

2. Material und Methoden

2.1 Datenerhebung

In der vorliegenden Arbeit wurden Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und gesunde Kontrollpersonen beobachtet.

Eingeschlossen wurden Patienten >18 Jahre alt, Männer wie Frauen mit unterschiedlicher Ätiologie zur Dialysepflicht. Zum Zeitpunkt der Untersuchung waren die Patienten sowie die Kontrollpersonen fieberfrei und hatten keine zusätzlichen Erkrankungen (z.B. Infekt). In die Studie wurden 24 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz (17 Männer und 7 Frauen) aufgenommen, die sich regelmäßig 3 x wöchentlich einer Hämodialyse unterzogen. Die Dauer der einzelnen Hämodialysen lag jeweils bei 4 Stunden. Genutzt wurde ein Kapillardialysator mit einer biokompatiblen Polysulfonmembran (F8, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland). Die Puffersubstanz im Dialysat war Bikarbonat.

Die Charakterisierung der dialysepflichtigen Patienten erfolgte anhand eines Erhebungsbogens, der vom Untersucher ausgefüllt wurde und die folgenden Daten erfasste: Alter, Geschlecht, Körpergröße in Metern (m), Körpergewicht in Kilogramm (kg), Body Mass Index in Kilogramm pro Quadratmeter Körperoberfläche (kg/m^2), Alkohol, Nikotinkonsum, Dialysedauer in Monaten, Dialyse Dosis (kt/V), biochemische Parameter, Vitalparameter (systolischer und diastolischer Blutdruck), Art der Nierenerkrankung, kardiovaskuläre Erkrankungen wie Myokardinfarkt, Koronare Herzkrankheit (KHK) mit der Notwendigkeit einer Koronargefäßangioplastie oder einer koronaren Bypass-Operation und periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK) mit Amputation oder der Notwendigkeit einer Angioplastie. Der Myokardinfarkt war definiert durch das Vorhandensein von wenigstens 2 der folgenden Kriterien: Brustschmerz von typischer Dauer und Lokalisation, Anstieg der Herzenzymkonzentration auf mindestens das Doppelte vom Normalwert, Veränderungen im EKG.

Die periphere arterielle Verschlusskrankheit war definiert als die Notwendigkeit einer Amputation infolge einer Ischämie oder der symptomatischen peripheren Gefäßerkrankung mit der Notwendigkeit einer Angioplastie.

Während einer Hämodialyse sollte die Pulskurve erfasst und aufgezeichnet werden. Die Endothel-abhängige Vasodilatation wurde mittels eines Stautests zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie gemessen. Die Anlage des Messgerätes und der Blutdruckmanschette erfolgte bei den Patienten vor Beginn der Hämodialyse. Ein am dritten Finger lokalisierter Sensor übermittelte die Daten zum Messgerät. Das Messgerät und die Blutdruckmanschette wurden dabei am kontralateralen Arm zum Shuntarm anbracht.

Die Blutdruckmanschette wurde am Oberarm oberhalb der Ellenbeuge platziert und zügig auf 240 mmHg aufgepumpt. Nach fünf Minuten erfolgte die Staulösung.

Die grundlegenden Eigenschaften und Merkmale der digitalen Photoplethysmographie wurden bei 16 gesunden Probanden (8 Männer und 8 Frauen) untersucht. Es wurde ebenfalls ein Stautest zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie durchgeführt. Die durch die digitale Photoplethysmographie aufgezeichnete Pulskurve konnte anschließend zur Charakterisierung einer Endothel-abhängigen Vasodilatation analysiert werden. Zusätzlich wurde ein standardisierter Eiswassertest oder die Endothel-unabhängige Vasodilatation durch sublinguale Aufnahme von 0,4 mg Glyceroltrinitrat (Pohl-Boskamp, Hohenlockstedt, Deutschland) durchgeführt. Die Messung, Aufzeichnung und Analyse der durch die digitale Photoplethysmographie erhaltenen Pulskurve erfolgte hier ebenfalls.

Für den Stautest zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie bekamen die Probanden das Messgerät mit dem Sensor und die Blutdruckmanschette auf einer Armseite angelegt. Die Aufzeichnung der Pulskurve erfolgte während des gesamten Versuches. Für die Auswertung war der Wert vor Stau und nach Staulösung entscheidend.

Der Aufbau der Messgeräte und die Lokalisation der Blutdruckmanschette beim standardisierten Eiswassertest entsprach dem Aufbau wie beim Stautest zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie. Aus versuchstechnischen Gründen musste die kontralaterale Hand zum digitalen Photoplethysmographen über fünf Minuten in Eiswasser gehalten

werden. Die Aufzeichnung der Pulskrve erfolgte während des gesamten Versuches. Für die Auswertung war der Wert vor und nach dem Eiswasserkontakt entscheidend.

Durch die sublinguale Aufnahme von 0,4 mg Glyceroltrinitrat (NTG) bei den gesunden Probanden sollte die Endothel-unabhängige Vasodilatation überprüft werden. Die Pulskurvenmessungen erfolgten nach dem gleichen Prinzip wie bei dem Stautest zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie. Für die Auswertung war der Wert vor und nach Glyceroltrinitratgabe entscheidend.

Weiterhin bekamen gesunde Probanden zwei synchronisierte digitale Photoplethysmographie Messgeräte angelegt, um eine simultane Messung an beiden Armen durchführen zu können. Auch hier wurden die Pulskurven kontinuierlich aufgezeichnet. Später wurden die Daten vom ipsilateralen Arm mit dem Stautest zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie und die Daten vom kontralateralen Arm ohne Stautest zur Erzeugung einer reaktiven Hyperämie miteinander verglichen. Der Stautest wurde nach den bereits oben erwähnten Kriterien durchgeführt.

Die Kontrollpersonen hatten für wenigstens sechs Stunden vor den Messungen weder Medikamente noch Koffein, fettreiche Nahrung oder Nikotin aufgenommen. Die Untersuchungen wurden in einem ruhigen, klimatisierten Raum durchgeführt. Die Versuchspersonen befanden sich in bequemer Rückenlage. Nach einer Verweildauer von 30 Minuten in Rückenlage begannen die Messungen

2.2 Probandencharakterisierung

In die vorliegende Arbeit wurden Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz und gesunde Kontrollpersonen eingeschlossen. Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin genehmigt. Alle Patienten und gesunde Probanden waren zustimmungsfähig und gaben nach eingehender Aufklärung eine schriftliche Einverständniserklärung ab.

Die klinischen Parameter der 24 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz sind in **Tabelle 1** dargestellt. Berücksichtigt wurden das Alter, das Geschlecht, Körpergröße, Körpergewicht und der Body Mass Index der Patienten. Weiterhin zählten die Anamnese für kardiovaskuläre Vorerkrankungen, die Art der Nierenerkrankung, die

Anzahl der Dialysemonate sowie die Dialyse-Dosis (Kt/V) und die Harnstoffreduktionsrate. Die Dialysepflicht der Patienten bestand im Mittel 18 ± 5 Monate (Mittelwert \pm SEM) und das Patientenalter lag bei 67 ± 2 Jahre. Bei 5 Patienten fand sich anamnestisch eine Koronare Herzkrankheit (KHK), bei 4 eine periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK). Bei 9 von 24 Patienten war die diabetische Nephropathie Ursache der terminalen Niereninsuffizienz. In 3 Fällen fand sich eine Nephrosklerose, in 3 Fällen eine Glomerulonephritis, in 5 Fällen Zystennieren und bei 4 Fällen war die Grunderkrankung, die zur terminalen Niereninsuffizienz führte, nicht bekannt.

Tabelle 1: Klinische Parameter der 24 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Kontinuierliche Daten sind als Mittelwert \pm SEM angegeben. Die Angabe der Nierenerkrankungen erfolgte zum einen als Absolutangabe (n) und zum anderen als Prozentangabe (%).

Parameter	
Alter (Jahren)	67 ± 2
Männer / Frauen (n/n)	17 / 7
Körpergröße (m)	$1,70 \pm 0,02$
Körpergewicht (kg)	$69,2 \pm 2,6$
Body Mass Index (kg/m ²)	$24,39 \pm 0,82$
Raucher	2
Diabetische Nephropathie n (%)	9 (38%)
Nephrosklerose n (%)	3 (12%)
Glomerulonephritis n (%)	3 (12%)
Zystennieren n (%)	5 (21%)
Andere/unbekannt n (%)	4 (17%)
KHK (n)	5
pAVK (n)	4
Dialysedauer (Monate)	18 ± 5
Dialyse Dosis (Kt/V)	$0,82 \pm 0,11$
Harnstoff-Reduktionsrate in (%)	$53,36 \pm 0,05$

Die Dialyse-Dosis (Kt/V), das heißt der von Harnstoff gereinigte Plasmaanteil, geteilt durch das Harnstoffverteilungsvolumen, wurde mit folgender Formel aus der prä- und postdialytischen Harnstoffkonzentration berechnet:

$$Kt/V = -\ln [(R-0,008t)+(4-3,5xR)] \times UF/W.$$

Hierbei ist t = die Dialysezeit in Stunden, R = Harnstoff nach/Harnstoff vor Dialyse; UF =Ultrafiltrationsrate, das heißt das Volumen (in Litern), welches während der Dialyse entfernt wurde; W= Patientengewicht (in kg) nach der Dialyse (Daugirdas et al., 1993).

Das Körpergewicht lag nach der Hämodialyse bei $67,9 \pm 2,6$ kg.

Der systolische, diastolische und mittlere Blutdruck sowie Pulsdruck und Herzfrequenz wurden vor Beginn und nach Abschluß der Hämodialyse (HD) ermittelt.

Die gemessenen bzw. berechneten Werte sind in der **Tabelle 2** dargestellt.

Tabelle 2: Blutdruckwerte der 24 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz vor und nach Hämodialyse. Die Daten sind als Mittelwert \pm SEM angegeben.

Parameter	Vor HD	Nach HD
Systolischer Blutdruck (mmHg)	139 ± 6	148 ± 6
Diastolischer Blutdruck (mmHg)	77 ± 3	78 ± 2
Mittlerer Blutdruck (mmHg)	96 ± 4	101 ± 3
Pulsdruck (mmHg)	63 ± 4	70 ± 5
Herzfrequenz (/min)	77 ± 3	80 ± 3

Die biochemischen Messgrößen wie Erythrozyten, Leukozyten, Hämoglobin, Thrombozyten, Gesamteiweiß, Harnsäure, Kreatinin, Harnstoff, Natrium, Kalium, Calcium und Phosphat wurden routinemäßig vor und nach der Hämodialyse bestimmt und sind in **Tabelle 3** wiedergegeben.

Tabelle 3: Darstellung der biochemischen Parameter der 24 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Kontinuierliche Daten sind als Mittelwert \pm SEM angegeben.

Parameter	Vor HD
Erythrozyten (/pL)	$3,4 \pm 0,2$
Leukozyten (/nL)	$13,4 \pm 3,6$
Hämoglobin (g/dL)	$9,6 \pm 0,3$
Thrombozyten (/nL)	258 ± 20
Gesamteiweiß (g/L)	$64,1 \pm 1,5$
Harnsäure (μ mol/L)	$383,6 \pm 31,6$
Kreatinin (μ mol/L)	668 ± 80
Harnstoff (mmol/L)	$26,1 \pm 2,7$
Natrium (mmol/L)	$135,0 \pm 0,6$
Kalium (mmol/L)	$4,9 \pm 0,2$
Calcium (mmol/L)	$2,24 \pm 0,05$
Phosphat (mmol/L)	$1,85 \pm 0,22$

Die Vergleichsgruppe der 16 gesunden Probanden bestand aus 8 Männern und 8 Frauen. Sie waren im Mittel 30 ± 1 Jahre alt, die Körpergröße lag bei $1,75 \pm 0,03$ m, das Gewicht lag bei $71,3 \pm 3,1$ kg und der Body Mass Index lag bei $22,99 \pm 0,42$ kg/m². Die Ausgangswerte für den systolischen und diastolischen Blutdruck lagen bei 117 ± 5 mmHg und 67 ± 3 mmHg, der mittlere Blutdruck lag bei 83 ± 3 mmHg und der Pulsdruck bei 51 ± 5 mmHg. Die Herzfrequenz wurde mit 61 ± 1 pro Minute ermittelt.

2.3 Digitale Photoplethysmographie

Die digitale Photoplethysmographie erfolgte mittels eines Pulsoxymeters Vitaguard VG3000 Monitors (getemed, Teltow Deutschland) mit einem Sensor (LNOP-Adt SpO2 sensor; Masimo Corporation, CA, USA), welcher am dritten Finger der kontralateralen Hand zum Dialysezugang angebracht wurde (**Abbildung 2**). Die Aufzeichnung der durch die digitale Photoplethysmographie erhaltenen Pulskurve erfolgte durch Infrarotlicht-Messung am Fingerweichteilgewebe (Goldman et al., 2000). Im Vergleich zu anderen hämodynamischen Messmethoden ist die digitale Photoplethysmographie günstiger, da eine kontinuierliche Messung der Pulskurve unter der Hämodialyse möglich ist (**Abbildung 3**). Eine Beeinflussung bzw. Beeinträchtigung der Hämodialyse oder des Wohlbefindens der Patienten findet nicht statt.

Diese Messmethode ermöglicht die Registrierung und Aufzeichnung der digitalen Pulskurve, welche, wie in der Literatur (Millasseau et al., 2003) beschrieben, aus zwei Anteilen besteht.

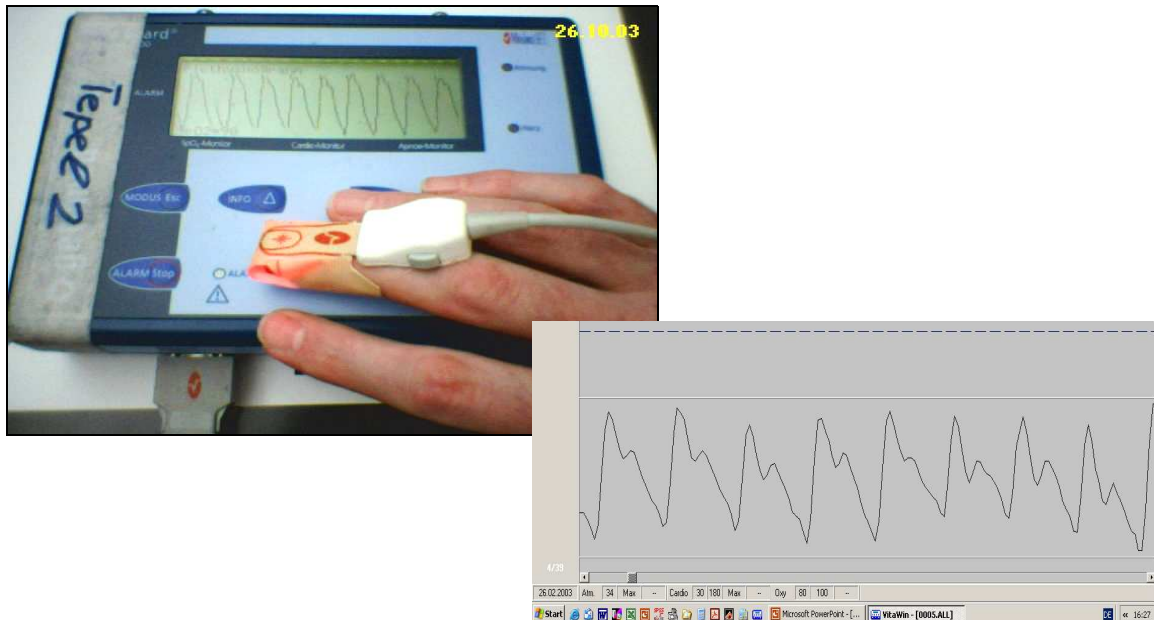


Abbildung 2. Digitale Photoplethysmographie zur Analyse der Pulskurve. Pulsoxymeter angebracht am dritten Finger einer Versuchsperson (**linke Abbildung**) und Darstellung der eingelesenen Daten (**rechte Abbildung**).

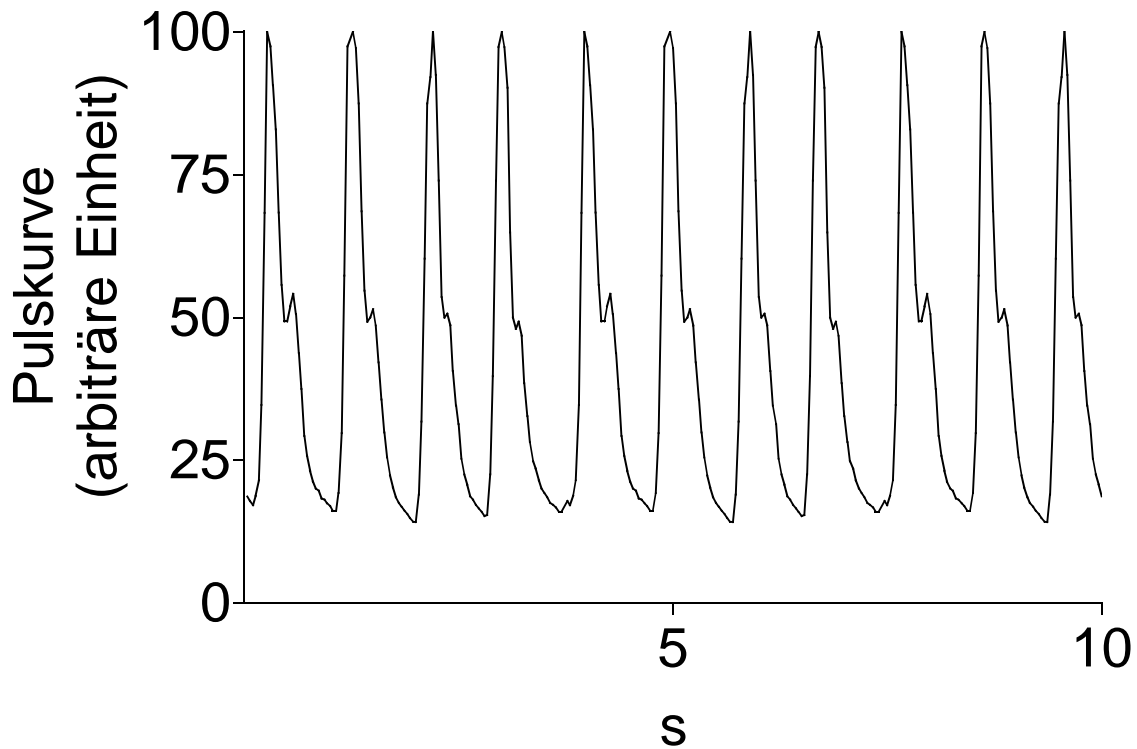


Abbildung 3. Beispiel für kontinuierliches Monitoring der Pulskurve mittels digitaler Photoplethysmographie. Darstellung der aufgezeichneten Pulskurven gemessen für den Zeitraum von 10s.

Der erste Gipfel entsteht durch die voranschreitende Pulswelle nach Verlassen des Herzens und gibt damit den systolischen Anteil des Volumenpulses wieder. Der folgende zweite Gipfel (diastolischer Anteil) beinhaltet die Reflexion der Pulswelle in der Peripherie, aufgrund von Gefäßverzweigungen, Änderungen des Gefäßquerschnitts (z.B. Stenosen), der Wanddicke oder der Elastizität der Gefäße dar (**Abbildung 4**).

Die Rohdaten der digitalen Photoplethysmographie wurden mit einer Frequenz von 32 pro Sekunde im Messgerät aufgezeichnet, anschließend in einen PC eingelesen und mit Hilfe selbst erstellter Software ausgewertet. Die so gesammelten Daten wurden in Einzelepisoden à 150 Sekunden eingeteilt, wobei sich pro Episode mehr als 120 Herzaktionen fanden, welche für die Analyse gemittelt wurden. Die **Abbildung 4** zeigt den typischen Verlauf einer Pulskurve und beispielhaft die Auswertung einer solchen Kurve. Die eigentliche Pulskurve erhält man durch die Bildung des Kehrwertes der Rohdatenkurve. Diese Pulskurve dient als Berechnungsgrundlage für die erste

Ableitung (f'). Das Minimum in der gebildeten ersten Ableitung (f') entspricht dem Wendepunkt in der ermittelten Pulscurve (Graph Pad prism 3.0, Graph Pad Software, San Diego, CA).

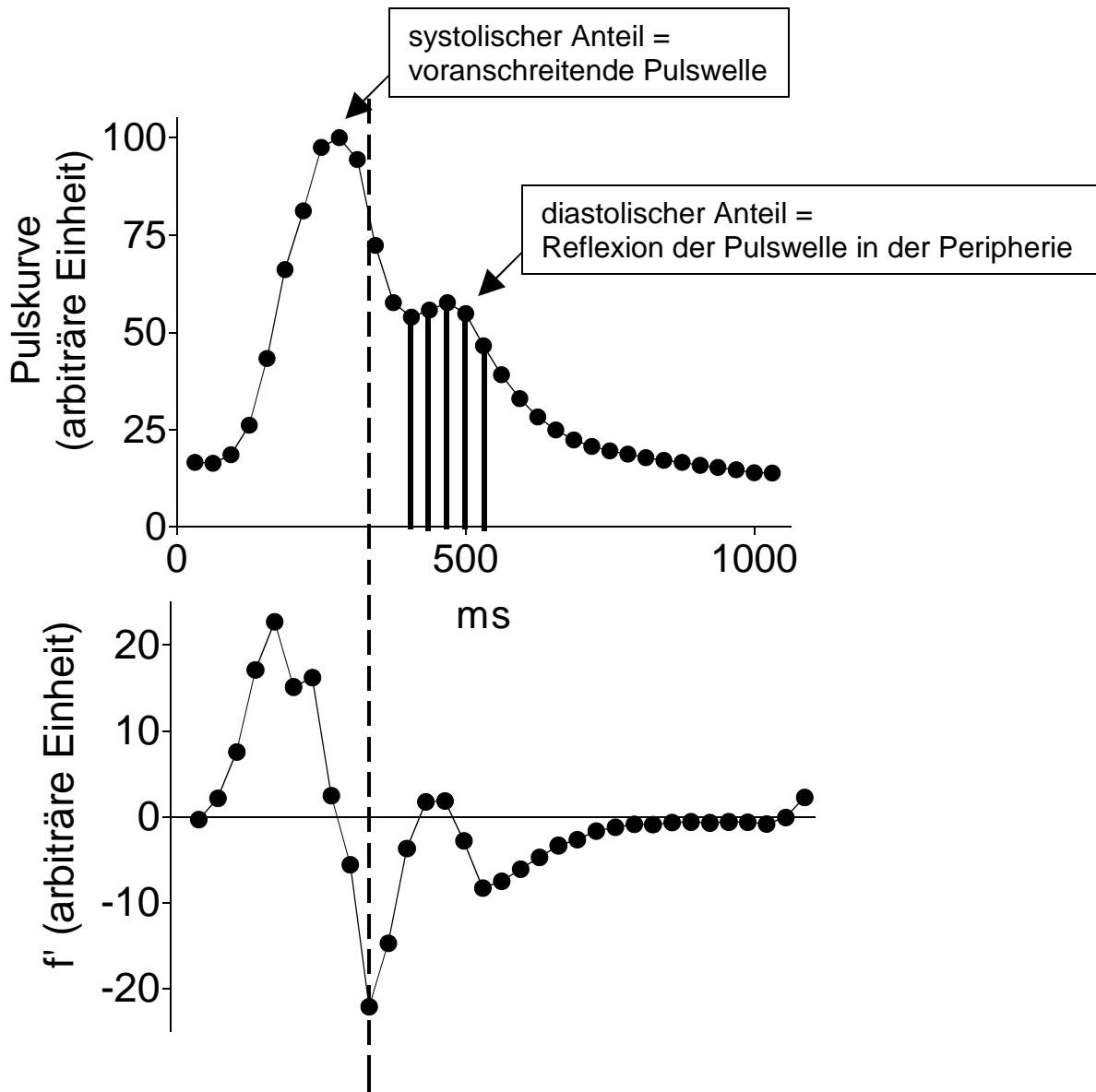


Abbildung 4. Berechnung des Reflective Index. Durch digitale Photoplethysmographie erhaltene Pulscurve (**obere Abbildung**). Bildung der 1. Ableitung (f') der Pulscurve (**untere Abbildung**). Das festgelegte lokale Minimum entspricht dem Wendepunkt in der Pulscurve und ist durch die gestrichelte Linie dargestellt. Die an den Wendepunkt angrenzenden Datenpunkte (**dicke Linien**) wurden ermittelt, ein Mittelwert gebildet und stellen den Reflective Index (RI) dar. Zur Veranschaulichung und zum besseren Verständnis wurden die Anteile der Pulscurve betitelt.

Der an den Wendepunkt angrenzende Gipfel der Pulscurve, bestehend aus den Datenpunkten 3 bis 7 nach dem Wendepunkt, beschreibt die charakteristische „Schulter“ im diastolischen Verlauf der Pulscurve. Der Reflective Index (RI) entspricht genau dieser Schulterregion, die sich im Intervall zwischen 93 Millisekunden (ms) bis 218 ms nach dem Wendepunkt der Pulscurve befindet.

Für die Berechnung des Reflective Index zur Charakterisierung des diastolischen Anteils der Pulscurve wurde von jeder Pulscurve die erste Ableitung berechnet, der Wendepunkt der Pulscurve ermittelt und der Mittelwert aus dem 3. bis 7. Datenpunkt nach diesem Wendepunkt als Reflective Index dargestellt (GraphPad Prism 3.0, GraphPad Software, San Diego, CA). Anschließend wurden die aus den Datenpunkten 3 bis 7 errechneten Mittelwerte analysiert. Die besagte „Schulter“ entsteht durch reflektierte Wellen von peripheren Arterien (O'Rourke et al., 1996). Je starrer die Gefäßwand, desto höher die „Schulter“ der Pulscurve. Bei der Untersuchung zeigte sich diese charakteristische „Schulter“ in allen Pulskurven der gesunden Kontrollgruppe sowie bei allen Dialysepatienten. Der Reflective Index repräsentiert damit eine quantitative Messgröße der reflektierten Wellen für die gesunde Kontrollgruppe sowie auch für die Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

Statistik

Die klinischen und biochemischen Daten sind als Mittelwert \pm SEM angegeben, wenn nicht anders ausgewiesen. Zur Überprüfung der statistischen Signifikanz der Messwerte wurde der nicht-gepaarte nicht-parametrische Mann-Whitney Test und der gepaarte nicht-parametrische Wilcoxon Test verwendet. Hierbei wurde ein $p < 0,05$ als signifikant angesehen.

Der nicht-parametrische Mann-Whitney Test für unabhängige Stichproben ist verteilungsunabhängig. Dieser Test ordnet die Stichprobenwerte in eine gemeinsam aufsteigende Rangfolge.

Der nicht-parametrische Wilcoxon Test gilt für verbundene oder paarige Stichproben. Zu jedem Wertepaar wird die Differenz gebildet. Die Beträge der jeweiligen Differenzen werden nach ansteigender Größe geordnet und einem Rangplatz zugeordnet.

Die statistische Auswertung wurde mit Graph Pad prism 3.0 (GraphPad Software, San Diego, CA) durchgeführt.

Die Reproduzierbarkeit zur Bestimmung des Reflective Index (RI) aus den Pulskurven wurde nach der Methode von Bland-Altman geprüft. Dazu wird die prozentuale Abweichung aus zwei Messungen im Verhältnis zum Mittelwert gegen den Mittelwert aufgetragen. Der Koeffizient der Wiederholbarkeit ist dann das 1,96fache der Standardabweichung der prozentualen Abweichungen.

Für die Korrelationsanalyse wurde der Spearmansche Rangkorrelationskoeffizient r_s berechnet (GraphPad Software, San Diego, CA). Die Korrelationsanalyse dient der Untersuchung des Zusammenhangs zweier gleichberechtigter Merkmale und beschreibt die Stärke des Zusammenhangs.