
Dauer der Erkrankung:
- Bluthochdruck (Hypertonie) (wenn ja, seit wann?).....
- Nierenerkrankungen (wenn ja, welche?).....
- Lebererkrankungen (wenn ja, welche?).....
- Thrombosen oder Blutgerinnungsstörungen (wenn ja, welche?).....
- Zuckerkrankheit (Diabetes mellitus) (wenn ja, seit wann?).....
- Schilddrüsenerkrankung (wenn ja, welche?).....
- Knochenbrüche (wenn ja, welche und wann?).....
- Operationen (wenn ja, welche und wann?).....
.....
- Sonstige wichtige Erkrankungen (wenn ja, welche?).....
.....
- Medikamenteneinnahme (Diuretika, Vasodilatoren inkl. ACE-Hemmer, Digitalis, Antikoagulantien, β -Blocker, Nitroglycerin, weitere).....
.....
.....
- Aufnahme von Vitamin D- und Calciumpräparaten in den letzten 4 Wochen (wenn ja, welche und welche Dosierung pro Tag?).....
.....

Fragebogen

Name:

Nr.:

Datum:

1. Wie viele Tage sind Sie in der Woche draußen?

2. Wie schätzen Sie Ihre körperliche Befindlichkeit in den letzten Tagen ein?

sehr schlecht eher schlecht mittelmäßig gut sehr gut

3. Körperliche Leistungsfähigkeit im Alltag:

- Wie lange können Sie auf ebener Erde gehen ohne Schwierigkeiten (Atemnot, Herzrasen, etc.)?

bis zu 100 m bis 500m bis 2 km unbegrenzt
(z.B. Einkauf, kurze Besorgungen) (z.B. Spaziergang)

- Wie viele Treppenstufen können Sie ohne Probleme (Atemnot, Herzrasen, etc.) gehen?

gar nicht weniger als 6 bis zu 12 bis zu 30

- Angabe zur Schlafposition:

flach mit zusätzlichem Kissen in Oberkörperhochlage (Bett angewinkelt)
 nahezu sitzende Position

- Leiden Sie unter nächtlichem Wasserlassen?

nein ja; wenn ja, wie häufig: _____

Probanden-Nr.:

Verzehr über 1 Tag

Durchführung am:

Datum:

Brot	in Scheiben
Weißbrot, Toastbrot	
Mischbrot, Graubrot, Roggenbrot	
Vollkornbrot (z. B. Roggen-, Weizenvollkorn)	
Mehrkornbrot (z. B. Sechskorn-, Vierkorn)	
Knäckebrot, Zwieback	
Pumpernickel	
Sonstiges Brot (z. B. Graham)	

Brötchen	in Stück
Roggenbrötchen	
Vollkornbrötchen, Mehrkornbrötchen	
Sonstige Brötchen (z. B. Rosinen-, Laugenbrötchen)	
Hörnchen, Croissant	

Brotaufstrich, Butter, Margarine, Öl	in Teelöffeln
Marmelade, Konfitüre, Gelee	
Honig	
Nußnougatcreme	
Butter (auch zum Kochen / Braten)	
<small>Sorte / Name</small>	
Margarine (auch zum Kochen / Braten)	
<small>Sorte / Name</small>	
Öl (zum Kochen / Braten)	
<small>Sorte / Name</small>	

Müsli, Getreidebrei	in Eßlöffeln
Haferflocken (trocken)	
Gemischtes Müsli (trocken)	
Cornflakes (trocken)	

Kuchen und Gebäck	in Stück
Sahnetorte, Crêmetorte	
Kuchen ohne Füllung/ohne Belag (z. B. Marmor-, Hefekuchen)	
Kuchen mit Füllung/mit Belag (z. B. Käsekuchen)	
Obstkuchen (z. B. Apfelkuchen)	
Stückchen, Teilchen (z. B. Plunder, Blätterteiggebäck)	
Kekse, Plätzchen	

Käse, Milchprodukte, Milch (eine Portion entspricht dem Belag einer Scheibe Brot)	in Esslöffeln, Scheiben, Portionen, Bechern oder Tassen	
	Fettgehalt in %	
Quark, Frischkäse (in Esslöffeln)	
Hartkäse (z.B. Emmentaler, Gouda) (in Scheiben)	
Weichkäse (z.B. Camembert) (in Portionen)	
Joghurt, Kefir (im Becher à 150 g)	
Buttermilch (in Tassen à 150 ml)	
Milch (in Tassen à 150 ml)	
Saure Sahne, Dickmilch (im Becher à 150 g)	
Süße Sahne/Schlagsahne (im Becher à 150 g)	

Wurst (eine Portion entspricht dem Belag einer Scheibe Brot)	in Portionen oder Stück	
Fettreiche Wurst (z.B. Salami, Cervelatwurst) (in Scheiben)		
Fettarme Wurst (z.B. Geflügelwurst, Bierschinken), gekochter Schinken (in Scheiben)		
Roher Schinken, Lyoner, Gelbwurst (in Portionen)		
Wienerle, Frankfurter, Fleischwurst (in Stück)		

Fleisch, Fisch, Eier	in Portionen oder Stück	
	Zubereitung / Sorte	
Rindfleisch, Kalbfleisch (in Portionen)	
Schweinefleisch (in Portionen)	
Geflügelfleisch (in Portionen)	
Schaffleisch (in Portionen)	
Wild (in Portionen)	
Frikadelle (in Stück)		
Innereien (z. B. Leber, Niere) (in Portionen)	
Fisch (in Portionen)	
Eier (in Stück)		

Suppe, Eintopf	in Tellern	
Klare Suppe		
Gebundene Suppe/Crèmesuppe		
Eintopf mit Fleisch/Wurst		
Eintopf ohne Fleisch, Gemüseeintopf		

Kartoffeln, Nudeln, Reis, Pizza	in Portionen oder Stück
Pellkartoffeln, Salzkartoffeln (in Portionen)	
Kartoffelbrei (in Portionen)	
Bratkartoffeln (in Portionen)	
Kartoffelklöße (in Stück)	
Nudeln ohne Füllung (in Portionen)	
Nudeln mit Füllung (z. B. Ravioli) (in Portionen)	
Reis (in Portionen)	
Getreide (z. B. Hirse, Polenta) (in Portionen)	
Pfannkuchen (in Stück)	
Pizza (in Stück)	

Gemüse, Salat	in Portionen
Sorte	
Erbsen, Linsen, Bohnen	
Grünkohl	
Fenchel	
Porree/Lauch	
Spinat	
Sonstiges Gemüse, gedünstet	
Gemüserohkost (z.B. Karotten, Tomaten, Gurke)	
Grüner Salat/Blattsalat	
Kartoffelsalat	
Fleischsalat	

Obst	in Stück oder Portionen
Sorte	
Apfel, Birne (in Stück)	
Banane (in Stück)	
Trauben, Beeren, Kirschen (in Portionen)	
Zitrusfrüchte (z.B. Orange) (in Stück)	
Südfrüchte (z.B. Ananas, Mango) (in Stück)	
Konservenobst (in Stück)	
Trockenobst (in Stück)	

Soßen, Salatsoßen	in Portionen
Bratensoße	
Hackfleischsoße	
Tomatensoße	
Salatsoße (Essig/Öl)	

Süßwaren, Knabbereien, Nachspeisen	in Stück, Tassen, Eßlöffeln oder Portionen
Schokolade, Pralinen (in Stück)	
Sonstige Süßwaren (Bonbons, Lakritz) (in Stück)	
Knabbergebäck (in Tassen à 150 ml)	
Nüsse, Pistazien (in Eßlöffeln)	
Pudding (in Portionen)	
Eis (in Portionen)	

Kaffee, Tee, Kondensmilch, Kakao, Zucker	in Tassen à 150 ml oder Teelöffeln
Kaffee (caffeinhaltig) (in Tassen à 150 ml)	
Kaffee (entcaffeinert) (in Tassen à 150 ml)	
Schwarzer Tee (in Tassen à 150 ml)	
Kräutertee, Früchtetee (in Tassen à 150 ml)	
Kakao mit Milch (in Tassen à 150 ml)	
Kakao mit Wasser (in Tassen à 150 ml)	
Zucker (in Teelöffeln)	
Kaffeesahne, Kondensmilch (in Teelöffeln)	

Bier	in Flaschen à 500 ml
Bier (z. B. Pils, Alt, Kölsch)	
Alkoholfreies Bier	
Malzbier	

Wein, Sekt, Spirituosen	in Gläsern
Weißwein (in Gläsern à 250 ml)	
Rotwein (in Gläsern à 250 ml)	
Sekt (in Gläsern à 100 ml)	
Schnaps, Likör (in Gläsern à 2 cl)	

Säfte, Wasser, sonstige Getränke	in Gläsern à 200 ml
	Sorte
Fruchtsaft, 100 % Frucht	
Fruchtnektar, 50 % Frucht	
Gemüsesaft	
Multivitaminsaft	
Erfrischungsgetränke (z.B. Limonaden, Cola)	
Diätgetränke (mit Süßstoff)	
Mineralwasser	
Leitungswasser	
Calciumangereicherte Getränke (z.B. Orangensaft mit Calcium)	

Wie wird das Ernährungsprotokoll ausgefüllt?

Allgemeine Hinweise

- Bitte notieren Sie jeweils an dem Tag vor ihrem nächsten Termin bzw. der Blutentnahme im Herzzentrum Bad Oeynhausen *was* und *wie viel* Sie gerade essen und trinken.
- Halten Sie bitte diesen Tag genau ein, damit wir Ihre Angaben mit denen der anderen Studienteilnehmern vergleichen können.

📌 **Bitte essen und trinken Sie an diesem Tag genauso wie immer !!!** 🍴

Wie soll notiert werden?

- **Tragen Sie grundsätzlich bitte alles ein, was Sie verzehren**, d.h. alle Speisen und Getränke (auch Wasser zur Einnahme von Medikamenten, Milch und Zucker für den Kaffee oder Tee), Süßigkeiten und auch Kleinigkeiten zwischendurch und auch Präparate (z.B. Vitamin- und Mineralstoffpräparate).
- Suchen Sie ein verzehrtes Lebensmittel in der entsprechenden **Lebensmittelgruppe** (z.B. Marmelade in der Gruppe *Brotaufstrich*).
- Schätzen Sie die **Menge** bitte gut ab und machen Sie in der Spalte **Anzahl** entweder für jede Portion einen Strich oder notieren Sie eine Ziffer (z.B. für 3 Scheiben Mischbrot entweder 3 Striche oder eine „3“ eintragen).
- Für die einzelnen Lebensmittel sind jeweils die gewöhnlichen Maßeinheiten angegeben. So wird Brot in *Scheiben* angegeben, Kuchen in *Stück*, Kaffee in *Kaffeetassen*.
- Hat man eine kleinere Portion als angegeben gegessen bzw. getrunken (z.B. ½ Teller Nudeln oder ¼ Apfel), trägt man einfach ½ oder ¼ ein.
- Gerichte / Lebensmittel, die Sie **nicht in der Liste** finden können (z.B. Pommes Frites), tragen Sie bitte unter *Lebensmittel, die nicht aufgeführt sind* mit möglichst genauer Portionsangabe ein.

Tipps:

- Notieren Sie am besten **während oder direkt nach der Mahlzeit**.
- **Am Abend sollte man noch einmal über den vergangenen Tag nachdenken** – am besten mit der Liste in der Hand – ob etwas vergessen wurde und sollte das dann noch eintragen.
- Wenn möglich, sollten **Gerichte beim Notieren zerlegt werden**, z.B. Spaghetti Bolognese in *Nudeln ohne Füllung* (Spaghetti) und in *Hackfleischsoße*.

9 Danksagung

Ich bedanke mich bei allen Beteiligten, die mir bei der Vorbereitung und Durchführung der Untersuchungen hilfreich zur Seite standen. Hierbei gilt besonderer Dank:

- ❖ Herrn PD Dr. Armin Zittermann für die Überlassung des Promotionsthemas, für die Lehre des wissenschaftlichen Arbeitens sowie für die außerordentliche Unterstützung und Motivation während dieser Studie.
- ❖ Herrn Prof. Dr. Peter Stehle für die wissenschaftliche Unterstützung sowie für zahlreiche, wertvolle Ratschläge im Rahmen meiner Arbeit.
- ❖ Herrn Dr. med. Gero Tenderich für die Hilfsbereitschaft bei Problemen in der praktischen Durchführung der Studie sowie für die vielfältigen Einblicke, die mir, unter seiner Leitung, in die Transplantationsmedizin ermöglicht wurden.
- ❖ Dem gesamten Personal der Herztransplantationsstation und –ambulanz des Herz- und Diabeteszentrum NRW für die gute Zusammenarbeit, die unkomplizierte Durchführung der Blutentnahmen sowie für die freundliche Hilfsbereitschaft bei unzähligen Fragen.
- ❖ Frau Adelheid Schuch, Frau Christel Bierschbach, Frau Dr. Birgit Altheld und Herrn Tomislav Bahlen für die praktische Hilfe bei der Laborarbeit sowie für die kontinuierliche Unterstützung bei labortechnischen Fragestellungen. Ebenso gilt mein Dank auch allen anderen Mitarbeitern des Instituts für Ernährungs- und Lebensmittelwissenschaften der Rheinischen Friedrich-Wilhelms Universität Bonn für die hilfreiche Unterstützung in jeder Hinsicht.
- ❖ Meinem Mann, meinen Eltern, Geschwistern, Großeltern und Freunden für die motivierende und aufbauende Unterstützung und den nötigen Rückhalt, wodurch mir das Schreiben dieser Arbeit wesentlich erleichtert wurde.
- ❖ Allen Patienten, die sich im Rahmen dieser Studie als „Versuchskaninchen“ zur Verfügung gestellt haben und mir so die Möglichkeit gaben, das Thema zu bearbeiten.
- ❖ Der Deutschen Herzstiftung für die finanzielle Unterstützung dieser Studie. Ohne die finanzielle Unterstützung wäre die Studie in diesem Umfang nicht durchführbar gewesen.
- ❖ Der Firma Merck, insbesondere Herrn Dieter Bonke, für die kostenfreie Überlassung der Placebo-Präparate und des dafür erforderlichen Zubehörs sowie für die wertvollen Anregungen und den interessanten Erfahrungsaustausch während der Studie.