

2. Material und Methoden

2.1. Charakterisierung der 60 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Charité Universitätsmedizin Berlin, Campus Benjamin Franklin, genehmigt und alle Patienten gaben Ihre mündliche und schriftliche Einverständniserklärung ab. In die Studie wurden 60 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz aufgenommen, darunter befanden sich 20 Frauen und 40 Männer, welche sich regelmäßig einer Hämodialysebehandlung unterzogen. Im Mittel betragen die Dialysemonate 24 ± 4 (Mittelwert \pm SEM). Die klinischen und biochemischen Parameter der 60 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz sind in der **Tabelle 1** dargestellt.

Die Ursache der terminalen Niereninsuffizienz war in 21 Fällen eine diabetische Nephropathie, in 7 Fällen eine Nephrosklerose (renale Hypertonie), in 7 Fällen eine Glomerulonephritis, in 11 Fällen Zystennieren und bei 14 Patienten kam es zum Nierenversagen unklarer Genese.

Während der Studie hatten die Patienten kein Fieber oder andere zusätzliche Erkrankungen. Jeder der Patienten musste sich dreimal wöchentlich für vier Stunden einer Hämodialysebehandlung unterziehen. Verwendet wurde eine biokompatible polysulfone Membran (F8, Fresenius Medical Care, Bad Homburg, Deutschland). Das Dialysat enthielt Bikarbonat.

Die Charakterisierung der Patienten beinhaltete die Anamnese für Myokardinfarkt, koronare Herzkrankheit, koronarer Bypassoperation oder der Notwendigkeit einer koronaren Angioplastie, ischämischen Insult, periphere arterielle Verschlusskrankheit mit einer Amputation oder der Notwendigkeit einer Angioplastie. Der Myokardinfarkt wurde definiert durch die Anwesenheit von mindestens zwei der folgenden Kriterien. Einem Brustschmerz von typischer Dauer und Lokalisation, dem Anstieg der Herzenzymkonzentration auf mindestens das Doppelte der Norm sowie Veränderungen im EKG. Die periphere arterielle Verschlusskrankheit wurde definiert als die Notwendigkeit einer Amputation infolge einer Ischämie oder der symptomatischen peripheren Gefäßerkrankung mit der Notwendigkeit einer Angioplastie. In ihrer Vorgeschichte hatten von den 60 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz 30 Patienten eine arteriosklerotisch bedingte Vorerkrankung.

In der nachfolgenden **Tabelle 1** werden die klinischen und biochemischen Parameter der 60 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz aufgezeigt. Berücksichtigt wurden das Alter, Geschlecht, Körpergewicht, Body Mass Index, Genese der Nierenerkrankung, Anzahl der Dialysemonate und das Blutbild.

Tabelle 1: Klinische und biochemische Parameter der 60 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz. Die Angabe der Werte erfolgte als Mittelwert \pm SEM.

Parameter	
Alter (in Jahren)	66 \pm 2
Frauen (n/%)	20 (33%)
Körpergewicht (in kg)	69 \pm 2
Body Mass Index (kg/m ²)	24 \pm 0,6
Nierenerkrankungen	
Diabetische Nephropathie (n/%)	21(35%)
Nephrosklerose (n/%)	7(12%)
Glomerulonephritis (n/%)	7(12%)
Zystennieren (n/%)	11(18%)
andere/unbekannt (n/%)	14(23%)
Dialysedauer (in Monate)	24 \pm 4
Leukozyten (/ μ l)	11.400 \pm 1.800
Erythrozyten (Mill/ μ l)	3,3 \pm 0,1
Hämoglobin (g/dl)	9,8 \pm 0,2
Thrombozyten (1000/ μ l)	230 \pm 13
Serum Kreatinin (μ mol/l)	741 \pm 45
Harnstoff (mmol/l)	26 \pm 2
Harnsäure (μ mol/l)	400 \pm 23
Gesamteiweiß (g/l)	64 \pm 1,2
Serum Kalzium (mmol/l)	2,3 \pm 0,1
Serum Phosphat (mmol/l)	1,9 \pm 0,14

Noch vor Beginn der Hämodialysebehandlung legten wir den niereninsuffizienten Patienten am kontralateralen Arm des Shuntzuganges das digitale Photoplethysmographiegerät an. Die Aufzeichnung erfolgte über die gesamte Hämodialysebehandlung. Mithilfe einer erstellten Computersoftware wurden die erhaltenen Daten im Anschluss ausgewertet und verglichen. In einer Subgruppe von 24 niereninsuffizienten Patienten wurde zu Beginn und am Ende der Hämodialysebehandlung ein Stautest mit anschließender reaktiver Hyperämie durchgeführt.

Die Laborparameter wie Leukozyten, Hämoglobin, Thrombozyten, Kreatinin, Harnstoff, Gesamteiweiß, Kalzium und Phosphat sind routinemäßig bestimmt worden.

2.2. Charakterisierung der gesunden Probandengruppe

Die grundlegenden Eigenschaften und Merkmale der digitalen Photoplethysmographie sind in einer Vergleichsgruppe, bestehend aus 17 gesunden Probanden (9 Männer und 8 Frauen), untersucht worden. Die gesunden Probanden hatten für wenigstens 6 Stunden vor den Messungen weder Medikamente noch Koffein, noch fettreiche Nahrung oder Nikotin zu sich genommen. Die Untersuchungen wurden in einem ruhigen und klimatisierten Raum durchgeführt. Erst nachdem der gesunde Proband für 30 Minuten in Rückenlagerung ruhte, ist mit der Messung begonnen worden. Zur Überprüfung der Durchführbarkeit dieser Methode zur Analyse der Volumen-Puls-Kurven sind bei 11 gesunden Probanden jeweils an 2 aufeinander folgenden Tagen Messungen durchgeführt worden. Um Veränderungen der Volumen-Puls-Kurven mittels der digitalen Photoplethysmographie zu quantifizieren, wurde ein standardisierter Eiswassertest und eine endothelunabhängige Vasodilatation nach sublingualen Aufnahme von 0,4 mg Glyceroltrinitrat durchgeführt. Des weiteren wurde eine endothelabhängige Vasodilatation mittels reaktiver Hyperämie erzeugt, welche eine etablierte Methode zur Untersuchung der Endothelfunktion ist. Die durch die digitale Photoplethysmographie aufgezeichneten

Volumen-Puls-Kurven sind anschließend mittels einer entwickelten Computer-Software analysiert worden.

In der nachfolgenden **Tabelle 2** werden die klinischen Parameter der 17 gesunden Probanden aufgeführt.

Tabelle 2: Klinische Parameter der 17 gesunden Probanden. Die Angabe der Werte erfolgte in Mittelwert \pm SEM.

Parameter	
Alter (in Jahren)	31 \pm 1
Frauen (n/%)	8 (47%)
Körpergewicht (kg)	72 \pm 3
Body Mass Index (kg/m ²)	23 \pm 0,4
Körpergröße (cm)	177 \pm 0

2.3. Digitale Photoplethysmographie

Die **Abbildung 1** zeigt das digitale photoplethysmographische Messverfahren unter Verwendung eines Pulsoximeters (Vitagard VG3000 Monitor, getemed Teltow Germany), einer Leuchtdiode und eines Sensors (LNOP-Adult SpO₂ sensor, Masimo Corporation CA). Die Aufzeichnung der Fingerkuppenpulskurve erfolgte durch eine Infrarotlicht-Messung am Weichteilgewebe des dritten Fingers der kontralateralen Hand zum Dialysezugang (Goldman et al., 2000). Das Blut absorbiert das infrarote Licht stärker als die umliegenden Weichteile. Daraus ist zu schließen, dass gut durchblutetes Gewebe mehr Licht absorbiert. Die mit Hilfe der digitalen Photoplethysmographie kontinuierlich aufgezeichneten Volumen-Puls-Kurven wurden bei gesunden Probanden und Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz analysiert. Im Vergleich zu anderen hämodynamischen Messmethoden beeinträchtigt dieses nicht invasive leicht handhabbare Verfahren die niereninsuffizienten Patienten unter der Hämodialysebehandlung weniger. Somit wäre ein kontinuierliches

hämodynamisches Monitoring während der Hämodialyse-behandlung und während der Nachtruhe möglich.

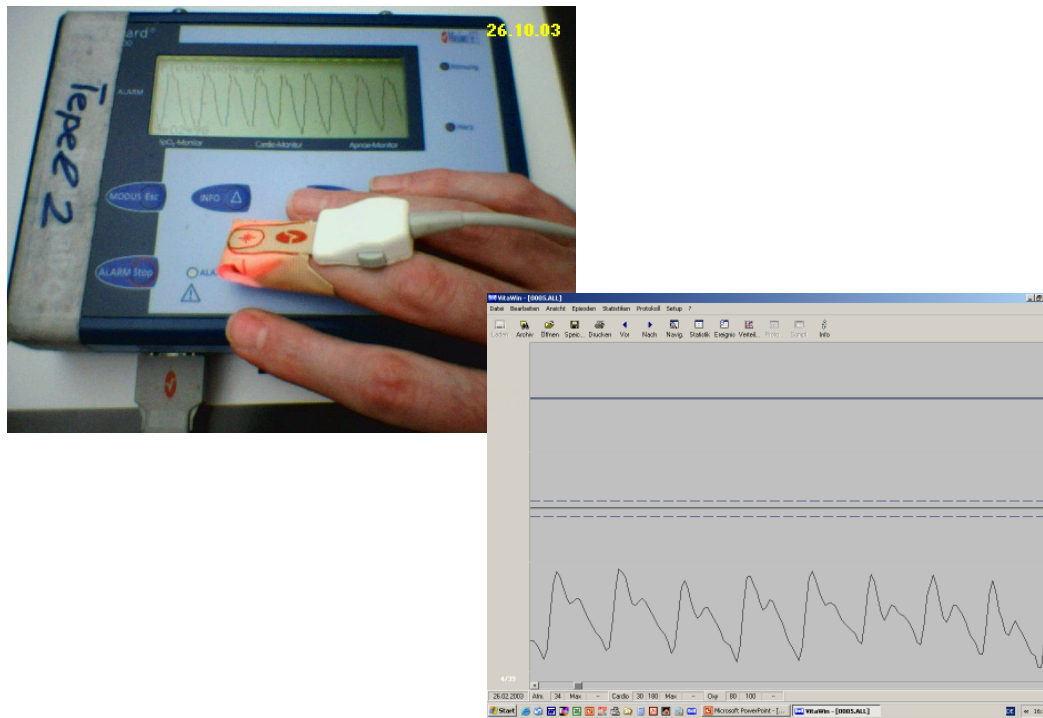


Abbildung 1: Die Abbildung zeigt die Messapparatur dieses nicht invasiven Verfahrens zusammen mit der kontinuierlichen Aufzeichnung der entsprechenden Volumen-Puls-Kurven.

Die Rohdaten wurden mit einer Frequenz von 32 pro Sekunde im Messgerät gespeichert, anschließend in einen Computer eingelesen und mithilfe einer selbst erstellten Software ausgewertet. Für jeden Messpunkt sind die Werte von 10 Schlägen gemittelt worden. Aus den aufgezeichneten Rohdaten wird mittels des Computerprogramms deren Kehrwert ermittelt. Daraus entsteht die entsprechende Volumen-Puls-Kurve und es lassen sich die erste und die zweite Ableitung (GraphPad prism 3.0, GraphPad Software, San Diego, CA) errechnen. Der **T-Index** beschreibt die Anstiegsteilheit der Volumen-Puls-Kurve. Die **Abbildung 2** zeigt eine plethysmographisch aufgezeichnete Volumen-Puls-Kurve, zusammen mit der aus ihr errechneten ersten (1st diff) und zweiten Ableitung (2nd diff). Die mithilfe des statistischen Programms (GraphPad prism 3.0) erhaltene zweite Ableitung

beinhaltet mehrere einzelne Peaks, welche in der **Abbildung 2** dargestellt sind. Eine gezogene Linie beginnt im Maximum der Volumen-Puls-Kurve geht weiter durch den Nullpunkt der ersten und anschließend durch das Minimum der zweiten Ableitung. Eine zweite Linie beginnt im Wendepunkt der Volumen-Puls-Kurve verläuft dann durch das Minimum der ersten Ableitung und kreuzt weiter den Nullpunkt der zweiten Ableitung. Aus der zweiten Ableitung errechnen sich die Indices **a/b** und **a/d**. Der **a/b-Index** stellt den Quotienten vom ersten Peak **a** (erstes Maximum) und dem zweiten Peak **b** (erstes Minimum) dar. Der **a/d-Index** geht aus dem Quotienten des ersten Peaks **a** (erstes Maximum) und dem vierten Peak **d** (zweites Minimum) hervor. Für die Berechnung wurden absolute Werte verwendet. Die initialen a/b- und a/d-Indices sind zu Beginn der Hämodialysebehandlung auf einen Ausgangswert von 100 % festgesetzt worden.

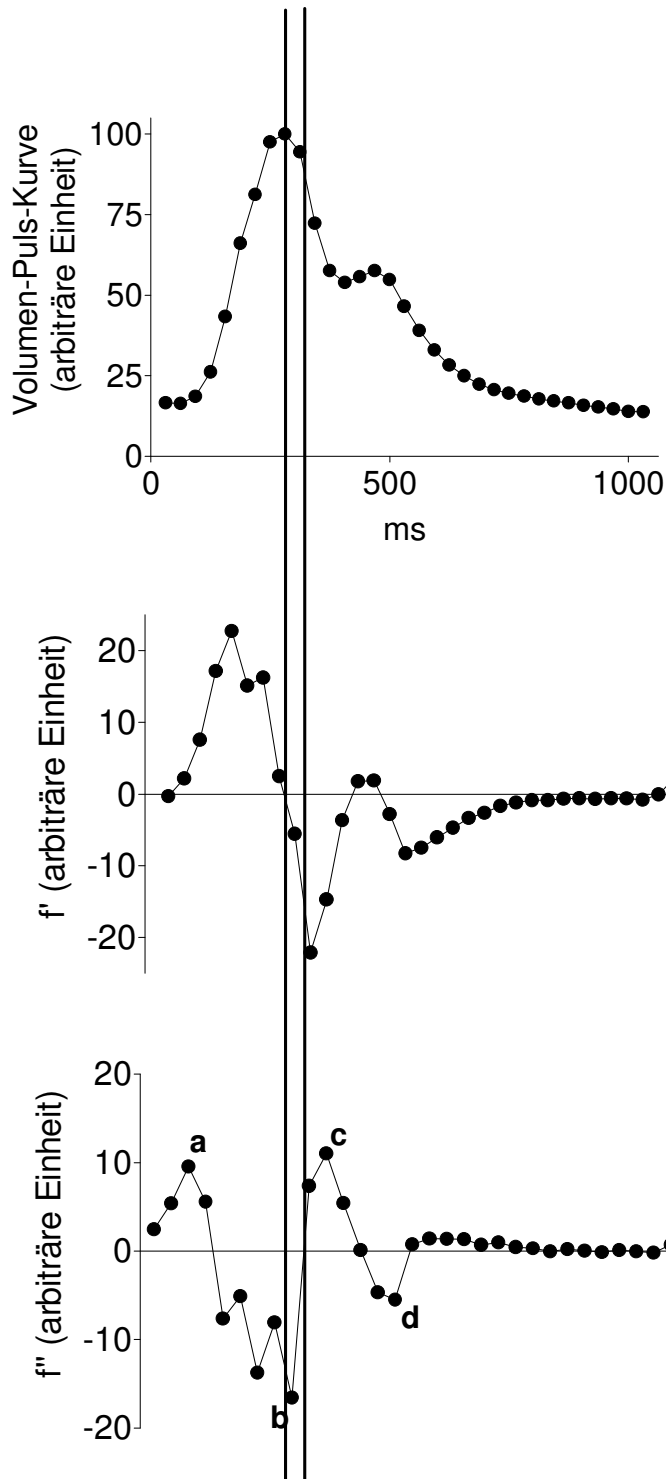


Abbildung 2: Die obere Abbildung zeigt eine durch die digitale Photoplethysmographie aufgezeichnete Volumen-Puls-Kurve. Darunter folgen die entsprechenden Ableitungen (1st diff und 2nd diff). Aus der zweiten Ableitung errechnen sich der **a/b-Index** aus dem Quotienten vom ersten Peak **a** (erstes Maximum) und dem zweiten Peak **b** (erstes Minimum). Der **a/d-Index** geht aus dem Quotienten des ersten Peaks **a** (erstes Maximum) und dem vierten Peak **d** (zweites Minimum) hervor.

Die Versuchsreihe beginnt mit der gesunden Probandengruppe von 17 Personen. Zuerst wurde die endothelabhängige Vasodilatation überprüft. Dieser Messversuch führt zur Auslösung einer reaktiven Hyperämie und stellt eine etablierte Methode zur Untersuchung der Endothelfunktion dar. Mittels der digitalen Photoplethysmographie wurden die Volumen-Puls-Kurven aufgezeichnet und später analysiert. Eine Manschette wurde oberhalb der Ellenbeuge am Oberarm platziert und schnell auf 240 mmHg aufgepumpt. Dies führte zu einer vorübergehenden Ischämie mit der Folge einer konsequenten Erweiterung der flussabwärts gelegenen Widerstandsgefäße über Autoregulationsmechanismen. Nach fünf Minuten wurde die suprasystolische Stauung am Oberarm gelöst. Daraufhin kam es zu einem kurzzeitig vermehrten Blutfluss (= reaktive Hyperämie). Die dementsprechenden Volumen-Puls-Kurven zeichneten wir am ipsilateralen Arm auf und analysierten sie anschließend mittels unserer Computersoftware. Bedingt durch die Veränderung des Reibungswiderstandes und des wechselnden hydrostatischen Druckes kommt es zu einer erhöhten Stickstoffmonoxid (NO)-Freisetzung aus den intakten Gefäßendothelzellen. Es resultierte eine von den intakten Endothelzellen abhängige Vasodilatation. Weiterhin sollte der Verlauf der Volumen-Puls-Kurve nach Gabe von Glyceroltrinitrat betrachtet werden. Die systemische endothelunabhängige Vasodilatation wurde erzeugt mittels Gabe von 0,4 mg Glyceroltrinitrat sublingual. Die digitale Photoplethysmographie zeichnete die Veränderung der Volumen-Puls-Kurve auf. Man beachte, dass aus den exogen zugeführten Nitraten der Metabolit Stickstoffmonoxid (NO) entsteht. Dieser bindet die zytoplasmatische Guanylatcyclyase und bildet vermehrt den Secondmessenger cGMP. Mit Erhöhung der intrazellulären cGMP-Konzentration kommt es durch die Hemmung der intrazellulären Kalziumerhöhung zur Relaxation der glatten Muskulatur. Damit zu einer systemischen Vasodilatation und einer entsprechenden verminderten peripheren Pulsreflexion (Busse, 1987; Griffith et al., 1985; Rapaport & Murad, 1983).

Die Versuchsreihe beinhaltete auch einen standardisierten Eiswassertest. Dabei wurde die kontralaterale Hand für 5 min in Eiswasser gehalten und parallel dazu an der ipsilateralen Hand die Volumen-Puls-Kurven aufgezeichnet. Es folgte eine Vasokonstriktion mit erhöhter peripherer Pulsreflexion.

2.4. Statistik

Mittels des Computerprogrammes GraphPad prism 3.0 (GraphPad prism 3.0, GraphPad Software, San Diego, CA) wurden die ermittelten Daten ausgewertet. Die Daten sind als Mittelwert \pm SEM angegeben. Zum Vergleich der erhaltenen Ergebnisse zwischen den Gruppen wurden der nicht-parametrische Mann-Whitney-Test und der nicht-parametrische Wilcoxon-Test verwendet. Der nicht-parametrische Mann-Whitney-Test für unabhängige Stichproben ist verteilungsunabhängig. Dieser Test ordnet die Stichprobenwerte in eine gemeinsam aufsteigende Rangfolge.

Ein $p < 0,05$ im zweiseitigen Test wurde als ein statistisch signifikanter Unterschied gewertet.

Für die Prüfung der Reproduzierbarkeit bzw. zur Beurteilung eines Zusammenhanges von einzelnen Daten wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman berechnet.