

4. Diskussion

4.1 Photoplethysmographische Pulskurvenaufzeichnung

Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz sind bekannt für ihr erhöhtes kardiovaskuläres Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko (Locatelli et al., 2000; London et al., 2005; Parfrey 2000; Sarnak et al., 2003; Saw et al., 2004). Ihre jährliche Todesrate liegt bei fast 25%. Als pathophysiologisches sowie histopathomorphologisches Korrelat liegt diesem Risiko unter anderem eine Störung der endothelialen Funktion zugrunde, die auf die Akkumulation verschiedener Risikofaktoren zurückzuführen ist.

Das rechtzeitige Erkennen dieser endothelialen Dysfunktion und eine sofortige therapeutische Intervention sind für die Verminderung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz von großer Wichtigkeit. Ein nicht-invasive Verfahren zur Aufzeichnung reflektiver Gefäßeigenschaften und einfachen Darstellung der Güte der Endothelfunktion wurde gesucht.

Die vorliegende Arbeit etabliert die digitale Photoplethysmographie als einfach durchführbare, Untersucher-unabhängige, nicht-invasive und reliable Methode zur kontinuierliche Analyse der Pulswelle während der Hämodialysebehandlung bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Mit der Entwicklung des Reflective Indexes als neuen Auswertungs-Algorithmus aus den photoplethysmographisch ermittelten Rohdaten existiert ein direkter Wert als Maß für den Gefäßtonus und die reflektiven Gefäßeigenschaften. In der Praxis zeigte sich eine gute Akzeptanz dieser Methode sowie eine solide Reproduzierbarkeit. Sowohl die wiederholten Messungen am selben Tag als auch zu korrespondierenden Messzeitpunkten während aufeinander folgender Hämodialysebehandlungen zeigten eine gute Retest-Stabilität nach Bland-Altman, die in der Größenordnung z.B. der Blutdruckmessung nach Riva-Rocci lag.

Zunächst wurde die Methode der digitalen Photoplethysmographie genutzt, um die Pulskurven einer gesunden Probandengruppe aufzuzeichnen und definieren zu können, was ein ansteigender bzw. abfallender Reflective Index, übertragen auf das Gefäßsystem, aussagt. Wie in der Literatur beschrieben, entsteht der diastolische Anteil der digitalen Volumenpulskurve – aus dem sich der Reflective Index errechnet – vorwiegend durch die Reflexion der Pulskurve in der Peripherie, wahrscheinlich

insbesondere an kleinen Arterien der unteren Körperabschnitte (Chowienczyk et al., 1999; Millasseau et al., 2003; Takazawa et al., 1998). Es wurden Situationen mit erhöhter bzw. verminderter peripherer Pulscurvenreflexion in der Peripherie provoziert und die Veränderungen des Reflective Indexes beobachtet. Eine erhöhte periphere Pulswellenreflexion wurde einerseits durch Vasokonstriktion durch den so genannten Cold-pressure-Test, andererseits durch eine suprasystolisch aufgepumpte Blutdruckmanschette am Unterschenkel erzielt. Eine verminderte periphere Pulswellenreflexion wurde durch Vasodilatation durch sublinguale Gabe des Vasodilatators Glyceroltrinitrat hervorgerufen. Es zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Reflective Indexes als Folge der erhöhten Pulswellenreflexion in der Peripherie sowie ein signifikanter Abfall des Reflective Indexes als Folge verminderter Pulswellenreflexion in der Peripherie. Diese Ergebnisse stimmen mit den Beobachtungen von Chowienczyk et al. (1999) und Takazawa et al. (1998) überein, die ebenfalls die Veränderung der Pulswelle unter Einfluss vasoaktiver Substanzen photoplethysmographisch untersuchten. Chowienczyk et al. (1999) zeigten eine Verminderung der Pulswellenreflexion in der Peripherie nach systemischer Gabe von Glyceroltrinitrat sowie eine Erhöhung der Pulswellenreflexion in der Peripherie nach Anlage einer suprasystolisch aufgepumpten Blutdruckmanschette am Unterschenkel. Takazawa et al. (1998) zeigten ebenfalls eine Verminderung der Pulswellenreflexion in der Peripherie nach systemischer Gabe von Glyceroltrinitrat sowie eine Erhöhung der Pulswellenreflexion in der Peripherie nach systemischer Gabe von Angiotensin II. Im Folgenden können diese Ergebnisse zur Interpretation der Veränderungen der Reflective Indizes bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz angewandt werden.

Die digitale, photoplethysmographische Untersuchung an 20 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zeigte in der vorliegenden Arbeit eine zeitabhängige Veränderung des Reflective Indexes über den Verlauf einer vierstündigen Hämodialysebehandlung. Bei 15 der 20 in die Untersuchung eingeschlossenen Patienten zeigte sich ein signifikanter Anstieg des Reflective Indexes in der zweiten Hälfte der Hämodialyse von 36 ± 3 auf 41 ± 3 (arbiträre Einheit). Klinisch relevante Blutdruckabfälle wurden während der Untersuchungen nicht beobachtet. Im Einklang mit den Ergebnissen aus der Untersuchung gesunder Probanden stellt dieser Anstieg des Reflective Indexes in der zweiten Hälfte der Hämodialyse einen Vorgang von Vasokonstriktion mit erhöhter

Pulskurvenreflexion in der Peripherie dar. Die Vasokonstriktion ist als kompensatorischer Mechanismus zu verstehen, der dem zunehmenden Volumenverlust über den Verlauf der Hämodialysebehandlung entgegenwirkt (Ligtenberg, 1999). Zu diesen Kompensationsmechanismen gehört neben der beschriebenen arteriellen Vasokonstriktion auch eine Verminderung des Blutvolumens in den venösen Kapazitätsgefäßen, um den für eine adäquate Ejektionsfraktion erforderlichen Rückfluss zum Herzen zu gewährleisten, sowie die Erhöhung von kardialer Inotropie und Chronotropie (Daugirdas, 1991). Die Tatsache, dass nicht alle 20 untersuchten Patienten mit einem Anstieg des Reflective Indexes über den Verlauf der Hämodialyse reagierten, ist mit einem individuell unterschiedlichen Ungleichgewicht zwischen den drei genannten Kompensationsmechanismen zu erklären (Calvacanti et al., 2002), wovon nur die vasokonstriktorische Komponente direkt photoplethysmographisch dargestellt werden kann.

Signifikante Zusammenhänge von Herzfrequenz, Blutdruck, Pulsdruck (Pulse pressure) oder Ultrafiltrationsrate mit den Veränderungen des Reflective Indexes über den Verlauf der Hämodialyse konnten nicht nachgewiesen werden.

Durch das neue Verfahren zur Ermittlung der Pulscurve während der Hämodialyse mittels nicht-invasiver digitaler Photoplethysmographie und dem Reflective Index als ein Maß für den Gefäßtonus können Veränderungen reflektiver Gefäßeigenschaften bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz während einer Hämodialyse ohne Beeinträchtigung des Patienten oder der Hämodialysebehandlung genau dokumentiert und Rückschlüsse auf individuelle Veränderungen der Hämodynamik gemacht werden.

4.2 Endothelfunktion

Das Endothel gilt als hochaktives und hochdifferenziertes Stoffwechselorgan. Es bildet unter anderem vasoaktive Substanzen und wachstumsregulierende Faktoren, spielt bei der Regulation des Gefäßtonus eine Rolle, beeinflusst die Fließeigenschaft des Blutes mit, hat Barrierefunktion und metabolische Aufgaben. Eine Störung dieser Endothelfunktionen bezeichnet man als endotheliale Dysfunktion. Die endotheliale Dysfunktion gilt als frühfunktionelles, noch reversibles Symptom der Arteriosklerose (Kelm et al., 1999) und als prognostischer Marker für die Entwicklung kardiovaskulärer

Erkrankungen (Bonetti et al., 2003; Corerretti et al., 2002). Bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz finden sich überdurchschnittlich häufig Risikofaktoren, die zur Entstehung arteriosklerotischer Gefäßveränderungen beitragen (London et al., 2005). Hierzu zählen unter anderem die Akkumulation verschiedener Urämietoxine und die gehäufte Komorbidität mit traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren. Das rechtzeitige Erkennen der endothelialen Dysfunktion ist für ein erfolgreiches therapeutisches Vorgehen zur Minimierung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität von großer Wichtigkeit (Bonetti et al., 2003).

Als ein Maß für die Güte der Endothelfunktion gilt die endotheliale Vasodilatation, die unter anderem durch Scherkräfte hervorgerufen werden kann (Moens et al., 2005). Die verbreitetste nicht-invasive Methode, endotheliale Vasodilatation zu provozieren, ist der Test der reaktiven Hyperämie, der erstmals mit dieser Intention von Celermajer et al. (1992) angewandt wurde. Durch das Zusammenspiel einer Vielzahl vasoaktiver Mediatoren in Folge der lokalen Ischämie, bei denen die Erhöhung des endothelialen NO-Spiegels eine Hauptrolle spielt, entsteht Vasodilatation. Diese kann photoplethysmographisch dargestellt werden. Nach fünfminütiger Unterbindung des arteriellen Blutflusses im Oberarm und anschließendem Lösen des Staus, kommt es zunächst zu einem initialen Anstieg des Reflective Indexes, dem ein Abfall der Werte unter die Ausgangswerte vor Kompression folgt. Je ausgeprägter dieser Abfall des Reflective Indexes, desto stärker die endotheliale Vasodilatation, desto besser die Endothelfunktion. Bereits Bonetti et al. (2004) berichteten eine verminderte flussabhängige Vasodilatation in Folge reaktiver Hyperämie-Testung bei Patienten mit bekannter koronarer Herzerkrankung als Zeichen der endothelialen Dysfunktion. Nakanishi et al. (2002) beschrieben dasselbe bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

In der vorliegenden Arbeit wurde derart die Endothelfunktion von 20 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu Beginn und am Ende der Hämodialyse getestet. Zu Beginn der Hämodialyse ergab sich kein signifikanter, nur mäßiger Abfall des Reflective Indexes von $100 \pm 6\%$ vor der Stauung des Blutflusses auf $99 \pm 6\%$ nach der Stauung des Blutflusses, was mit den Befunden einer gestörten endothelialen Funktion von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz von Nakanishi et al. (2002) übereinstimmt.

Am Ende der Hämodialysebehandlung dagegen fiel der Reflective Index von $100 \pm 6\%$ vor der Stauung des Blutflusses auf $87 \pm 7\%$ nach der Stauung des Blutflusses signifikant ab. In Folge des Vorganges der Hämodialyse zeigte sich also eine Verbesserung der endothelialen Funktion gegenüber der endothelialen Funktion am Start der Dialyse. Diese Erkenntnisse stimmen mit den Ergebnissen anderer Arbeitsgruppen überein, die zeigten, dass der Vorgang der Hämodialyse die Endothelfunktion von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz verbessert (Chan et al., 2005; Hand et al., 1998; Scholze et al., 2004). Studien, in denen das Gegenteil – also eine Verschlechterung der Endothelfunktion während der Hämodialyse – nachgewiesen wurde (Kosch et al., 2003; Miyazaki et al., 2000; Mourad et al., 2004), unterscheiden sich derart, dass sie keine biokompatible Polysulfonmembran sondern eine bioinkompatible Zellulosemembran für den Hämodialysevorgang verwendeten. Eine bioinkompatible Zellulosemembran steht in dem Verdacht, polymorphkernige Leukozyten zu aktivieren und oxidativen Stress während der Hämodialyse zu erhöhen (Lazarus et al., 1994; Schouten et al., 2000), womit die Diskrepanz zu den in der vorliegenden Arbeit ermittelten Beobachtungen – die Verbesserung der Endothelfunktion durch den Vorgang der Hämodialyse bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz – möglicherweise erklärt werden kann.

4.3 Gefäß-protective Eigenschaft von Acetylcystein

Reaktive Sauerstoffradikale sind wie oxidative Metabolite Nebenprodukte verschiedener Stoffwechselforgänge und werden in vielen Zellarten vorgefunden. Übersteigt die Bildung freier Radikale die Kapazität der antioxidativ wirksamen Enzymkomplexe, kommt es zu einem Ungleichgewicht und die physiologisch vorhandene Konzentration reaktiver Metabolite wird überstiegen. Es entsteht *oxidativer Stress* (Himmelfarb et al., 2002).

Oxidativer Stress wird verstärkt bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz beobachtet, wofür unter anderem die Akkumulation und ungenügende Entfernung von Urämietoxinen durch den Vorgang der Hämodialyse wie auch die Verminderung antioxidativ wirksamer Enzymkomplexe verantwortlich gemacht werden (Drai et al., 2001; Durak et al., 1994; Tepel et al., 2000).

Die chemisch schnell und aggressiv wirkenden freien Radikale stören und zerstören wichtige Funktionen und Strukturen im Körper (Irani, 2000) und führen zur Entstehung verschiedener Krankheitsbilder.

Als ein Beispiel stehen sie in Zusammenhang mit der Entstehung von arteriosklerotischen Gefäßveränderungen und der endothelialen Dysfunktion, indem sie unter anderem NO degradieren und so zur Verschlechterung der Endothelfunktion führen (Gordon et al., 2004; Rubanyi et al., 1986). Vaziri et al. zeigten in einer ersten Studie 1998 einen Zusammenhang erhöhter freier Sauerstoffradikale und arteriellem Hypertonus bei Ratten und in einer weiteren Studie 2002 denselben Zusammenhang bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Becker et al. (1997) zeigten den Zusammenhang oxidativen Stresses und erhöhtem kardiovaskulären Risikoprofil für hämodialysepflichtige Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

In verschiedenen Studien konnte gezeigt werden, dass sich eine antioxidative Therapie sowohl bei nierengesunden Patienten als auch bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz günstig auf die Verminderung des kardiovaskulären Morbiditäts- und Mortalitätsrisikos auswirkt. Rimm et al. (1993) beschrieben einen Zusammenhang der Aufnahme hoher Vitamin E-Dosen und der Verminderung kardiovaskulärer Ereignisse bei einer männlichen Probandengruppe. Stephens et al. (1996) bestätigten diese Ergebnisse anhand nierengesunder Probanden. Boaz et al. (2000) zeigten, dass auch Patienten mit dialysepflichtiger Nierenerkrankung, die ein erhöhtes kardiovaskuläres Morbiditäts- und Mortalitätsrisiko aufweisen, von einer hochdosierten Langzeittherapie mit Vitamin E profitieren.

Im Folgenden soll der Effekt von Acetylcystein als weiteres antioxidativ wirksames Medikament diskutiert werden. Acetylcystein ist das synthetisierte Derivat einer Aminosäure, dem L-Cystein. Es ist eine Sulfhydrylverbindung mit reduktiver Wirksamkeit und spielt eine Rolle bei der Reduktion reaktiver Sauerstoffradikale und oxidativer Metabolite, wirkt also oxidativem Stress entgegen, der wiederholt als bedeutender Risikofaktor bei der Entstehung kardiovaskulärer Erkrankungen bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz beschrieben wurde.

In der hier vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass die gleichzeitige Gabe von Acetylcystein während der Hämodialyse die zuvor in der Placebo-Gruppe beobachteten reflektiven Gefäßeigenschaften beeinflusst. Der unter Kontrollbedingungen, also in

Abwesenheit von Acetylcystein, ermittelte Anstieg des Reflective Indexes im letzten Abschnitt der Dialyse fiel signifikant stärker aus (von 36 ± 3 auf 41 ± 3 arbiträre Einheit) als in Anwesenheit von Acetylcystein (von 34 ± 2 auf 36 ± 2 arbiträre Einheit).

Andrews et al. (2001) zeigten anhand einer nierengesunden Probandengruppe mit bekannten arteriosklerotischen Gefäßveränderungen eine Verbesserung der endothelialen Funktion unter Acetylcysteinmedikation.

Auch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit zeigen, dass der Effekt der Verbesserung der endothelialen Funktion durch den Vorgang der Hämodialyse per se, also in der Kontrollgruppe ohne Acetylcysteinmedikation, durch die intravenöse Verabreichung von Acetylcystein während der Hämodialyse noch verstärkt werden kann. Die endotheliale Reaktion auf die fünfminütige Stauung des Blutflusses im Arm kontralateral zum Shuntarm zeigte nach Acetylcysteinmedikation einen ausgeprägteren und signifikanteren Abfall des Reflective Indexes. Zu Beginn der Hämodialyse fiel der Reflective Index von $100 \pm 6\%$ vor dem Stau auf $99 \pm 6\%$ nach Lösen des Staus und am Ende der Hämodialyse von $100 \pm 5\%$ vor dem Stau auf $85 \pm 6\%$ nach dem Stau. Diese deutlichere Vasodilatation steht für eine Verbesserung der endothelialen Funktion durch intravenöse Acetylcysteinmedikation bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Als Folge dieser Verminderung der endothelialen Dysfunktion ist eine Verbesserung des kardiovaskulären Risikoprofils von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz anzunehmen.

Diesbezüglich zeigten Tepel et al. (2003) eine Verminderung kardiovaskulärer Morbidität durch die orale Gabe von Acetylcystein bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Eine mögliche pathophysiologische Erklärung dieser Ergebnisse lieferten Ivansovski et al. (2005) mit ihrer Darstellung der reduzierten Artherombildung durch Acetylcysteinintervention bei urämischen Mäusen. Sie erklärten diesen protektiven Effekt von Acetylcystein durch Interferenz mit oxidativen Metaboliten. Am Beispiel der Kontrastmittel-induzierten Nephropathie, die den bereits erhöhten Spiegel oxidativer Metabolite nochmals verstärkt, zeigten auch Drager et al. (2004), dass der protektive Effekt von Acetylcystein auf der Reduktion des oxidativen Stresses beruht.

Ein weiterer Ansatzpunkt zur Erklärung der Gefäß-protectiven Eigenschaft von Acetylcystein ist die Verminderung von Plasma-Homocystein durch Acetylcystein. Homocystein gilt als ein Risikofaktor für kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität sowohl bei nierengesunden Patienten (Wald et al., 1998) als auch bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (Moustapha et al., 1998).

Ventura et al. (1999) konnten nachweisen, dass die intravenöse Intervention mit Acetylcystein die Plasma-Homocysteinkonzentration bei einer gesunden Probandengruppe signifikant reduziert. Auch eine Standarddialysetherapie reduziert die Plasma-Homocysteinkonzentration, jedoch nur um 28% (Arnadottir et al., 1999). Scholze et al. (2004) zeigten eine Reduktion der Plasma-Homocysteinkonzentration durch orale Acetylcysteinmedikation während der Hämodialyse um 89%.

Diese Ergebnisse werden durch die vorliegende Arbeit bestätigt. In der Kontrollgruppe ohne Acetylcysteinmedikation fiel die Plasma-Homocysteinkonzentration während der Hämodialyse um 34%, in Anwesenheit von Acetylcystein dagegen um 88%. Als Mechanismus wird einerseits eine schnellere Verdrängung von Homocystein aus der Proteinbindung angenommen. Andererseits erklärt sich die stärkere Senkung des Plasma-Homocysteinspiegels durch die effektivere Entfernung von Urämietoxinen, die als Inhibitoren des Homocystein-Metabolismus wirken.

Scholze et al. (2004) zeigten im Zusammenhang mit der Reduktion der Plasma-Homocysteinkonzentration nach Acetylcysteinmedikation eine Verbesserung der endothelialen Funktion bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Auch die vorliegende Arbeit konnte diese Beobachtungen bestätigen. Die endotheliale Vasodilatation fällt in der Patientengruppe mit Acetylcysteinmedikation stärker aus als in der Kontrollgruppe – gezeigt anhand des ausgeprägteren Abfalls des Reflective Indexes nach Stauung. In dieser Probandengruppe fiel auch die Homocysteinreduktionsrate stärker aus. In Anwesenheit von Acetylcystein konnte eine positive Korrelation nach Spearman zwischen der Homocysteinreduktionsrate und der endothelialen Vasodilatation gefunden werden.

Diese Ergebnisse bestätigen die Annahme, intravenöse Acetylcysteinmedikation verbessere die Endothelfunktion und trage somit zu einer Verringerung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz bei.

4.4 Eigenschaften von Acetylcystein auf molekularer Ebene

Im Folgenden soll der molekulare Effekt von Acetylcystein, der möglicherweise neben der Reduktion oxidativer Metabolite und der Erhöhung der Homocysteinreduktionsrate für die Gefäß-protective Eigenschaft verantwortlich gemacht werden kann, genauer betrachtet werden.

4.4.1 Beeinflussung der Calciumhomöostase

Calcium ist als universeller, intrazellulärer Botenstoff an vielen zellulären Prozessen beteiligt. Zu diesen spezifischen Funktionen gehört unter anderem die Regulation des Gefäßtonus (Parekh et al., 2005). Im Myoplasma der glatten Gefäßmuskelzellen führt Calcium über verschiedene Schritte zur Myosin-Aktin-Interaktion, was zur Verkürzung der Muskelfasern und so zur Kontraktion der glatten Gefäßmuskelzelle beiträgt. In Endothelzellen kommt es durch den Einfluss von Calcium zur Aktivierung der NO-Synthetase, wodurch die Bildung von Stickstoffmonoxid (NO) aus der Aminosäure L-Arginin katalysiert wird (Corretti et al., 2002; Govers et al., 2001). NO wirkt selbst als intrazellulärer Second Messenger und spielt durch Interaktion mit der zytoplasmatische Guanylatcyclase eine wesentliche Rolle bei der Kontrolle des Gefäßtonus. Durch Erhöhung des cGMP-Spiegels und dessen Interaktion mit der cGMP-Kinase wird durch Phosphorylierung der Erhöhung der intrazellulären Calciumionenkonzentration in glatten Gefäßmuskelzellen entgegengewirkt. Der Calcium-abhängige Kontraktionsmechanismus wird verhindert. Es kommt zur NO-abhängigen Vasodilatation (Koeppen et al., 2004).

Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz weisen im Rahmen der renalen Osteopathie unter anderem durch die erhöhte Phosphatretention und den Abfall der Vitamin D-Produktion einen Abfall des ionisierten Calciums auf. Die Hypocalciämie ist ein Faktor, der zum sekundären Hyperparathyreoidismus und so zur ossären Manifestation der renalen Osteopathie führt. Um Knochenschmerz und Frakturgefährdung entgegen zu wirken, wird eine positive Calciumbilanz durch Erhöhung der Calciumionenkonzentration im Dialysat auf 1.75 mmol/l angestrebt. Über den Verlauf der Hämodialyse kommt es so zu einem moderaten Anstieg der Serum-

Calciumionenkonzentration. Änderungen der extrazellulären Calciumionenkonzentration beeinflussen die intrazelluläre Calciumhomöostase und somit die Regulation des Gefäßtonus. Scholze et al. (2005) zeigten, dass hohe Calciumionenkonzentrationen im Dialysat zur Erhöhung des Gefäßtonus und zur Hemmung der SERCA und damit verminderten Calciumionenkonzentration in den intrazellulären Speichern über den Verlauf der Hämodialyse führt. Letzteres ist ursächlich für eine verminderte Thapsigargin-induzierte Calciumionenfreesetzung aus den intrazellulären Speichern am Ende der Hämodialyse.

Diese Befunde konnten in der vorliegenden Arbeit bestätigt werden. Die fluoreszenzspektrophotometrische Untersuchung der Veränderungen der intrazellulären Calciumionenkonzentration über den Verlauf einer Hämodialyse in Abwesenheit von Acetylcystein führte am Beispiel isolierter Monozyten zu demselben Erkenntnis einer verminderten Calciumionenkonzentration in den intrazellulären Speichern anhand der reduzierten Chlortetracyclin-Fluoreszenz am Ende der Hämodialyse sowie anhand der verminderten Thapsigargin-induzierten Calciumspeicherentleerung am Ende der Hämodialyse gegenüber dem Start. Des Weiteren zeigte sich ein geringerer transplasmamembranärer Calciumioneneinstrom am Ende der Hämodialyse gegenüber dem Start.

Die vorliegende Arbeit untersuchte diese Befunde ebenfalls nach intravenöser Acetylcysteinmedikation. In diesem Fall zeigten sich am Ende der Hämodialyse dagegen stärker gefüllte Calciumspeicher anhand höherer Chlortetracyclin-Fluoreszenz und erhöhter Thapsigargin-induzierter Calciumspeicherentleerung sowie ein stärkerer transplasmamembranärer Calciumioneneinstrom.

Auch in vitro bestätigte sich die vermehrte Thapsigargin-induzierte Calciumspeicherentleerung nach Inkubation der isolierten Monozyten mit Acetylcystein.

Diese Befunde lassen darauf schließen, dass ein Mechanismus existiert, über den Acetylcystein die intrazelluläre Calciumhomöostase derart beeinflussen kann, dass unter Acetylcysteinmedikation mehr intrazelluläres Calcium zur Verfügung steht als in der Kontrollgruppe. Geht man davon aus, dass die an Monozyten untersuchten Prozesse auf Endothelzellen übertragen werden können, würde diese Vermehrung der intrazellulären Calciumionenkonzentration durch intravenöse Acetylcysteinmedikation die beobachtete Verbesserung der endothelialen Funktion erklären können.

Um diese Annahme zu klären, wäre eine Untersuchungen der intrazellulären Calciumhomöostase von Hämodialysepatienten unter dem Einfluss von Acetylcystein an Endothelzellen zu bevorzugen. Die Entnahme von Monozyten ist jedoch praktikabler und beliebig oft zu wiederholen. Periphere Blutzellen wurden bereits häufig zur repräsentativen Untersuchung zellulärer Mechanismen und Signalkaskaden bei hypertensiven Patienten und Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz verwendet (Garcandia et al., 1995; Tepel et al., 1998).

4.4.2 Beeinflussung der Expression von TRPC-Kanälen

TRPC-Kanäle sind Calcium-permeable Ionenkanäle mit ubiquitärem Verteilungsmuster (Inoue, 2005). Sie spielen eine wichtige Rolle beim Calciumioneneinstrom unter anderem in Endothel- und glatten Gefäßmuskelzellen und sind so mitverantwortlich für die Regulation des Gefäßtonus und des Blutdrucks (Clapham et al., 2003; Minke et al., 2002; Montell et al., 2002). Diesbezüglich beschrieben Liu et al. (2005) eine erhöhte Expression von TRPC3-Proteinen in Monozyten von hypertensiven Ratten. In diesem Zusammenhang wurde ein erhöhter Calciumioneneinstrom beobachtet. Welsh et al. (2002) zeigten anhand der glatten Gefäßmuskelzellen von Zerebralarterien von Ratten, dass TRPC6 eine zentrale Funktion bei der für die Regulation des Gefäßtonus erforderlichen Depolarisation der glatten Muskelzellen hat. Reading et al. (2005) zeigten für TRPC3 ebenfalls eine Zugehörigkeit zu Ionenkanälen, die für den Ionenfluss zur Regulation des Gefäßtonus in glatten Gefäßmuskelzellen mitverantwortlich sind. Beide Arbeitsgruppen unterstrichen, dass TRPC-Proteine potentielle Angriffspunkte für eine pharmakologische Beeinflussung des Gefäßtonus darstellen.

Auch die vorliegende Arbeit versuchte, die fluoreszenzspektrophotometrisch beobachteten Veränderungen der Calciumionenströme in Anwesenheit von Acetylcystein mit der Beeinflussung von TRPC-Proteinen zu erklären.

Diesbezüglich zeigte sich mittels in-cell Western Assay anhand isolierter Monozyten eine Verminderung der membranären TRPC3-, TRPC5- und TRPC6-Proteineexpression über den Verlauf der Hämodialyse. Diese Verminderung der Expression Calcium-permeabler Ionenkanäle kann den im

Fluoreszenzspektrophotometer nachgewiesenen verminderten Calciumioneneinstrom am Ende der Hämodialyse in der Kontrollgruppe möglicherweise erklären.

Dagegen wirkte die Anwesenheit von Acetylcystein über den Verlauf der Hämodialyse der Abnahme der Kanalexpression entgegen. Da fluoreszenzspektrophotometrisch sogar ein signifikanter Anstieg des Calciumioneneinstroms unter Acetylcysteinmedikation beschrieben wurde, entsteht die Vermutung, dass Acetylcystein nicht nur der Verminderung der membranären Proteinexpression entgegenwirkt, sondern die Kanäle auch aktiviert. Des Weiteren kann ein Zusammenhang zwischen der verminderten Thapsigargin-induzierten Calciumspeicherentleerung am Ende der Hämodialyse und der verminderten Kanalexpression in der Kontrollgruppe sowie der vermehrten Thapsigargin-induzierten Calciumspeicherentleerung am Ende der Hämodialyse und der gleich bleibenden Kanalexpression in Anwesenheit von Acetylcystein angenommen werden. Möglicherweise sind diese letzten Befunde über den noch wenig aufgeklärten Mechanismus der Speicher-gesteuerten Ionenkanäle zu erklären.

4.5 Ausblick

Seit gezeigt worden ist, dass der Schweregrad der endothelialen Dysfunktion prognostische Aussagekraft bezüglich des kardiovaskulären Risikoprofils besitzt und die Korrektur dieser endothelialen Dysfunktion mit einer Reduktion des kardiovaskulären Risikos einhergeht, hat der Versuch der Verbesserung der Endothelfunktion eine wichtige Bedeutung erlangt (Endemann et al., 2004). Die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit befürworten einen Einsatz digitaler nicht-invasiver Photoplethysmographie zur Überwachung und Aufzeichnung der endothelialen Funktion als Standardverfahren im Rahmen der Verbesserung des kardiovaskulären Risikoprofils von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

Eine Verbesserung der Endothelfunktion bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz konnte in der vorliegenden Arbeit durch intravenöse Acetylcysteinmedikation während einer vierstündigen Hämodialyse erzielt werden. In vorherigen Studien konnte ebenfalls von einer Senkung der kardiovaskulären Morbidität und Mortalität von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz durch Acetylcystein berichtet werden (Ivanovski et al., 2005; Tepel et al., 2003). Möglicherweise entsteht dieser protektive Effekt von

Acetylcystein durch direkte Interaktion mit der Zelle auf molekularer Ebene. Diesbezüglich verlässliche Aussagen können gemacht werden, nachdem eine größere Probandengruppe über einen längeren Zeitraum Acetylcysteinmedikation erhalten hat und Langzeitergebnisse bezüglich endothelialer Funktion, Häufigkeit und Überlebenswahrscheinlichkeit kardiovaskulärer Ereignisse sowie der Mortalität von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz im Allgemeinen ausgewertet wurden. Zu untersuchen wäre auch der Effekt oraler Medikation versus intravenöser Acetylcysteingabe wie auch die Veränderung des Zeitpunktes der Applikation während der Hämodialysebehandlung versus im dialysefreien Intervall. Ferner ist die weitere Aufklärung der Acetylcysteinwirkung auf molekularer Ebene an Endothel- bzw. glatten Muskelzellen erforderlich.