

5. Zusammenfassung

Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz haben trotz ständig verbesserter Nierenersatztherapieverfahren eine verminderte Überlebenschance gegenüber der Normalbevölkerung. Die jährliche Todesrate liegt bei fast 25%. Zurückzuführen ist diese erhöhte Mortalität vor allem auf kardiovaskuläre Ereignisse, was auf Veränderungen der Gefäßfunktionen einschließlich der Endothelfunktion hinweist. Eine wesentliche Rolle spielt hierbei die Erhöhung des oxidativen Stresses.

In der vorliegenden Arbeit wurden Veränderungen reflektiver Eigenschaften des Gefäßsystems sowie der Endothelfunktion während der Hämodialyse von Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz untersucht.

Dazu wurde die digitale Volumenpulskurve von 20 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz nicht-invasiv mittels Photoplethysmographie über den Verlauf der Hämodialyse aufgezeichnet. Die Pulswelle wurde durch den Reflective Index näher beschrieben. Untersuchungen anhand einer gesunden Probandengruppe ($n=10$, Alter 60 ± 4 Jahre, BMI 25.4 ± 0.9 kg/m², systolischer Blutdruck 123 ± 3 mmHg, diastolischer Blutdruck bei 81 ± 2 mmHg) hatten gezeigt, dass ein Anstieg des Reflective Indexes eine Vasokonstriktion und ein Abfall eine Vasodilatation anzeigen kann.

Die Endothelfunktion wurde durch Veränderungen des Reflective Indexes während reaktiver Hyperämie charakterisiert. Die reaktive Hyperämie wurde durch die Lösung eines kurzzeitigen suprasystolischen Staus mittels Blutdruckmanschette am Oberarm hervorgerufen. Die Messungen wurden jeweils in Abwesenheit und Anwesenheit des antioxidativ wirksamen Acetylcysteins durchgeführt.

Um die direkten Effekte von Acetylcystein auf Zellen zu untersuchen, wurde sein Einfluss auf die intrazelluläre Calciumhomöostase fluoreszenzspektrophotometrisch untersucht. Da ein Großteil des Calciumioneneinstroms in die Zelle über Transient-Receptor-Potential-Kanäle vermittelt wird, wurde die Wirkung von Acetylcystein auf diese Kanäle mittels in-cell Western Assay dargestellt.

In Abwesenheit von Acetylcystein kam es zu einem signifikanten Anstieg des photoplethysmographisch ermittelten Reflective Indexes von 36 ± 3 am Start der Hämodialyse auf 41 ± 3 (arbiträre Einheit) am Ende der Hämodialyse (Mittelwert \pm SEM, $n=20$; $p<0.05$), was auf eine Vasokonstriktion hindeutet. Dagegen zeigte sich in Anwesenheit von Acetylcystein kein signifikanter Unterschied des

Reflective Indexes gemessen am Start und am Ende der Hämodialyse (Mittelwert \pm SEM, 34 ± 2 vs 36 ± 2 ; $n=20$, $p=0.67$).

Im Rahmen der reaktiven Hyperämie kam es im Vergleich zum Wert vor der Stauung zu einem Abfall des Reflective Indexes, gemessen 90 Sekunden nach Lösung des suprasystolischen Staus, was auf eine endothelabhängige Vasodilatation hinweist.

In Abwesenheit von Acetylcystein war diese endothelabhängige Vasodilatation am Ende der Hämodialyse mit einem Abfall des Reflective Indexes um $13 \pm 6\%$ ($p<0.05$) signifikant stärker ausgeprägt im Vergleich zum Start der Hämodialyse mit einem Abfall um $1 \pm 5\%$ ($p=0.71$), was auf eine Verbesserung der Endothelfunktion unter dem Vorgang der Hämodialyse per se hindeutet. Hingegen zeigte sich in Anwesenheit von Acetylcystein eine stärker ausgeprägte endotheliale Vasodilatation am Ende der Hämodialyse mit einem Abfall des Reflective Indexes um $18 \pm 4\%$ ($p<0.01$) im Vergleich zum Start der Hämodialyse mit einem Abfall um $1 \pm 5\%$ ($p=0.71$). Der Einfluss von Acetylcystein verstärkt folglich die Verbesserung der endothelialen Funktion während der Hämodialyse.

Die Bestimmung der Calciumionenkonzentration intrazellulärer Calciumspeicher in Monozyten erfolgte fluoreszenzspektrophotometrisch (arbiträre Einheiten) mit Chlortetracyclin zu Beginn und am Ende der Hämodialyse. Unter der Hämodialyse kam es zu einer signifikanten Entleerung der Calciumspeicher von 0.80 ± 0.01 auf 0.54 ± 0.01 ($n=4$, $p<0.01$). Dagegen kam es in Anwesenheit von Acetylcystein unter der Hämodialyse zu einer signifikanten Füllung der Calciumspeicher von 0.79 ± 0.01 auf 0.85 ± 0.01 ($n=4$, $p<0.01$). Diese Ergebnisse konnten durch fluoreszenzspektrophotometrische Bestimmung der Thapsigargin-induzierten Speicherentleerung in Fura-2-beladenen Monozyten bestätigt werden. In Abwesenheit von Acetylcystein zeigte sich während der Hämodialyse eine signifikante Verminderung der Thapsigargin-induzierte Speicherentleerung von 0.86 ± 0.10 auf 0.74 ± 0.10 ($n=4$, $p<0.01$). Dagegen kam es in Anwesenheit von Acetylcystein während der Hämodialyse zu einer signifikanten Erhöhung der Thapsigargin-induzierten Speicherentleerung von 0.64 ± 0.01 auf 0.82 ± 0.01 ($n=4$, $p<0.01$).

Der ebenfalls fluoreszenzspektrophotometrisch in Fura-2-beladenen Monozyten bestimmte transplasmamembranäre Calciumioneneinstrom fiel von 1.95 ± 0.02 am Start der Hämodialyse signifikant auf 1.39 ± 0.01 am Ende der Hämodialyse ($n=4$, $p<0.01$). Dagegen stieg der transplasmamembranäre Calciumioneneinstrom in Anwesenheit von

Acetylcystein signifikant von 0.71 ± 0.01 am Start der Hämodialyse auf 0.85 ± 0.01 am Ende der Hämodialyse ($n=4$, $p<0.01$).

Im in-cell Western Assay zeigte sich bei der Untersuchung prä- und postdialytisch isolierter Monozyten eine signifikante Verminderung der membranären Expression von TRPC3 auf 62% des Ausgangswertes ($p<0.05$), von TRPC5 auf 74% des Ausgangswertes ($p<0.01$) und von TRPC6 auf 67% des Ausgangswertes ($p<0.01$) während der Hämodialyse. Dagegen war in Anwesenheit von Acetylcystein während der Hämodialyse die membranäre Expression von TRPC3 mit 99%, von TRPC5 mit 93% und von TRPC6 mit 85% vom Ausgangswert nicht signifikant verändert.

Die vorliegende Untersuchung zeigt, dass es bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu einer gesteigerten Vasokonstriktion unter der Hämodialyse kommt, welche durch die gleichzeitige Gabe des antioxidativ wirksamen Acetylcysteins vermindert werden kann. Gleichzeitig wird die Endothelfunktion unter der Hämodialysetherapie gebessert – ein Effekt, der durch die Gabe von Acetylcystein nochmals gesteigert werden kann. Es konnte ebenfalls gezeigt werden, dass diese beschriebenen Wirkungen von Acetylcystein wahrscheinlich durch eine Beeinflussung der Calciumhomöostase und Calcium-permeabler Ionenkanälen mitbedingt werden.