

**Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Medizinische Klinik und Poliklinik D  
-Direktor: Universitätsprofessor Dr. med. K. H. Rahn-**

**Akute Effekte der Hämodialyse  
auf  
funktionelle Gefäßwandeigenschaften**

**INAUGURAL-DISSERTATION  
zur  
Erlangung des doctor medicinae  
der Medizinischen Fakultät  
der Westfälischen Wilhelms-Universität Münster**

**vorgelegt von Andrea Agnes Levers  
aus Vreden  
2003**

**Gedruckt mit der Genehmigung der Medizinischen Fakultät der  
Westfälischen Wilhelms-Universität Münster**

**Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Herbert Jürgens**

- 1. Berichtstatter: Priv.-Doz. Dr. med. Martin Hausberg**
- 2. Berichtstatter: Prof. Dr. med. Rolf Mesters**

**Tag der mündlichen Prüfung: 14.10.2003**

Aus dem Universitätsklinikum Münster  
Medizinische Klinik und Poliklinik D  
-Direktor: Univ.-Prof. Dr. med. K. H. Rahn-  
Referent: Priv.-Doz. Dr. med. M. Hausberg  
Koreferent: Prof. Dr. med. R. Mesters

### **Zusammenfassung**

Akute Effekte der Hämodialyse auf funktionelle Gefäßwandeigenschaften

Andrea Agnes Levers

Tag der mündlichen Prüfung:

Störungen der funktionellen Gefäßwandeigenschaften großer Arterien tragen bei terminal Niereninsuffizienten zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität bei. Es ist nicht bekannt, ob Hämodialyse (HD) per se die mechanischen Gefäßwandeigenschaften oder die Endothelfunktion akut beeinflusst (Untersuchung 1). Einige Daten weisen darauf hin, dass die beeinträchtigte Endothelfunktion durch den oxidativen Stress während des HD-Verfahrens verursacht wird. Um Informationen über die Biokompatibilität einer HD-Membran zu erlangen, wurde die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration bestimmt, welche einen direkten Parameter der HD-induzierten Thrombozytenaktivierung darstellen könnte und vielfältige vasoaktive Eigenschaften aufweist. Um herauszufinden, ob verschiedene Hämodialyse-Membranen die Endothelfunktion unterschiedlich beeinflussen, wurde diese im Rahmen einer doppelt verblindeten Cross-over-Studie vor und nach der HD mit einer Polysulfon- und Cuprophan-Membran bestimmt (Untersuchung 2).

In Untersuchung 1 wurden 25 chronische HD-Patienten unmittelbar vor und nach der Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran sowie am folgenden (dialysefreien) Tag untersucht. Der enddiastolische Durchmesser und die Distensibilität der A. brachialis und der A. carotis wurden durch Doppler-Frequenz-Analyse der Gefäßwandbewegungen mittels eines „multigate pulsed doppler system“ in M-Mode tonometrisch bestimmt. Die aortale Pulswellengeschwindigkeit (PWG) wurde mit Hilfe eines Complior® erfasst.

Die endotheliale Funktion wurde durch Bestimmung der Fluss-induzierten Vasodilatation (FV) der Arteria brachialis während reaktiver Hyperämie bestimmt und mit der Endothel-unabhängigen Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation verglichen (NV).

Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wurde mit Hilfe der Affinitätschromatographie und der Reversed Phase HPLC quantifiziert.

In Untersuchung 2 wurden zwölf Hämodialyse-Patienten eingeschlossen. Die FV und NV wurden wie in Untersuchung 1 bestimmt. Die Patienten wurden randomisiert, einer HD mit einer PS-Membran oder einer Cuprophan-Membran zugeteilt und in der nächsten HD-Sitzung mit der anderen Membran dialysiert. Die Untersucher waren blind für die verwendete Membran. Serum-Konzentrationen von oxidiertem LDL und  $\alpha$ -Tocopherol als Marker für oxidativen Stress wurden unmittelbar vor Beginn der Hämodialyse sowie fünf Minuten vor Beendigung der Hämodialyse bestimmt.

In der ersten Untersuchung veränderte sich die FV nach der HD oder im HD-freien Intervall nicht signifikant. Gleiches gilt für die NV und die PWG nach der HD und im HD-freien Intervall. Der Distensibilitätskoeffizient der A. carotis sank während der HD signifikant und stieg zum HD-freien Tag wieder an. Nach der Korrektur des Blutdrucks durch Tonometrie veränderte sich der isobarische Distensibilitätskoeffizient nicht signifikant. Die Distensibilität der A. brachialis zeigte ebenfalls keine signifikanten Veränderungen.

Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wurde durch den Einfluss der Hämodialyse nicht signifikant verändert. Des Weiteren korrelierte sie nicht mit den Gefäßwandeigenschaften.

In der zweiten Untersuchung wurde die FV der A. brachialis bei der HD mit einer Polysulfon-Membran nicht signifikant beeinflusst. Nach der HD mit einer Cuprophan-Membran sank die FV signifikant ( $p < 0.05$ ). Die NV wurde unabhängig von der Art der verwendeten Membran nicht beeinflusst. Die Serum-Konzentrationen von oxLDL wurden durch die Art der verwendeten Membran nicht beeinflusst; jedoch fielen die  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentrationen nach der HD mit einer Cuprophan-Membran signifikant, während die  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentrationen bei der Verwendung von Polysulfon-Membranen unbeeinflusst waren.

Hämodialyse mit einer biokompatiblen Membran übt per se bei terminal niereninsuffizienten Patienten keinen signifikanten Einfluss auf die Endothelfunktion großer Arterien oder die mechanischen Gefäßwandeigenschaften aus. Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wird durch den Einfluss einer Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran nicht signifikant verändert. Des Weiteren korreliert sie nicht mit den Gefäßwandeigenschaften.

Die Art der verwendeten HD-Membran beeinflusst allerdings den akuten Effekt der Hämodialyse auf die arterielle Endothelfunktion. Unterschiede bezüglich der Biokompatibilität und des oxidativen Stresses scheinen die verschiedenen Effekte der HD zu erklären, da die Abnahme der FV lediglich nach der Dialyse mit einer Cellulose-Membran auftrat und mit einer Reduktion des Vitamin E assoziiert war.

## Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Die arterielle Compliance.....	1
1.2	Die Endothelfunktion .....	5
1.3	Diadenosinpolyphosphate.....	8
1.3.1	Effekte der Diadenosinpolyphosphate auf glatte Muskelzellen.....	9
1.3.2	Effekte der Diadenosinpolyphosphate auf Thrombozyten.....	10
1.3.3	Extra- und intrazelluläre Konzentrationen der APnA.....	10
1.3.4	Bildung und Abbau .....	11
1.3.5	Stabilität .....	11
1.4	Hämodialyse.....	12
1.4.1	Def. Hämodialyse.....	12
1.4.2	Aufbau und Funktion eines Dialysators.....	13
1.4.3	HD-Membranen .....	14
1.4.3.1	Membranmaterial.....	14
1.4.3.2	Membranaufbau .....	14
1.4.3.3	Der Dialyseprozess und dessen Auswirkung auf die Endothelfunktion .....	16
1.4.3.4	Biokompatibilität .....	16
1.4.3.4.1	Thrombozytenaktivierung und Kinetik .....	17
1.4.3.4.2	Leukozytenaktivierung und Kinetik .....	18
1.4.3.4.3	Interaktionen von Blutplättchen und neutrophilen Granulozyten während der Hämodialyse .....	20
2	Fragestellung.....	21
3	Patienten.....	23
3.1	Studie I.....	23
3.2	Studie II .....	24
4	Material und Methoden.....	26
4.1	Messung des arteriellen Blutdrucks.....	26
4.2	Untersuchungen der funktionellen Wandeigenschaften großer arterieller Gefäße.....	26

---

4.2.1	Dopplerfrequenzanalyse der Gefäßwandbewegungen im M-Mode .....	26
4.2.2	Pulswellengeschwindigkeit (PWG) .....	30
4.2.3	Fluss-induzierte Vasodilatation.....	31
4.2.4	Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation.....	31
4.3	Bestimmung des thrombozytären Gehaltes an Diadenosinpolyphosphaten.....	32
4.3.1	Schematische Darstellung der Synthese und Analyse zur Quantifizierung von AP3A bis AP6A.....	32
4.3.2	Reagentien.....	32
4.3.3	Gewinnung der Thrombozyten aus 20 ml Vollblut .....	33
4.3.4	Der interne Standard .....	33
4.3.5	Deproteinisierung der Thrombozytenpellets mit Perchlorsäure .....	33
4.3.6	Affinitätschromatographie (Chromatographie auf Dihydroxyboryl BioRex-70) .....	34
4.3.7	Entsalzung/Reversed Phase HPLC mit TEAA .....	34
4.3.8	HPLC System/Ionenpaar Reversed Phase HPLC mit TBAH SO <sub>4</sub> (Tetrabutylammoniumhydrogensulfat).....	35
4.3.9	Quantitative Auswertung der Diadenosinpolyphosphate.....	37
4.3.10	Bestimmung der Thrombozyten-Anzahl .....	37
4.3.11	Bestimmung des $\beta$ -Thromboglobulingehaltes der Plättchen.....	37
4.4	Bestimmung des Vitamin E-Spiegels.....	37
4.5	Bestimmung des oxidierten LDH.....	37
4.6	Das Protokoll .....	37
4.6.1	Studie I .....	37
4.6.2	Studie II.....	38
4.7	Datenanalyse und Statistik (Studie I und Studie II) .....	39
5	Ergebnisse .....	40
5.1	Studie I.....	40
5.1.1	Hämodynamische Parameter (RR syst. und diast., Pulsdruck, Herzfrequenz).....	40
5.1.2	Compliance (DC A. carotis, DC A. brachialis, PWG).....	40
5.1.2.1	Distensibilitätskoeffizient der A. carotis .....	40
5.1.2.2	Distensibilitätskoeffizient der A. brachialis.....	41

---

5.1.2.3 Aortale Pulswellengeschwindigkeit.....	41
5.1.3 Endothelabhängige und -unabhängige Vasodilatation der A. brachialis (FV, NV).....	41
5.1.3.1 Fluss-induzierte Vasodilatation (FV).....	41
5.1.3.2 Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation (NV).....	41
5.1.4 APnA's.....	42
5.2 Studie II (Vergleich verschiedener HD-Membranen) .....	43
5.2.1 Hämodynamische Parameter.....	43
5.2.2 Endothelabhängige und -unabhängige Vasodilatation der A. brachialis (FV, NV).....	43
5.2.2.1 Fluss-induzierte Vasodilatation (FV).....	43
5.2.2.2 Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation (NV).....	44
5.2.3 Lipidparameter (Ox-LDL), $\alpha$ -Tocopherol.....	44
6 Diskussion.....	46
7 Zusammenfassung .....	56
8 Literaturverzeichnis.....	58
9 Abkürzungsverzeichnis.....	73
10 Danksagung.....	75
11 Lebenslauf.....	76

## 1 Einleitung

Kardiovaskuläre Erkrankungen stellen bei terminaler Niereninsuffizienz die Hauptursache für Morbidität und Mortalität dar (60). Tod durch Myokardinfarkt oder Schlaganfall tritt hier viel häufiger auf als in der Gesamtbevölkerung. Veränderungen der mechanischen Gefäßwandeigenschaften und endotheliale Dysfunktion werden bei diesen Patienten oft beobachtet und könnten für dieses erhöhte Risiko verantwortlich sein (38, 7, 115, 113). Die reduzierte arterielle Distensibilität, d.h. die gestörte Windkesselfunktion, ist mit einer erhöhten kardialen Nachlast verbunden, welche die Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie mit konsekutiv reduzierter Koronarperfusion nach sich zieht.

Neue Untersuchungen haben gezeigt, dass das Ausmaß einer durch Messung der aortalen Pulswellengeschwindigkeit erfassten, verminderten Elastizität als weitgehend unabhängiger Vorhersagewert bezüglich der kardiovaskulären Mortalität terminal Niereninsuffizienter gewertet werden kann (9).

Neben der eingeschränkten Elastizität liegt bei terminaler Niereninsuffizienz eine schwere Beeinträchtigung der endothelialen Funktion vor (38, 115, 113, 52). Endotheliale Dysfunktion stellt bezüglich der Pathogenese arterieller Erkrankungen ein frühes Ereignis dar und ist ein entscheidender Faktor für die Atherogenese. Zudem ist sie an der Tonusregulation großer Arterien wesentlich beteiligt (22, 20). Eine gestörte endotheliale Funktion kann z.B. durch eine herabgesetzte Produktion endotheliumabhängiger endogener Vasodilatoren (hpts. NO) oder durch eine abgeschwächte Reaktion der Arterienwand auf zuvor intakt gebildete und freigesetzte Substanzen begründet sein.

Es ist nicht bekannt, ob chronische, mit Niereninsuffizienz assoziierte Faktoren wie Hypertonie, Dyslipidämie, Nikotin, Diabetes mellitus, Hyperhomocysteinämie (119, 114, 4) und Hyperparathyreoidismus oder aber auch die Hämodialyse per se, z.B. durch vermehrte Freisetzung vasoaktiver Substanzen aus Thrombozyten, Leukozyten oder Endothelzellen, für die veränderten Gefäßwandeigenschaften bei Dialysepatienten verantwortlich sind (6).

### 1.1 Die arterielle Compliance

Die Gefäßwandelastizität ist eine wichtige Eigenschaft des arteriellen Gefäßsystems, denn nur bei elastischen Gefäßwänden kann das Gefäßsystem die ihm zukommenden



Funktionen erfüllen. Zu den Aufgaben der großen arteriellen Gefäße gehören die Transport- und die Pufferfunktion. Dies gilt insbesondere für die Aorta, welche die pulsierende in eine kontinuierliche Blutströmung verwandelt (Windkesselfunktion). Zu einer optimalen Windkesselfunktion tragen die elastischen Fasern der großen Arterien und die Widerstandsgefäße bei (97).

Unter der arteriellen Compliance versteht man die Beziehung zwischen der Volumenänderung des Gefäßes und der Druckänderung im Gefäß. Die Volumenänderung des Gefäßes während eines Herzzyklus kommt dabei im Wesentlichen durch die Durchmesseränderung (Querausdehnung) und nur zu einem geringen Anteil durch Veränderung der Gefäßlänge zustande (25). Es kommt dabei zu parallelen Anstiegen von Druck und Volumen im Gefäß, wobei jedoch mit steigenden Drücken die durch einen weiteren Druckanstieg erreichbare Volumenzunahme abnimmt (curvilineare Druck-Volumen-Beziehung) (27, 36). Vereinfachend wird die Längsausdehnung eines arteriellen Gefäßes vernachlässigt und die maximale diastolisch-systolische Querschnittszunahme zur maximalen diastolisch-systolischen Druckänderung, zum Pulsdruck, in Beziehung gesetzt.

Somit kann die Compliance eines Arteriensegmentes durch die Querschnittscompliance beschrieben werden:

$$CC = \frac{\Delta A}{\Delta p} = \frac{((\Delta d + d) / 2)^2 * \Pi - (d/2)^2 * \Pi}{\Delta p} \text{ mm/Pa}$$

$\Delta A$  diastolisch-systolische Querschnittsänderung des Gefäßes  
 $\Delta d$  diastolisch-systolische Durchmesseränderung des Gefäßes  
 $\Delta p$  Blutdruckamplitude

Alternativ kann auch die relative Durchmesserzunahme (relative Distension) des Gefäßes bestimmt und zur Druckänderung in Beziehung gesetzt werden. Dieser Quotient ist der so genannte Distensibilitätskoeffizient.

$$DC = \frac{2 * \Delta d / d}{\Delta p} 10^{-3} / \text{kPa}$$

Dieser Koeffizient wurde bei den hier vorgestellten Untersuchungen als Maß für die elastischen Eigenschaften der untersuchten großen Arterien verwandt. Der Quotient aus

systolischer Durchmesseränderung und enddiastolischem Durchmesser  $\Delta d / d$  wird als relative Distension bezeichnet.

Die Pulswellengeschwindigkeit ist ein anerkannter Parameter der Gefäßwandelastizität und korreliert mit dieser invers (97, 3). Bramwell und Hill stellten diesen Zusammenhang bereits im Jahr 1922 anhand folgender Gleichung dar (13):

$$PWV^2 = \Delta P \times V / \Delta V \times p$$

oder

$$\text{Compliance} = \Delta V / (V \times \Delta P) = p / PWV^2$$

PWV	Pulswellengeschwindigkeit
$\Delta P$	systolische Blutdruckänderung
$\Delta V$	systolische Volumenänderung
V	enddiastolisches Volumen
p	Blutdichte

Die Formel stellt die Fortpflanzungsgeschwindigkeit des Pulses in der Gefäßwand über den Gefäßinhalt dar. Dabei wird die Ausbreitungsgeschwindigkeit der Pulsquelle vor allem durch die elastischen Eigenschaften der arteriellen Wand beeinflusst. Je elastischer die Gefäßwand ist, um so langsamer pflanzt sich die Druckwelle fort, und um so niedriger ist auch die PWG. So ist die PWG in der stärker dehnbaren Aorta niedriger als in den kleineren muskulären arteriellen Gefäßen (106). Auch das Lebensalter, der Blutdruck und der Kontraktionszustand der Gefäßwandmuskulatur beeinflussen die Pulswellengeschwindigkeit.

Mit zunehmendem Lebensalter steigt die Pulswellengeschwindigkeit an. Dieser Anstieg betrifft vorwiegend die elastischen Gefäße und beruht auf dem Altersumbau der Arterienwand, vor allem der Abnahme des elastischen und der Zunahme des kollagenen Gewebes. Auch mit zunehmendem mittleren Blutdruck steigt die PWG an, da mit wachsender Dehnung der Arterien das Elastizitätsmodul zunimmt. Beim jugendlichen Menschen liegt die PWG in der Aorta bei 4-5 m/s, in der A. femoralis bei ca. 7 m/s und in der A. tibialis bei 9-10 m/s. Im Alter von 70 Jahren liegt sie in der Aorta bei 11 m/s. Im mittleren Lebensalter ist eine aortale PWG von >12 m/s pathologisch. Der Anstieg der PWG in peripherer Richtung resultiert dabei zum einen aus der Zunahme des Elastizitätsmoduls, d.h. der geringeren Dehnbarkeit beim Übergang von den elastischen auf die muskulären Arterien, zum anderen aus der Zunahme des Wanddicken-Radius-Verhältnisses in peripherer Richtung, das ebenfalls zu einer geringeren Dehnbarkeit und damit höheren Wellengeschwindigkeit beiträgt (99).

Der Vorteil dieser Methode, die Gefäßwandelastizität mit Hilfe der PWG zu ermitteln, liegt darin, dass man mit einfachen Mitteln die Elastizität unter physiologischen Bedingungen in vivo messen kann. Bei einer Erhöhung der PWG kann auf eine verminderte arterielle Compliance geschlossen werden (65).

Ein Nachteil dieser Methode ist, dass sie nicht repräsentativ für das ganze untersuchte Gefäßsegment ist. Mit der PWG ist es nicht möglich, die arterielle Compliance für ein kleines, genau definiertes Gefäßsegment, z.B. der Aorta, zu bestimmen. Auch beruht die PWG nicht direkt auf der Druck-Volumen-Beziehung des Gefäßsegments (118).

Bei der direkten Berechnung der PWG aus der Länge der Pulsstrecke ( $D$ ) und der Laufzeit der Pulswelle ( $t$ ) ergeben sich folgende Nachteile: Da die Messung der Länge der Pulsstrecke nur indirekt erfolgt, kann diese nur annäherungsweise angegeben werden. Zudem ist die vergleichende Messung im Verlauf der Entwicklung eines Patienten unmöglich, da die Länge der Pulsstrecke während der Entwicklung durch das Längenwachstum beeinflusst werden kann. Bei der Auswertung der registrierten Kurven nimmt die Laufzeit der Pulswelle ( $t$ ) einen größeren Einfluss auf die PWG als geringfügige Abweichungen in der Länge der Pulsstrecke ( $D$ ). So bedeutet eine Fehlmessung von 5 Millisekunden schon eine Abweichung der PWG um 5 % und mehr. Nachteilig wirkt sich auch eine erhöhte Pulsfrequenz auf die PWG aus. Bei einer Tachykardie von 100/min verkürzt sich die Pulslaufzeit, und damit steigt auch die PWG an (106).

Eine akute Beeinflussung der arteriellen Distensibilität durch den Einfluss der Hämodialyse ist z.B. durch Volumenänderung, Sympathikusaktivierung, Blutdruckänderung sowie Freisetzung vasoaktiver Substanzen aus Leukozyten, Thrombozyten und Endothel möglich.

Eine reduzierte arterielle Dehnbarkeit kann einerseits Folge eines erhöhten Blutdruckes sein – mit steigendem Blutdruck steigt die arterielle Wandspannung, und die Dehnbarkeit nimmt ab –, andererseits aber auch durch strukturelle Gefäßwandveränderungen bedingt sein. Eine lange bestehende Störung der Dehnbarkeit großer Arterien führt auch zu strukturellen Gefäßwandveränderungen wie Gefäßdilata-tion, Zunahme kollagener und Abnahme elastischer Fasern sowie einer Zunahme der Gefäßwanddicke (66).

Das sympathische Nervensystem beeinflusst den Blutdruck unmittelbar über einen vaso-konstriktorischen Effekt an den Gefäßen und über einen positiv chronotropen und i-

notropen Effekt am Herzen und nimmt so Einfluss auf die arterielle Compliance. Neben der durch Aktivierung des sympathischen Nervensystems unmittelbar hervorgerufenen Blutdrucksteigerung ist das sympathische Nervensystem über verschiedene Mechanismen an der Langzeitregulation des Blutdrucks beteiligt. Das sympathische Nervensystem hat einen proliferativen Effekt auf glatte Gefäßmuskelzellen (15) und auf Herzmuskelzellen (101). Die Gefäßwandhypertrophie geht mit einer Kapillarrarefizierung und einer Steigerung des peripheren Widerstandes einher. Eine Kapillarrarefizierung im Skelettmuskelgefäßbett führt zu einer Insulinresistenz, die über verschiedene Mechanismen atherogen wirkt und auch zu einer weiteren Aktivierung des sympathischen Nervensystems führt. Weiterhin kann eine erhöhte sympathische Nervenaktivität zu einer Aktivierung des Renin-Angiotensin-Systems mit Kochsalz- und Wasserretention und Blutdrucksteigerung führen (54). Schließlich kann das sympathische Nervensystem die Membraneigenschaften glatter Gefäßmuskelzellen funktionell verändern und somit einen hyperkontraktilen Zustand erzeugen (1).

## 1.2 Die Endothelfunktion

Intaktes Endothel wirkt der Entstehung arteriosklerotischer Gefäßwandveränderungen protektiv entgegen. Das Endothel moduliert biologische Prozesse der Gefäßwand: Es reguliert unter anderem die Permeabilität der Gefäßwand für Plasmalipoproteine, die endotheliale Adhäsion und Migration von Leukozyten, die Freisetzung von Wachstumsfaktoren (endothelial cell-growth-factor-A, Angiotensin II) und die Aktivität von Interleukinen. Das Endothel weist pro- und antikoagulatorische, antithrombozytäre und fibrinolytische Eigenschaften auf.

Das Endothel übt in Abhängigkeit von verschiedenen pharmakologischen und physiologischen Stimuli einen Einfluss auf den Tonus glatter Gefäßmuskelzellen aus (116). Hierbei sind eine Anzahl von Membranozeptoren, komplexe intrazelluläre Stoffwechselwege sowie die Synthese und Freisetzung verschiedener relaxierender (Bsp. NO, Prostazyklin) und konstringierender (Bsp. Endothelin) Substanzen involviert.

Zudem verarbeiten Endothelzellen Signale von zirkulierenden Vasodilatoren und Konstriktoren wie Thrombin, Bradykinin, ADP und ATP und sind an deren Inaktivierung beteiligt (96). So hat NO z.B. neben seiner relaxierenden Wirkung an der glatten

Gefäßmuskelzelle einen hemmenden Einfluss auf die durch Noradrenalin oder Angiotensin II induzierte Vasokonstriktion (120).

Die biologischen Effekte von EDRF werden durch NO vermittelt. NO wird durch die NO-Synthase (NOS), welche nur im Endothel präsent ist, aus L-Arginin gebildet (83). L-Arginin wird in NO und L-Citrullin umgebaut. Die Reaktion ist stereospezifisch und kann durch Arginin-Analoga wie N-Monomethyl-L-Arginin (L-NMMA) gehemmt werden. Wird die NO-Synthese gehemmt, so lässt sich dadurch sowohl im Tierexperiment als auch beim Menschen eine arterielle Hypertonie induzieren (90). Die endotheliale Freisetzung von NO kann durch „shear stress“ (87), Bradikinin, Thrombin, Acetylcholin und eine Vielzahl anderer zirkulierender Faktoren stimuliert werden, welche über Aktivierung spezifischer endothelialer Zell-Membran-Rezeptoren die Freisetzung von EDRF steigern (116).

„Shear stress“, welcher bei Flussbeschleunigungen des Blutes auftritt, ist der stärkste physiologische Stimulus für die endotheliale NO-Produktion. NO führt zu einer Aktivierung der Guanylatcyklase und erhöht damit die Bildung des second messenger cGMP (cyclisches Guanosin-Monophosphat) (2, 32). Die erhöhte intrazelluläre cGMP-Konzentration führt in glatten Muskelzellen zur Reduktion des intrazellulären Calciums und damit zur Relaxation und Vasodilatation.

Die flussabhängige Vasodilatation lässt sich im Tierexperiment durch arteriovenöse Shunts erzeugen. In Untersuchungen von Pohl und Mitarbeitern konnte gezeigt werden, dass die flussabhängige Vasodilatation großer Arterien sowohl endothelabhängig als auch NO-abhängig ist (87).

Hierbei wurden die Durchmesseränderungen der A. femoralis in Antwort auf einen gesteigerten Blutfluss bei intaktem Endothel und zerstörtem Endothel untersucht. Die funktionelle Integrität der Endothelzellen wurde zuvor durch intraarterielle Gabe von Acetylcholin getestet. Die einseitige Verstärkung des arteriellen Blutflusses, welche durch Anlage eines arteriellen Shunts erzeugt wurde, verursachte bei intaktem Endothel eine deutliche Gefäßerweiterung. Die mechanische Entfernung des Endothels durch einen Ballon-Katheter führte zur Aufhebung der zuvor beobachteten Effekte (keine Fluss-induzierte oder Acetylcholin-induzierte Dilatation), jedoch blieb die Gefäßreaktion auf Nitroglycerin und Norepinephrin erhalten. Die intraarterielle Gabe von Hydrogen-

Peroxid führte ebenfalls zu einer Aufhebung der Fluss-abhängigen Dilatation und zu einer Abschwächung der Acetylcholin-induzierten Dilatation.

Demgegenüber hatte sich die Reaktion auf Nitroglycerin und Norepinephrin nicht verändert. Der Gefäßdurchmesser der kontralateralen Femoralarterie zeigte sich in allen Fällen unbeeinflusst.

Joannides et al. konnten in Untersuchungen an Menschen zeigen, dass die Fluss-induzierte Vasodilatation während reaktiver Hyperämie durch vom Endothel produziertes Stickstoffoxid und nicht durch Prostacyclin hervorgerufen wird (53). Die Fluss-abhängige Gefäßerweiterung wurde vor und nach intraarterieller Infusion von L-NMMA oder Aspirin (p.o.) gemessen. Unter Kontrollbedingungen wurde nach Aufhebung der Gefäßokklusion während der reaktiven Hyperämie eine deutliche Steigerung des Blutflusses sowie eine Zunahme des Gefäßdurchmessers beobachtet. Nach Gabe von L-NMMA sank der arterielle Blutfluss, der arterielle Diameter blieb unbeeinflusst. Die perorale Einnahme von ASS (1g zwei Stunden vor Untersuchungsbeginn) zeigte keine hämodynamische Wirkung. Eine Beeinflussung der Herzfrequenz oder des arteriellen Blutdrucks konnte zu keinem Zeitpunkt beobachtet werden.

Eine Störung der Endothelfunktion ist vor allem dadurch charakterisiert, dass endothelabhängige vasodilatatorische Substanzen nicht mehr gebildet werden können und/oder dass die Wirkung dieser Substanzen an den glatten Gefäßmuskelzellen abgeschwächt ist (68, 78). Durch die fehlende Wirkung dieser Substanzen werden auch Prozesse wie die Atherombildung und die Proliferation von glatten Muskelzellen begünstigt.

Der Freisetzung von NO wird ein atheroprotektiver Effekt zugeschrieben:

Es übt einen Einfluss auf die Plättchen-Aggregation, den Lipoprotein-Metabolismus und das Binden der Leukozyten an die endotheliale Zelloberfläche aus. Zudem inhibiert es das Wachstum glatter Muskelzellen (116).

In der vorliegenden Studie wurde die flussabhängige NO-induzierte Vasodilatation der Brachialarterie nichtinvasiv durch Messung des enddiastolischen Diameters vor und nach reaktiver Hyperämie ermittelt.

Die nichtinvasive Messung der flussabhängigen Vasodilatation größerer arterieller Gefäße wie z.B. der A. brachialis wurde durch moderne Ultraschallverfahren

ermöglicht. Durch diese Techniken können der enddiastolische Durchmesser der Arterien und auch die oft nur geringen Veränderungen während reaktiver Hyperämie reproduzierbar und valide bestimmt werden.

### 1.3 Diadenosinpolyphosphate

Diadenosinpolyphosphate stellen eine Familie der endogenen vasoaktiven Purin-Dinukleotide dar. Sie bestehen aus zwei Adenosinresten, die über eine Phosphatkette unterschiedlicher Länge miteinander verbunden sind. Die Phosphatkette ist jeweils am 5'-Sauerstoff der Riboseeinheiten als Phosphorsäureester gebunden. Abbildung 1 zeigt die biochemische Struktur der Diadenosinpolyphosphate, die auch als AP<sub>n</sub>A bezeichnet werden, wobei „n“ die Anzahl der Phosphatgruppen angibt.

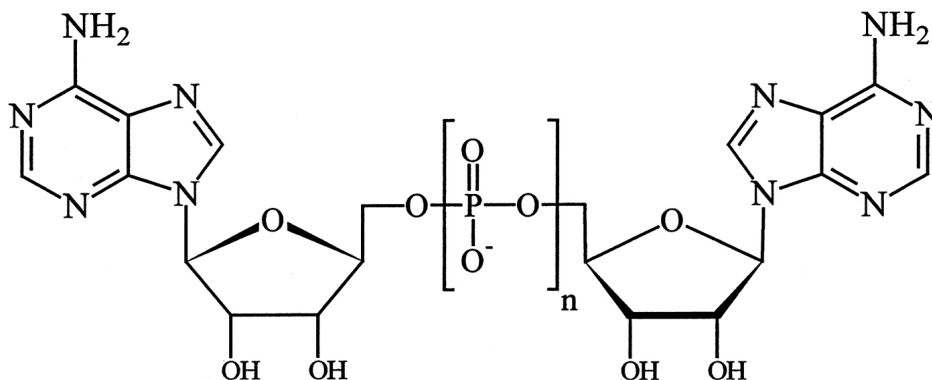


Abbildung 1: Strukturformel der Diadenosinpolyphosphate.

n = Anzahl der Phosphatgruppen  
 n = 3 für AP3A => Di(Adenosin-3')-Triphosphat  
 n = 4 für AP4A => Di(Adenosin-4')-Tetraphosphat  
 n = 5 für AP5A => Di(Adenosin-5')-Pentaphosphat  
 n = 6 für AP6A => Di(Adenosin-6')-Hexaphosphat

Diadenosinpolyphosphate sind natürlich vorkommende Moleküle und weisen ein ubiquitäres Vorkommen auf. Sie konnten in Geweben verschiedenster Säugetiere isoliert werden:

- In zentralen Synapsen von Ratten fungieren sie als Neurotransmitter (85).
- Im Nebennierenmark von Rindern werden sie zusammen mit Katecholaminen und ATP gespeichert und freigesetzt (93, 86).
- Beim Menschen gelang die Isolierung aus Thrombozyten (30, 100). Hier werden sie in den Granula in hohen Konzentrationen gespeichert und durch Thrombozytenaktivierung freigesetzt.

### 1.3.1 Effekte der Diadenosinpolyphosphate auf glatte Muskelzellen

In Abhängigkeit von der Spezies, dem Organ, dem Gefäßbett und der Anzahl von Phosphat-Teilchen innerhalb der APnA-Moleküle führen die Diadenosinpolyphosphate zu uneinheitlichen Gefäßaktionen und können den Gefäßtonus an- oder absteigen lassen (100, 104). Die erzielten biologischen Effekte werden über Purinozeptoren vermittelt (16). An isolierten, perfundierten mesenterialen Arterien von Ratten lösen AP4-6A über P2X-Purinozeptoren eine Vasokonstriktion und AP2-3A über endotheliale P2Y-Purinozeptoren eine Vasodilatation aus (89). Es wird vermutet, dass zwischen der Struktur der APnA's und der Aktivität an P2X- und P2Y-Purinorezeptoren eine wichtige Beziehung besteht, welche im Wesentlichen durch die Anzahl der Phosphat-Atome bedingt ist. AP5A und AP6A führen ab einer Konzentration von 10  $\mu\text{M}$  zu einer Zunahme der cytosolischen  $\text{Ca}^{2+}$ -Konzentration aortaler glatter Muskelzellen (108) mit Beeinflussung der kontraktiven Eigenschaften (100).

AP3A und AP4A führen in Koronararterien isolierter Kaninchenherzen zu einer Reduzierung des vaskulären Widerstandes (88, 103). Eine Durchblutung isolierter Kaninchenherzen mit physiologischen Konzentrationen (0.1 bis 1  $\mu\text{M}$ ) von AP3A und AP4A erzeugt eine Vasodilatation (88), welche zum Teil durch NO (in Antwort auf AP4A) und Prostazyklin (PGI<sub>2</sub>) (in Antwort auf AP3A) bedingt ist (88). In isolierten Meer-schweinchenherzen rufen AP3A und AP4A bei einer Konzentration von 1 nM unter konstanten Flussbedingungen eine temporäre Vasodilatation hervor (103). Bei einer Konzentration von 1  $\mu\text{M}$  kommt es zu einer anhaltenden Reduktion des koronararteriellen Perfusionsdruckes.

Diadenosinpolyphosphate können die Proliferation glatter Muskelzellen induzieren (30) und so an der Entwicklung arteriosklerotischer Gefäßwandveränderungen beteiligt sein (26).



### 1.3.2 Effekte der Diadenosinpolyphosphate auf Thrombozyten

Diadenosinpolyphosphate spielen eine Rolle in der Interaktion von Thrombozyten und Endothel. Einige fördern die Thrombozytenaggregation, während andere sie inhibieren. AP3A führt bei einer Konzentration von  $> 0.1 \mu\text{M}$  (durch enzymatische Hydrolyse zu ADP) zu einer Verstärkung des Aggregationseffektes (69), während AP4A-6A auf die ADP-induzierte Thrombozytenaggregation einen inhibierenden Effekt ausüben (71, 67, 34).

Der aggregationssteigernde bzw. inhibierende Effekt wird bei folgender Konzentration erreicht:

AP3A  $\Rightarrow > 0.1 \mu\text{M}$

$\Rightarrow 5 \mu\text{M}$  Synergismus mit anderen Agonisten (Bsp.: Plättchen-aktivierender Faktor) (69, 71)

AP4A  $\Rightarrow 5 \mu\text{M}$  (69, 71)

AP5A  $\Rightarrow 100 \mu\text{M}$  (stärker als AP4A und AP6A)

### 1.3.3 Extra- und intrazelluläre Konzentrationen der APnA

Im Rahmen der Thrombozytenaktivierung werden AP3A und AP4A zusammen mit anderen Stoffen aus den Granula freigesetzt. Im zirkulierenden Blut wird dabei eine Konzentration von etwa  $1 \mu\text{M}$  erreicht (30). Unter Basalbedingungen (ohne initiale Thrombozytenstimulation) liegt eine geringe Konzentration vor, ähnlich der von ADP und ATP (30). Innerhalb der Plättchengranula beträgt die Konzentration  $1 \text{ pmol} / 10^6$  Plättchen, wobei die Konzentration von ADP und ATP hier 10- bis 20-fach höher ist (72, 70). Die thrombozytäre Konzentration variiert mit der Thrombozytengröße (70). Da große Thrombozyten mehr in hämostatische Reaktionen einbezogen sind (14), könnten hieraus lokal erhöhte APnA-Konzentrationen resultieren. Nach Ogilvie (82) sind theoretisch durch Plättchenaggregation an begrenztem Ort lokal Konzentrationen von über  $1 \mu\text{M}$ , sowie in Plättchenthromben, welche an einer verletzten Gefäßwand haften, Konzentrationen von über  $100 \mu\text{M}$  erreichbar.

Die Bestimmung der in vivo-Konzentration der Diadenosinpolyphosphate gestaltet sich aufgrund ihrer geringen Konzentration und der meist in weit größeren Mengen gleichzeitig vorliegenden, chemisch ähnlichen Substanzen schwierig. Hinzu kommen metabolische Instabilität und die große Variabilität innerhalb dieser Substanzklasse.

Im Rahmen der vorliegenden Untersuchung wurden die Diadenosinpolyphosphate mit Hilfe der Affinitätschromatographie und der reversed Phase HPLC isoliert (51).

#### 1.3.4 Bildung und Abbau

Diadenosinpolyphosphate werden in den Megakaryozyten gebildet (72). Der Abbau erfolgt durch eine im Plasma präsente Diadenosinpolyphosphat-Hydrolase zu AMP und dem korrespondierenden Adenosinpolyphosphat ( $AP_nA \Rightarrow AMP + AP_{n-1}$ ) (76). Weiterhin finden sich Diadenosin-spaltende Hydrolasen auf dem Gefäßendothel (31, 94). Goldman et al. haben eine durch Endothelzellen verursachte Hydrolyse von AP<sub>3</sub>A beschrieben, welche durch ATP inhibiert werden kann (31).

#### 1.3.5 Stabilität

AP<sub>3</sub>A und AP<sub>4</sub>A sind stabiler als ATP und ADP (69, 30). Studien von Lüthje und Ogilvie (73) haben gezeigt, dass die Hydrolyse von AP<sub>3</sub>A und AP<sub>4</sub>A im Blut in Form kompetitiver Hemmung der AP<sub>n</sub>A-Hydrolase durch ATP und ADP beeinflusst werden kann. In Anbetracht des Konzentrationsverhältnisses, in dem ATP und AP<sub>n</sub>A aus den Plättchengranula freigesetzt werden (ein Verhältnis von 20–40:1), ist dies von Bedeutung (72). Es handelt sich also um langlebige Moleküle, welche z.B. im Rahmen einer Thrombusbildung von dessen Oberfläche weg diffundieren, ohne zerstört bzw. abgebaut zu werden (73). Zudem wird die Langlebigkeit durch das Vorliegen AP<sub>3</sub>A- und AP<sub>4</sub>A-spaltender Enzyme im Plasma und nicht in Leukozyten, Erythrozyten und Thrombozyten erklärt. Beweisend hierfür ist, dass die HWZ von AP<sub>3</sub>A und AP<sub>4</sub>A im Blut länger als im Plasma ist.

Vor dem Hintergrund, dass der vasokonstriktorische und proliferationsfördernde Effekt der Diadenosinpolyphosphate auf Gefäßmuskelzellen zur Entstehung von Bluthochdruck und arteriosklerotischen Gefäßwandveränderungen bei hämodialysepflichtigen Patienten beitragen könnte, soll in der vorliegenden Untersuchung der akute Einfluss der HD auf die thrombozytäre AP<sub>n</sub>A-Konzentration bestimmt werden.

Diadenosinpolyphosphate werden bei Thrombozytenaktivierung freigesetzt. Sie könnten daher direkte Parameter der HD-induzierten Thrombozytenaktivierung darstellen.

## 1.4 Hämodialyse

### 1.4.1 Def. Hämodialyse

Bei der Hämodialyse handelt es sich um ein extrakorporales Blutreinigungsverfahren, welches sich den physikalischen Prozess der Diffusion über eine semipermeable Membran zunutze macht. Das mit harnpflichtigen Substanzen beladene Blut wird durch ein von einer Membran begrenztes Kompartiment eines Dialysators gefördert, das auf der anderen Membranseite mit einer „Waschflüssigkeit“ (physiologische Elektrolytlösung / Dialysat) durchströmt wird. Die Konzentrationsunterschiede zwischen Blut und Dialysat bewirken eine Diffusion kleinerer und mittlerer Moleküle durch die Membran. Der meist ebenfalls notwendige Flüssigkeitsentzug wird durch ein hydrostatisches Druckgefälle erreicht.

Bei der Hämofiltration wird dem Blut ein Großteil des Plasmawassers (einschließlich harnpflichtiger Substanzen) entzogen und durch eine physiologische Elektrolytlösung („Substitut“) ersetzt. Das Austauschvolumen beträgt ca. 20 l pro Behandlung. Die Ausrüstung der Hämodialyse besteht aus drei Komponenten: dem

Blutversorgungssystem, dem System für Zusammensetzung und Zufuhr des Dialysats und dem Dialysator selbst (Abbildung 2). Dem Patienten wird über einen zentralen Gefäßzugang (Shunt) Blut entnommen, und dieses wird über eine Rollenpumpe/Blutpumpe in das „arterielle“ Schlauchsystem des Dialysegerätes (sog. künstliche Niere) gepumpt. Danach durchströmt es einen zwischengeschalteten Dialysator (in dem die eigentliche Dialyse stattfindet) und wird über ein „venöses“ Schlauchsystem in den Blutkreislauf des Patienten zurückgeleitet. Zur Verhinderung der Blutgerinnung wird das Blut heparinisiert.

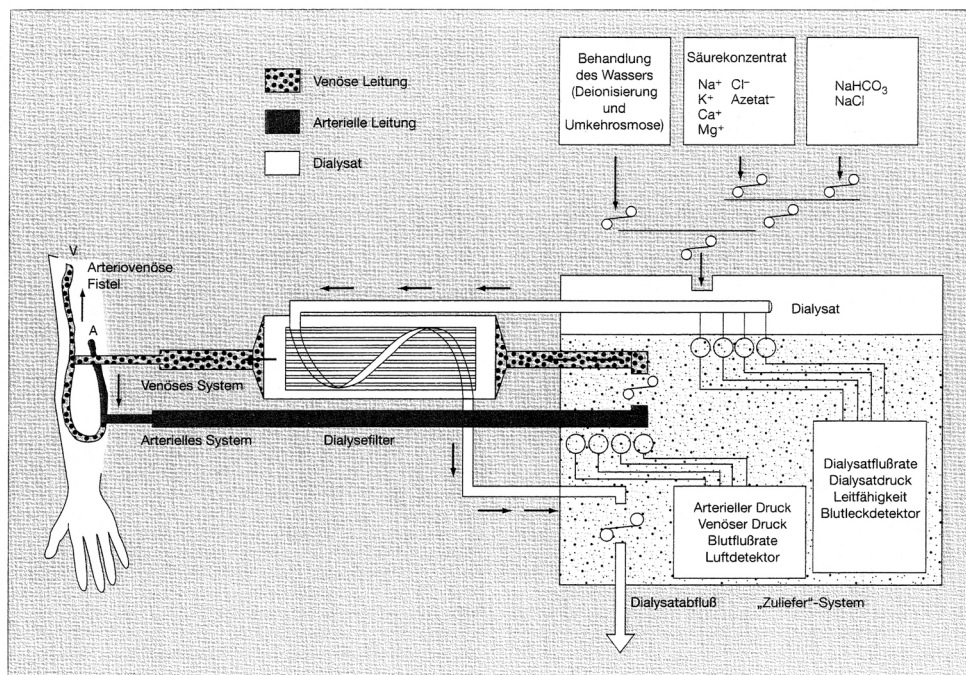


Abbildung 2: Schematische Darstellung der Hämodialyse (nach Harrison's 15TH Edition).

#### 1.4.2 Aufbau und Funktion eines Dialysators

Der am häufigsten verwendete Dialysator ist der Hohlfaser- oder Kapillar-Dialysator, bei dem das Material der Membran aus feinen Kapillaren gesponnen ist, die zu Tausenden von Bündeln zusammengefasst sind. Das Blut fließt durch die Kapillaren, während das Dialysat um die Außenseite der Faserbündel zirkuliert. Die Art der Membran und die Oberflächengröße sind ausschlaggebend für die Ultrafiltration und die Clearance und wichtig für die immunologische (d.h. biokompatible) Reaktion des Patienten.

Das Dialysat wird dem Dialysator von einem Vorratstank oder proportionierenden System, welches das Dialysat fortlaufend herstellt, angeliefert. In den meisten Geräten fließt das Dialysat – dem Blutfluss entgegengesetzt – mit einer Rate von 500 ml/min einmalig durch die Membran und wird dann verworfen. Durch die Leitung von Blut und Dialysat nach dem Gegenstromprinzip wird der Gradient entlang der Membran möglichst groß gehalten und so der Stoffausgleich begünstigt.

Die Zusammensetzung des Dialysats ähnelt der des Plasmas und kann entsprechend den Anforderungen verändert werden. So können auch eine Reihe von Substanzen via Dialysat dem menschlichen Körper zugeführt werden. Dazu setzt man die Konzentration im

Dialysat höher an, als sie im Blut vorliegt. In der Praxis werden Kalzium, Bikarbonat und Glukose auf diese Weise dem Patienten während der Hämodialyse zugeführt.

### 1.4.3 HD-Membranen

Die Funktion der künstlichen Niere in Form der Hämodialyse ist maßgeblich abhängig von geeigneten Dialysemembranen.

An eine Dialyse-Membran werden folgende Anforderungen gestellt:

1. Die Membran muss in höchstem Maße biokompatibel sein.
2. Die Membran muss für alle bekannten harnpflichtigen Substanzen durchgängig sein und sollte in ihren Trenneigenschaften der Basalmembran der Niere entsprechen.
3. Es dürfen keine zellulären Bestandteile und Makromoleküle des Blutes die Membran passieren können.
4. Die Membran muss eine hohe Stabilität haben, die aufgewendete Drücke aufnehmen kann, mechanische Verarbeitung ermöglicht sowie Transporte übersteht.
5. Die Wasserdurchlässigkeit (hydraulische Permeabilität) muss den klinisch angewendeten, extrakorporalen Dialyseverfahren angepasst sein.

#### 1.4.3.1 Membranmaterial

Die Membranen, die in der Nierenersatztherapie verwendet werden, können in zwei Gruppen eingeteilt werden:

1. aus Cellulose hergestellte Membranen (Cuprophan; Celluloseacetat) und
2. synthetische Membranen (Polysulfon; Polymethylmethacrylat (PMMA); Polyamid (PA); Polyacrylnitril (PAN)).

#### 1.4.3.2 Membranaufbau

Für die konventionelle Hämodialyse werden im Wesentlichen symmetrische Membranen verwendet, während sich für andere Dialyseverfahren die Verwendung asymmetrischer Membranen durchgesetzt hat.

Symmetrische Membranen sind über die ganze Membrandicke homogen und besitzen auf der Innen- und Außenfläche Poren vergleichbarer Größe. Sie werden überwiegend aus Cellulose hergestellt. Sie zeichnen sich durch eine hohe mechanische Stabilität aus und können vergleichsweise dünnwandig hergestellt werden. Für kleine Moleküle ist

die Permeabilität deshalb sehr hoch, für Mittelmoleküle ist sie stark reduziert. Weiterhin weisen sie eine niedrige hydraulische Permeabilität auf. Konvektive Verfahren sind daher kaum möglich.

Asymmetrische Membranen bestehen aus einer sehr dünnen inneren Porenschicht, die nach außen in ein grobporiges Materialgefüge übergeht. Die innere Membran ist für die Stofftrennung bestimmend (Trennschicht), die Unterschicht hat lediglich Stützfunktion. Um eine ausreichende mechanische Stabilität zu erreichen, muss die Dicke dieser Membran etwa drei- bis zehnmal höher sein als die symmetrischer Membranen. Diese Membranart wird vorwiegend aus synthetischen Materialien (z.B. Polyamid, Polysulfon) hergestellt.

Die geringe Dicke der Trennschicht bewirkt eine deutliche Verringerung des hydraulischen Widerstandes. Größere Teilchen werden unmittelbar an der Oberfläche reflektiert (und vom Blutstrom weiter transportiert), während Teilchen, deren Durchmesser kleiner als die der Poren sind, die Membran ungehindert passieren. Diese Eigenschaften sind Voraussetzung für einen effektiven konvektiven Stofftransport.

Die große Wandstärke der Stützsicht erschwert andererseits die Diffusionsvorgänge, weshalb die Elimination kleinerer Moleküle durch Dialyse weniger effektiv ist. Die Verwendung solcher Membranen bleibt deshalb vorwiegend auf das Verfahren der Hämofiltration beschränkt.

#### Low- und High-flux

Die glatte innere Oberfläche einer asymmetrischen Membran hat Poren annähernd gleichen Durchmessers und bestimmt den Siebkoeffizienten der Membran. Die Größe dieser Poren bedingt auch die Klassifizierung als High-Flux- oder Low-Flux-Membran.

Low-Flux-Membranen haben aufgrund der relativ kleinen Membranporen eine niedrige Ausschlussgrenze (= Cut-off), die lediglich die Elimination von Stoffen bis etwa 5.000 Dalton Molekulargewicht erlaubt. Aufgrund der Porenstruktur haben Low-Flux-Membranen auch eine nur geringe hydraulische Permeabilität (Wasserdurchlässigkeit). Der Stofftransport erfolgt überwiegend diffusiv, für Verfahren mit hohem konvektiven Stofftransport (HF, HDF) sind Low-Flux-Membranen nicht geeignet.

Die Porenstruktur von High-Flux-Membranen erlaubt die Passage von Molekülen bis etwa 30.000 Dalton; mit High-Flux-Membranen können deshalb auch sogenannte Mittelmoleküle (Bsp. vasoaktive Peptide => Blutdruckkontrolle; Erythropoetin-Inhibitoren

=> Erythropoetin-Resistenz; Granulozyteninhibierende Proteine => Infektionen; Inhibitoren der Lipoproteinlipase => abnormales Lipidprofil; PTH und Calcitonin => Osteodystrophie) entfernt werden, deren Akkumulation für viele Langzeitfolgen der Dialysebehandlung verantwortlich ist. Eine nennenswerte Durchlässigkeit für Proteine wie Albumin (66.000 Dalton) und größere Substanzen muss dabei ausgeschlossen sein. Die offenporige Struktur bedingt die höhere Wasserdurchlässigkeit der High-Flux-Membranen, sie sind für Hämofiltration und Hämodiafiltration einsetzbar.

#### **1.4.3.3 Der Dialyseprozess und dessen Auswirkung auf die Endothelfunktion**

Miyazaki et al. berichteten bei der HD mit einer Cuprophan-Membran über einen akuten Abfall der Endothelfunktion der A. brachialis (77). Demgegenüber beobachteten Hand et al. eine Verbesserung der venösen Endothelfunktion (35).

Eine negative Beeinflussung der Endothelfunktion ist durch vermehrtes Anfluten reaktiver Oxydantien, welches durch die Aktivierung polymorphonukleärer Leukozyten an der Oberfläche der HD-Membran bedingt ist, möglich. In Übereinstimmung hiermit konnte durch den Einfluss einer einzigen HD-Sitzung eine signifikante Zunahme der peroxidierten Lipide beobachtet werden.

Methyliertes Arginin wie L-Monomethyl-Arginin (L-NMMA) (109, 110) und Dimethylarginin (ADMA) (18) sind natürlich vorkommende Substanzen, welche unter anderem als Inhibitoren der NO-Synthese fungieren und bei terminal Niereninsuffizienten akkumuliert vorliegen (111). Durch Entfernung dieser Inhibitoren während der HD ist eine Verbesserung der Endothelfunktion denkbar (35, 111).

APnA's weisen vielfältige vasoaktive Eigenschaften auf und begünstigen die Entwicklung arteriosklerotischer Gefäßwandläsionen. Bei Nachweis einer Freisetzung durch die Dialyse könnten sie direkte Parameter der HD-induzierten Thrombozyten-Aktivierung darstellen.

#### **1.4.3.4 Biokompatibilität**

Wenn Blut mit einer Fremdoberfläche in Kontakt kommt, wird eine Serie komplexer Reaktionen induziert. Aus diesen Interaktionen resultieren Veränderungen der zellulären und nichtzellulären Blutelemente, welche z.B. Zelladhäsion, Aggregation, Aktivierung und Proteinablagerung beinhalten. Die physikalischen, morphologischen und chemischen Charakteristika einer Membran sowie die hämodynamischen Bedingungen

mischen Charakteristika einer Membran sowie die hämodynamischen Bedingungen sind hierbei von Bedeutung.

Die Summe dieser Aktionen wird unter dem Begriff der Biokompatibilität zusammengefasst. Eine zentrale Rolle bei den ‚Blut-Membran-Interaktionen‘ spielen Thrombozyten und neutrophile Granulozyten.

#### **1.4.3.4.1 Thrombozytenaktivierung und Kinetik**

Wenn zirkulierende Thrombozyten auf eine Fremdoberfläche treffen, bleiben sie an dieser haften und setzen ihre Inhaltsstoffe frei. Durch die Adhäsion erlangen sie eine irreguläre Oberfläche und verlieren an Volumen. Sie bilden eine Schicht, welche durch Einschluss von Erythrozyten und Leukozyten Unebenheiten aufweist. Die Flussbedingungen an der Membranoberfläche sind bei diesem Prozess von entscheidender Bedeutung.

Hämodialyse ist mit einer ca. 10-15%igen Verminderung zirkulierender Thrombozyten assoziiert. Diese Verminderung ist abhängig von der Art der verwendeten Membran, der Antikoagulation sowie dem verwendeten Puffer der Dialyse-Flüssigkeit.

Auf die Adhäsion der Thrombozyten an die Membranoberfläche folgt die Freisetzung von Plättchenbestandteilen. Die Freisetzung wird durch Fremdoberflächenkontakt sowie durch zirkulierende Faktoren (Thrombin, Thromboxan A<sub>2</sub>, Leukozyten, Fibrinogen, von Willebrand-Faktor) induziert.

Plättchenfaktor 4,  $\beta$ -Thromboglobulin ( $\beta$ -TG) und APnA's könnten direkte Parameter der HD-induzierten Thrombozyten-Aktivierung darstellen. Neben ihnen werden andere Faktoren wie „platelet-derived growth-factor“, Thrombospondin, Thrombozyten-Oberflächen-Glykoproteine wie Fibrinogen-Rezeptoren auf Glycoprotein IIB-IIIa (GP IIB-IIIa, CD41) und  $\alpha$ -Granula-spezifische Glycoproteine wie GMP 140 (CD62) freigesetzt oder selektiv in Folge der Aktivierung auf der Thrombozytenmembran exprimiert. Unter Verwendung spezifischer monoklonaler Antikörper gegen GMP140 (CD62) wurde der Einfluss verschiedener HD-Membranen auf die Thrombozyten-Aktivierung untersucht. Hierbei wurde festgestellt, dass Cuprophan-Membranen im Vergleich zu Polysulfon-Membranen eine deutlich gesteigerte Thrombozyten-Aktivierung auslösen (19). Durch den Blut-Membran-Kontakt und die Protein-Ablagerung an der Fremdoberfläche wird das intrinsische Gerinnungssystem aktiviert. Zwischen den Blutplättchen und dem



intrinsischen Blutsystem liegt eine Interaktivität vor, welche zur Ausbildung einer Fibrinschicht auf der Membranoberfläche führt und so eine weitere Plättchen-Adhäsion und -Aggregation zur Folge hat.

Plättchen-Aktivierung spielt eine Rolle bei der Aktivierung der Gerinnungskaskade. Assoziiert mit einer Veränderung der Plättchenform, können sich negativ geladene Phospholipide wie z.B. Faktor Va, Prothrombin und Faktor Xa an der Oberfläche der aktivierten Zellen versammeln und in Gegenwart von  $\text{Ca}^{2+}$  Thrombin bilden.

#### **1.4.3.4.2 Leukozytenaktivierung und Kinetik**

Hämodialyse ist assoziiert mit einer ausgeprägten und rasch eintretenden Neutrozytopenie und Monozytopenie. Der Einbruch der Leukozyten-Anzahl beginnt in den ersten Minuten während der Hämodialyse und erreicht sein Maximum ca. 20 Minuten nach Beginn der Hämodialyse. Danach steigt die Leukozytenzahl rasch an und erreicht manchmal höhere Werte als vor der Hämodialyse. Das Ausmaß der Veränderungen ist abhängig von der Art der verwendeten Membran und wird durch das Ausmaß der Komplement-Aktivierung (insbesondere C3a und C5a) durch direkten Kontakt beeinflusst.

Die Mechanismen der Aktivierung sind komplex. Eine Reihe von Faktoren wie z.B. der Plättchen-aktivierende Faktor und Leukotrien B<sub>4</sub> sind involviert. Die Aktivierung der Neutrophilen ist weiterhin mit der Produktion von Superoxiden (z.B.  $\text{O}_2^-$  und  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) assoziiert, welche potente Mediatoren der Zellzerstörung sind. Nach Kontakt mit der HD-Membran haften die aktivierten Zellen an dem pulmonalen Endothel. Diese Adhärenz wird durch eine gesteigerte Expression oder Aufregulation der Adhäsionsrezeptoren (CD11b/CD18) der aktivierten polymorphonukleären Zellen hervorgerufen. Klinische Studien haben gezeigt, dass aus der Ansammlung der Neutrophilen in den Lungengefäßen ein Abfall des  $\text{PaO}_2$  und eine Veränderung der Diffusionskapazität der Lunge für  $\text{CO}_2$  resultiert. Heute ist klar, dass für die Veränderung des  $\text{PaO}_2$  der Dialyse-Puffer von Bedeutung ist. Da Bicarbonat-enthaltende Dialyse-Flüssigkeit die Reduktion des  $\text{PaO}_2$  lediglich abschwächt und nicht aufhebt, ist die Rolle der Membran diesbezüglich umstritten.

Martin Malo et al. haben während der HD mit einer synthetischen Membran im Vergleich zu einer Cellulose-basierten Membran nach 15 Minuten einen geringeren Leukozyten-Abfall beobachtet (75).

Aus dem Kontakt von Blut mit Membranen resultiert eine Aktivierung von endothelialen Adhäsionsmolekülen von Leukozyten. Die Selektin-Familie der Adhäsionsmoleküle führt zum Aufrollen der Leukozyten, während die Adhäsion durch Integrine, welche an die Endothel-Rezeptoren binden ( $\beta$ 2-Integrine), vermittelt wird.  $\beta$ 2-Integrine setzen sich aus drei Adhäsionsrezeptoren zusammen (LFA1, MAC-1 und GP150). Der Neutrozyten-Abfall nach Beginn der HD ist assoziiert mit einer gesteigerten Expression der  $\beta$ 2-Integrin-Adhäsionsrezeptoren der Neutrophilen, wenn sie die HD-Membran verlassen (33). Andere Studien zeigten einen Abfall der Selektin-Expression in Neutrophilen (79), welches eine mögliche Rolle dieses Faktors bezüglich der HD-induzierten Neutropenie anzeigt.

Neben dem Membran-Kontakt können auch andere Faktoren wie Scher-Stress, Lipopolysaccharide in dem Dialysat sowie die urämische Stoffwechsellage am Prozess der Leukozyten-Aktivierung beteiligt sein.

Polymorphonukleäre Neutrophile setzen bei Aktivierung Proteinasen wie Elastase, Lactoferrin und Myeloperoxidase frei. Das Ausmaß der Freisetzung ist sowohl abhängig von den klinischen Bedingungen des Patienten als auch von der Art der verwendeten Dialyse-Membran. Nach Freisetzung wird die Elastase rasch durch Bindung an Proteinase-Inhibitoren inaktiviert. Erhöhte Spiegel von Elastase (gemessen als  $\alpha$ 1-Inhibitor-Komplex) wurden bei synthetischen und Cellulose-basierten Membranen gefunden. Horl et al. konnten zeigen, dass verschiedene Membranen unterschiedliche Proteinase-Spiegel erzeugen (49). Die Ursache für den kontinuierlichen Anstieg der Proteinasen ist unklar.

Tetta et al. verglichen die Freisetzung von Lysozym und  $\beta$ -Glukuronidase aus Granulozyten und fanden, dass kationische, jedoch nicht neutrale oder anionische Membranen wie PMMA die Freisetzung dieser Substanzen bewirken.

Die beschriebenen Veränderungen der Konzentrationen der freigesetzten Proteinasen aus Neutrophilen korrelieren nicht mit den Veränderungen der Komplement-Aktivierung (C3a) (11), so dass andere Faktoren wie die Komplementaktivierung involviert sein müssen. Es gibt Hinweise darauf, dass die proteolytischen Enzyme, welche während der HD in das Plasma freigesetzt werden, den Protein-Katabolismus unterhalten (48).

Des Weiteren setzen Neutrophile reaktive oxygene Spezies frei. Oxygene Radikale spielen eine Rolle bei der Entstehung der Inflammation. Die Faktoren, die in die Freisetzung dieser Stoffe involviert sind, sind zum jetzigen Zeitpunkt nicht vollständig geklärt, jedoch konnte in vitro gezeigt werden, dass C5a die Freisetzung reaktiver oxygener Spezies stimuliert (58). Reaktive oxygene Spezies können als second messenger die Transkription verschiedener Aktivatoren induzieren (41). Himmelfarb et al. konnten zeigen, dass HD mit einer synthetischen Membran im Vergleich zu einer Cellulose-basierten Membran mit einer geringeren Bildung reaktiver oxygener Spezies assoziiert ist (41).

#### **1.4.3.4.3 Interaktionen von Blutplättchen und neutrophilen Granulozyten während der Hämodialyse**

Solche Interaktionen können sowohl für die Hämostase als auch für inflammatorische Prozesse von Bedeutung sein.

Die gesteigerte Bildung von Plättchen- und Leukozyten-Mikro-Koaggregaten während der Hämodialyse steht primär in Beziehung zu Plättchen-aktivierenden Mechanismen und involviert zum Teil P-Selektin (CD62p), ein Marker für aktivierte Plättchen, sowie CD15s, ein Selektin-Ligand.

Stuard et al. untersuchten Interaktionen von Blutplättchen und neutrophilen Granulozyten während der Hämodialyse mit synthetischen und Cellulose-basierten Membranen. Bei allen Membranen konnte eine zeitabhängige Zunahme der Blutplättchen und Neutrophilen-Koaggregate beobachtet werden.

Für synthetische Membranen wurde ein signifikanter Anstieg nach 20 Minuten beobachtet. Im Vergleich zu Cellulose-basierten Membranen war dieser Anstieg geringer. Der Anstieg der Blutplättchen und Neutrophilen-Koaggregate spiegelte sich in einer gesteigerten Bildung reaktiver oxygener Spezies wider (105).

## 2 Fragestellung

Nach Vallance et al. kommt es bei urämischer Stoffwechsellage zu einer Akkumulation endogener Inhibitoren der NO-Synthase (wie z.B. asymmetrisches Dimethylarginin), welche eine verminderte Verfügbarkeit über NO zur Folge hat (111). Eine Entfernung dieser Inhibitoren durch Hämodialyse hätte demnach eine Verbesserung der endothelialen Funktion zur Folge.

Auf der anderen Seite kann die Hämodialyse durch verstärkte Lipid-Oxidation und Leukozyten-Thrombozyten-Aktivierung zu einer Beeinträchtigung der Endothelfunktion führen (92, 45).

Durch Thrombozytenaktivierung werden unter anderem Diadenosinpolyphosphate (vasoaktive Dinukleotide) freigesetzt, welche nach Janowski et al. bei HD-Patienten in erhöhter Konzentration vorliegen und einen wichtigen atherogenen Faktor darstellen (50). Eine Beeinflussung der thrombozytären und systemischen APnA-Konzentration durch Hämodialyse ist im Rahmen einer gesteigerten metabolischen und mechanischen Belastung (Fremdoberflächen-Kontakt) der Thrombozyten denkbar (117, 10).

Diadenosinpolyphosphate könnten direkte Parameter der HD-induzierten Thrombozytenaktivierung darstellen und so Auskunft über die Biokompatibilität der verwendeten HD-Membran geben.

In der vorliegenden Arbeit wurde die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration mit Hilfe der Affinitätschromatographie und der Reversed Phase HPLC isoliert und durch Ionenpaar Reversed Phase HPLC quantifiziert. Die Untersuchungen fanden unmittelbar vor und nach der Hämodialyse sowie am folgenden (dialysefreien) Tag statt.

Es gibt viele Studien, die die eingeschränkte Distensibilität und Endothelfunktion leitender Arterien bei Niereninsuffizienz bestätigen. Es gibt jedoch nur sehr wenige Untersuchungen, die über den akuten Effekt der HD auf Gefäßwandeigenschaften berichten (35, 77).

Aufgrund dieser Feststellung liegt das Ziel der vorliegenden Untersuchung in der Bewertung des akuten Effektes der HD auf funktionelle Gefäßwandeigenschaften.

1. Führt Hämodialyse mit Polysulfon-Membranen in Verbindung mit unseren Techniken zur messbaren Funktionsbeeinträchtigung der großen arteriellen Gefäße?

2. Steht die Beeinträchtigung der funktionellen Gefäßwandeigenschaften in einem Bezug zur Thrombozytenaktivierung ? Als Marker hierfür wurden APnA's verwendet.
3. Wird der Hämodialyse-Effekt auf Gefäßwandeigenschaften beeinflusst durch die Art der verwendeten Membran?

Zur Beantwortung dieser Fragen wurde bei 25 HD-pflichtigen Patienten die Fluss-induzierte Vasodilatation der A. brachialis als Parameter der endothelialen Gefäßfunktion gemessen.

Als Indikator mechanischer Gefäßwandeigenschaften wurden die aortale Pulswellengeschwindigkeit sowie die Distensibilität der A. brachialis und der A. carotis untersucht. Die in den Thrombozyten vorliegende APnA-Konzentration wurde laborchemisch ermittelt, sie galt als Marker für die Thrombozytenaktivierung während der Hämodialyse. Die Untersuchungen fanden unmittelbar vor und nach der Hämodialyse sowie am folgenden (dialysefreien) Tag statt.

Um herauszufinden, inwieweit verschiedene Typen von Dialyse-Membranen (Cellulose-Membranen versus synthetische Membranen) die Endothelfunktion unterschiedlich beeinflussen, wurde bei zwölf Patienten die Endothel-abhängige Fluss-induzierte Vasodilatation der A. brachialis vor und nach der Hämodialyse untersucht.

Zudem wurde der Grad des mit dem Dialyse-Verfahren assoziierten oxidativen Stresses durch Messung des oxidierten Low-Density Lipoproteins (LDL) und  $\alpha$ -Tocopherol (Vitamin E) vor und nach der Hämodialyse bestimmt.

### 3 Patienten

#### 3.1 Studie I

Es wurden 25 Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz in die Untersuchung einbezogen. Voraussetzung für die Teilnahme war eine seit mindestens drei Monaten vorliegende Dialysepflichtigkeit. Ausschlusskriterien waren klinische Hinweise auf zerebrovaskuläre Erkrankungen, koronare Herzkrankheit, periphere arterielle Verschlusskrankheit, ein pathologisches EKG oder Belastungs-EKG, mittels Ultraschall sichtbare Plaques oder Verkalkungen der A. carotis oder A. brachialis sowie eine deutliche Neigung zur Dialyse-induzierten Hypotension.

Alle Patienten wurden dreimal wöchentlich für eine Zeitdauer von jeweils drei bis vier Stunden dialysiert. Die durchschnittliche Dauer der Dialysepflichtigkeit lag bei 60 Monaten. In vier Fällen trat die Niereninsuffizienz als Folge einer zystischen Veränderung derselben auf. In jeweils drei weiteren Fällen konnten eine Glomerulonephritis, eine interstitielle Nephritis, eine Kollagenose oder/und eine diabetische Nephropathie als Ursache herangezogen werden. In jeweils einem Fall wurde die Niereninsuffizienz durch Trauma, ischämische Nephritis oder eine Nephrokalzinose bedingt. In den verbleibenden Fällen konnte keine Ursache eruiert werden. Von den 25 Patienten wurden sieben Patienten antihypertensiv behandelt. Die antihypertensive Behandlung wurde wie folgt durchgeführt:

- Vier Patienten erhielten eine antihypertensive Monotherapie (ACE-Hemmer),
- drei Patienten wurden mit zwei Antihypertensiva behandelt (ACE-Hemmer und Calcium-Antagonist).

Die letzte Einnahme aller antihypertensiven oder vasoaktiven Substanzen lag mindestens zwölf Stunden vor Untersuchungsbeginn.

Nüchtern-Serum-Konzentrationen von Kreatinin, Gesamt-Cholesterin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride, HbA1c, Hämoglobin, Gesamt-Calcium und Phosphat wurden durch Standard-Labor-Untersuchungen bestimmt. Die Parathormon-Konzentration wurde mittels immunradiometrischer Untersuchung bestimmt.

Der BMI (Body mass index) wurde nach folgender Formel berechnet:

$$\text{BMI} = \text{Körpergewicht (kg)} / \text{Körpergröße (m)}^2.$$

Die klinischen und biochemischen Daten der 25 Patienten werden in Tabelle 1 gezeigt.

Parameter	
Alter (Jahre):	52.8 ± 8.0
Geschlecht (männlich/weiblich):	12 / 13
Raucher:	4
BMI:	24.4 ± 3.6
Kreatinin (mg/dl):	8.31 ± 0.55
Gesamt-Cholesterin (mg/dl):	204 ± 23
Gesamt-Triglycerin (mg/dl):	214 ± 27
HDL-Cholesterin (mg/dl):	37.29 ± 3.24
LDL-Cholesterin (mg/dl):	111.76 ± 8.60
Lipoprotein(a) (mg/dl):	41.23 ± 7.90
HbA1c (%):	4.96 ± 0.14
Hämoglobin (mg/dl):	10.3 ± 1.0
Leukozyten (Tsd./ $\mu$ l):	7.44 ± 0.62
Parathormon (pg/ml):	103 ± 25
Calcium (mmol/l)	1.29 ± 0.06
Anorg. Phosphat (mg/dl)	5.88 ± 0.48
Dauer der Hämodialyse (Monate):	63.3 ± 17
Dauer der Hämodialyse (Minuten):	231.46 ± 7.88
Ultrafiltration (ml):	1430 ± 52

Tabelle 1: Klinische und biochemische Daten der Hämodialyse-Patienten (n = 25).  
Alle Werte entsprechen dem Mittelwert  $\pm$  SEM.

### 3.2 Studie II

In die Untersuchung wurden zwölf Hämodialyse-pflichtige Patienten eingeschlossen. Eine Mindestzeit der Dialysepflichtigkeit lag nicht vor, ansonsten galten die gleichen Ausschlusskriterien wie in Studie I. Alle Patienten wurden dreimal wöchentlich für eine Zeitdauer von jeweils drei bis vier Stunden dialysiert. Die durchschnittliche Dauer der Dialysepflichtigkeit betrug 20 Monate. Ursachen der terminalen Niereninsuffizienz waren chronische Glomerulonephritis (sechs Fälle), akute Glomerulonephritis (ein Fall), Zystennieren (ein Fall), interstitielle Nephritis (ein Fall), Kollagenose (ein Fall) und Nephrokalzinose (ein Fall). In einem Fall war die Ursache unbekannt.

Von den zwölf Patienten wurden vier Patienten antihypertensiv behandelt. Die antihypertensive Medikation bestand aus ACE-Inhibitoren (n = zwei Patienten) oder Calcium-Antagonisten in Kombination mit einem ACE-Inhibitor (n = zwei Patienten). Die antihypertensive Medikation wurde während der Studie nicht geändert. Die letzte Einnahme aller antihypertensiven oder vasoaktiven Substanzen lag mindestens zwölf Stunden vor Untersuchungsbeginn.

Klinische und biochemische Daten wurden wie in Studie I durch Standard-Labor-Untersuchungen bestimmt.

Parameter	
Alter (Jahre):	54 ± 3.0
Geschlecht (männlich/weiblich):	7 / 5
Raucher:	6
BMI:	22.8 ± 1.1
Kreatinin (mg/dl):	7.16 ± 0.88
Gesamt-Cholesterin (mg/dl):	219 ± 9
Gesamt-Triglycerin (mg/dl):	201 ± 8
Hämoglobin (mg/dl):	10.6 ± 1.2
Leukozyten (Tsd./ $\mu$ l):	7.88 ± 0.77
Parathormon (pg/ml):	112 ± 9
Calcium (mmol/l):	1.19 ± 0.04
Anorg. Phosphat (mg/dl):	4.73 ± 0.41
Dauer der Hämodialyse (Monate):	20 ± 2
Dauer der HD, Polysulfon-Membran (Minuten):	225.38 ± 9.63
Dauer der HD, Cuprophan-Membran (Minuten):	228.08 ± 7.89
Ultrafiltration, Polysulfon-Membran (ml):	1900 ± 223.25
Ultrafiltration, Cuprophan-Membran (ml):	2175 ± 208.12

Tabelle 2: Klinische und biochemische Daten der Hämodialyse-Patienten (n = 12), welche mit einem Cuprophan- und Polysulfon-Filter behandelt wurden.  
Alle Werte entsprechen dem Mittelwert ± SEM.



## **4 Material und Methoden**

### **4.1 Messung des arteriellen Blutdrucks**

Die Messung des arteriellen Blutdrucks erfolgte am rechten Arm, nachdem hier zuvor die Anlage einer arteriovenösen Fistel ausgeschlossen werden konnte. Der Druck wurde mittels eines automatisch fungierenden Sphygmomanometers (Critikon Dinamap model 1846 SX, Tampa, FL, USA) bestimmt. Nach einer zehnmütigen Ruhepause wurden fünf aufeinander folgende Messungen in einem Abstand von jeweils drei Minuten durchgeführt und zu einem Mittelwert verrechnet.

Zudem wurde die Pulswelle der A. carotis mittels (Applanations)-Tonometrie dargestellt (Mikro-Tip Pulse Transducer, SPT 301 und Transducer Control Unit TCB-500, Millar Instruments Inc., Houston, TX, USA). Die Druckwellenform der A. carotis wurde an dem zeitgleich gemessenen arteriellen Blutdruck der A. brachialis kalibriert. Dieses Verfahren geht davon aus, dass die in den großen Gefäßen vorliegenden mittleren arteriellen Drücke nicht wesentlich voneinander differieren. Die Herzfrequenz wurde anhand eines angelegten EKG's ermittelt.

### **4.2 Untersuchungen der funktionellen Wandeigenschaften großer arterieller Gefäße**

Die Untersuchungen wurden nach einer zehnmütigen Ruhephase in Rückenlage durchgeführt.

#### **4.2.1 Dopplerfrequenzanalyse der Gefäßwandbewegungen im M-Mode**

Ein neues Verfahren zur Bestimmung der lokalen Gefäßwanddehnbarkeit (arterielle Compliance) ist die Doppleranalyse im M-Mode pulssynchron bewegter Gefäßwände. Die linke A. carotis communis wurde 2 cm unterhalb der Bifurkation und die rechte A. brachialis 2-6 cm oberhalb der Ellenbeuge (Arm ohne AV-Fistel) mittels eines „7.5 Mhz linear array transducer“ (Scanner 2000, Pie Medical Equipment B.V., Maastricht, Niederlande) in longitudinaler Projektion in B- und M-Mode dargestellt (Abbildung 3). Gefäßdurchmesser und Distension wurden mittels eines „multigate pulsed Doppler system“ (Pie Medical Equipment B.V., Maastricht, Niederlande) berechnet. Durch diese neueren mehrkanaligen, gepulsten Dopplergeräte kann die systolisch-diastolische Gefäßwandbewegung großer Arterien registriert und aus der Beziehung zwischen Durch-

messeränderung und Blutdruckamplitude die lokale Gefäßwandelastizität ermittelt werden (8, 42, 44, 43, 91).

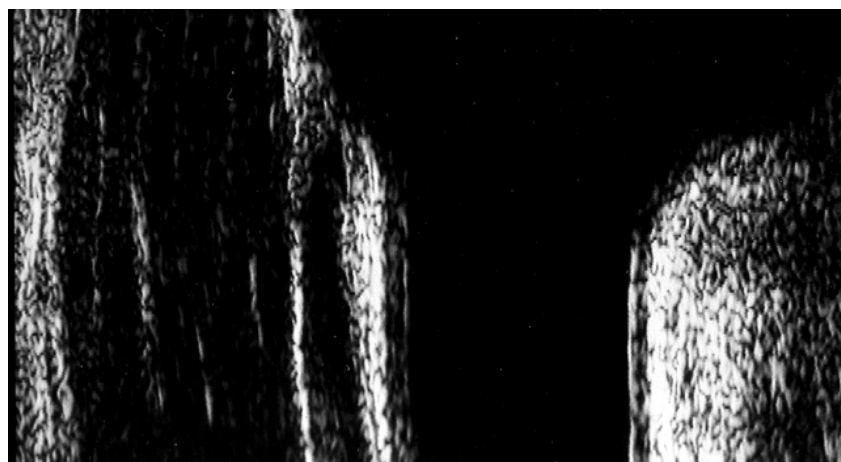
Die Bestimmung der arteriellen Distensibilität erfolgt durch Doppler-Analyse der pulssynchronen Gefäßwandbewegungen. Hierzu wird das Gefäß in M-Mode dargestellt. Aus dem RF-Signal des M-Mode-Echos kann durch ein „personal computer system“ eine Doppler-Analyse innerhalb von Datenfenstern durchgeführt werden. Diese Datenfenster werden im Bereich der anterioren und der posterioren Gefäßwand im Intimabereich positioniert (Abbildung 4).

Im Gegensatz zur konventionellen Doppler-Sonographie wird das Doppler-Signal der Gefäßwand verarbeitet. Die Geschwindigkeit der Gefäßwandbewegung ist im Vergleich zur Blutströmungsgeschwindigkeit relativ langsam, so dass eine niedrigere Repräsentationsfrequenz verwendet werden muss. Die Gefäßwandbewegung kann als zeitabhängige Kurve aufgezeichnet werden (Abbildung 5).

Durch diese nicht-invasive Ultraschalltechnik wird neben dem enddiastolischen Gefäßdurchmesser ( $d$  [mm]) die systolische Zunahme des Gefäßdurchmessers (Distension,  $\Delta d$  [ $\mu\text{m}$ ]) gemessen. Durch Verrechnung dieser Daten mit dem systolischen und diastolischen RR erhält man die relative systolische Zunahme des Gefäßdurchmessers ( $\Delta d \times d^{-1}$  [%]) und den Distensibilitätskoeffizienten der Arterienwand ( $DC = 2 \Delta d \times d^{-1} / [\text{SBP} - \text{DBP}] [10^{-3} / \text{kPa}]$ ) (8, 42, 43, 91).

Die Koeffizienten der Variation betragen für den enddiastolischen Durchmesser 3,4 %, für die relative systolische Zunahme des Gefäßdurchmessers 7,4 % und für den Distensibilitätskoeffizienten 10,8 %.

Zusätzlich wurde die isobarische Distensibilität der A. carotis bei einem Druck von 100 mmHg und einem angelegten Druckfenster von 10 mmHg berechnet (Abbildung 6). Hierfür wurde eine mit Igor pro Software (WaveMetrics Inc., Lake Oswego, Oregon, USA) programmierte Prozedur, welche von Wisstech GmbH (Sprechbach, Deutschland) entwickelt wurde, verwendet.



A. carotis

Abbildung 3: Hochauflösender Ultraschall der A. carotis in B-Mode.

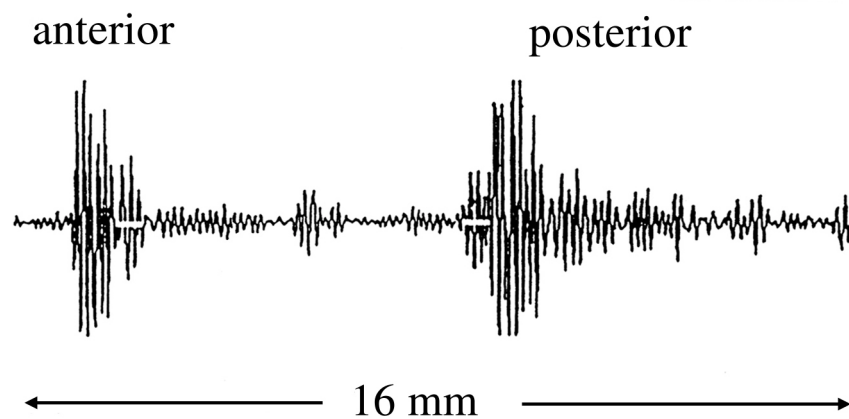


Abbildung 4: Darstellung der vorderen und hinteren Gefäßwand zum Zeitpunkt der R-Zacke im EKG. Die Datenfenster sind im Bereich der Intima (Cursor) lokalisiert.

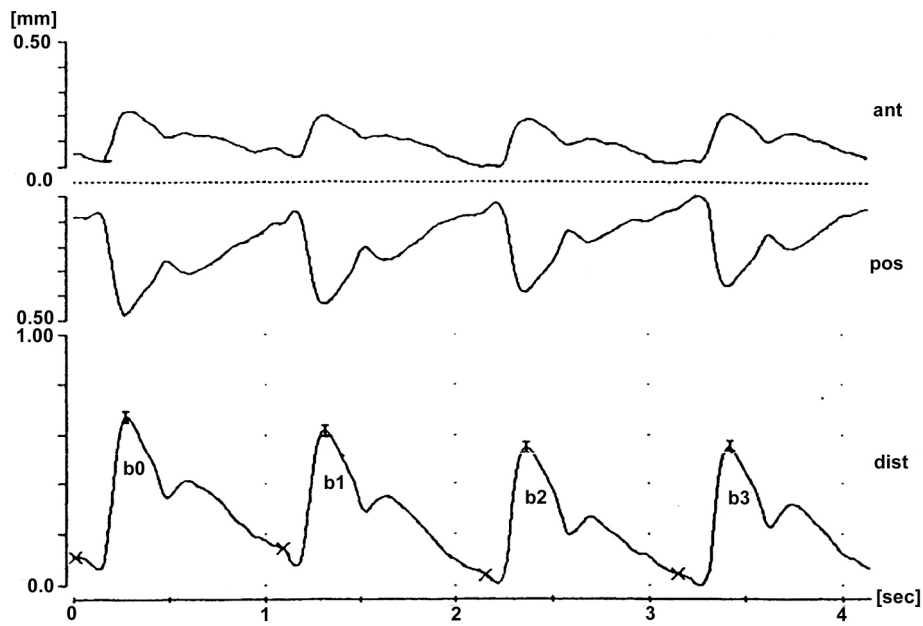


Abbildung 5: Beispiel einer simultanen Aufzeichnung der Bewegung der Vorder- und der Hinterwand der A. carotis communis über vier Herzzyklen sowie die Darstellung der diastolisch-systolischen Durchmesseränderung. Das x steht jeweils für den EKG-Trigger (R-Zacke).

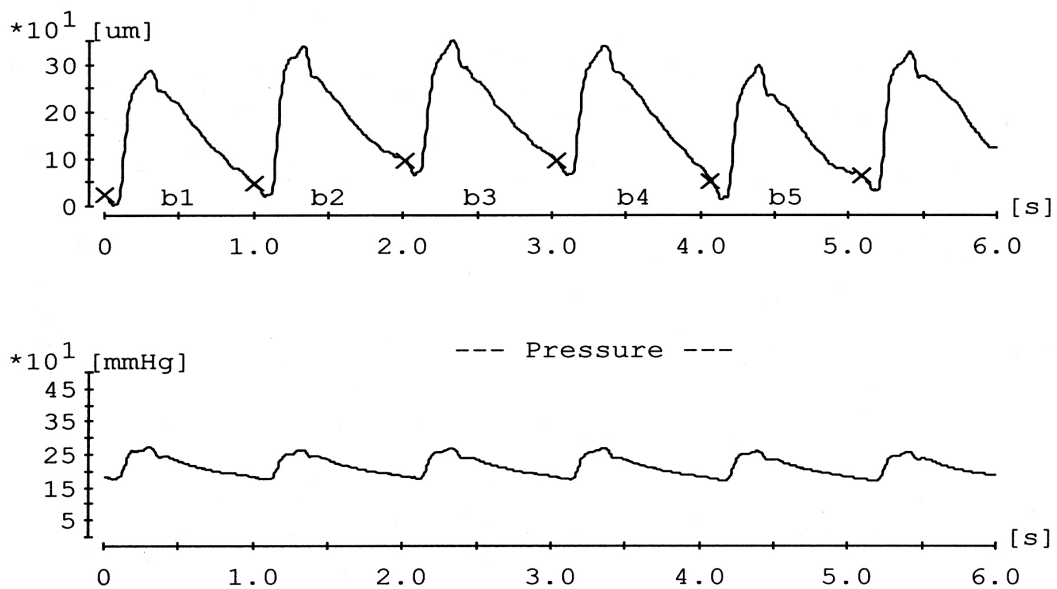


Abbildung 6: Darstellung der diastolisch-systolischen Durchmesseränderung. Das x steht jeweils für den EKG-Trigger (R-Zacke) sowie zeitabhängige Registrierung der Pulscontur der A. carotis.

#### 4.2.2 Pulswellengeschwindigkeit (PWG)

In der vorliegenden Untersuchung wurde die PWG auf nicht-invasivem Weg mit Hilfe eines automatisch fungierenden Complior-Systems bestimmt. Es wurde hier die Pulswellengeschwindigkeit zwischen A. carotis und A. femoralis bestimmt, also die aortale Pulswellengeschwindigkeit als Maß der aortalen Elastizität, die sich mit Ultraschallverfahren direkt nur schwer messen lässt. Die PWG wurde unter Einbeziehung der Distanz (m) und der Transit-Zeit der Pulswelle (s) zwischen zwei Pulsabnehmern nach folgender Formel berechnet:  $(PWG = \text{Distanz [m]} / \text{Transit-Zeit [s]})$ .

Unter der Transit-Zeit (Laufzeit) der Pulswelle versteht man die Verspätungszeit, welche vom Erscheinen der Pulswelle am herznahen Pulsabnehmer bis zum Auftreten der Pulswelle am herzfernen Pulsabnehmer verstreicht (98). Die Verspätungszeit lässt sich aus den Messwerten errechnen, die durch die gleichzeitige Aufzeichnung der pulsatorischen Druckschwankung an zwei verschiedenen Punkten des arteriellen Systems gewonnen werden.

Die Aquisitionsfrequenz der Druckwellen-Form betrug 500 Hz. Sie wurde durch den Gebrauch von zwei Druck-Transducern (TY-306, Fukuda Denshi Co., Tokyo, Japan), welche an der A. carotis und der A. femoralis platziert wurden und mit einem automatisch fungierenden Processor (Complior Colson AS, Paris, Frankreich) verbunden waren, erhalten. Die Bestimmung der Entfernung zwischen den Pulsabnehmern erfolgte indirekt durch Messung der Wegstrecke mittels eines Maßbandes an der Körperoberfläche des Patienten. Alle Messungen wurden von der gleichen Person durchgeführt. Dabei betrug der Reproduzierbarkeits-Koeffizient innerhalb des Untersuchers, welcher durch Untersuchung von zehn „normalen“ Personen erhoben wurde, 0,92 (Abbildung 7).

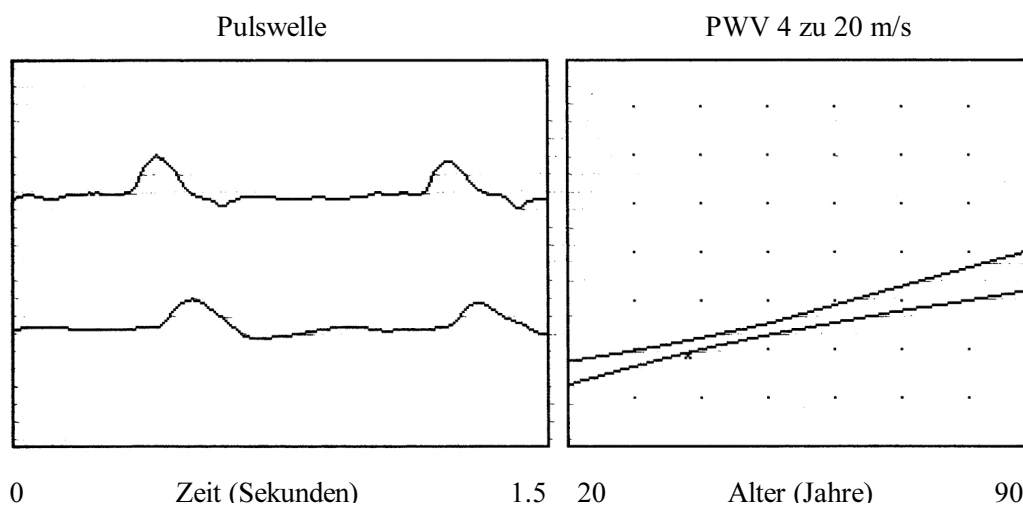


Abbildung 7: Transkutan registrierte Pulswelle der A. carotis (oben) sowie der A. femoralis (unten).

#### 4.2.3 Fluss-induzierte Vasodilatation

Nach dem oben beschriebenen Vorgehen (mittels des „multigate pulsed doppler system“) wurden drei Messungen des enddiastolischen Durchmessers der A. brachialis durchgeführt. Die gemessenen Werte wurden zu einem Mittelwert verrechnet und dienen als Ausgangswert. Im Anschluss hieran wurde mindestens 10 cm unterhalb des Messortes ein Cuff angelegt, welcher für insgesamt vier Minuten einen Druck von 300 mmHg auf den Unterarm ausübte. Während der letzten Minute und in Abständen von einer, zwei, drei, vier, fünf, sieben und zehn Minuten nach Ablassen des Druckes wurden erneut Messungen durchgeführt. Zudem wurde der Blutfluss in der A. brachialis in Ruhe und während der ersten 15 Sekunden nach Ablassen des Druckes (Phase der reaktiven Hyperämie) mittels „pulsed doppler“ geschätzt. Hierdurch konnte der Grad der reaktiven Hyperämie in Prozent des basalen Blutflusses berechnet werden.

Die Fluss-induzierte Vasodilatation wurde aus dem maximal-absoluten und relativen Anstieg des Durchmessers der A. brachialis während der reaktiven Hyperämie in Bezug zum enddiastolischen Durchmesser in Ruhe (Ausgangswert) bestimmt.

#### 4.2.4 Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation

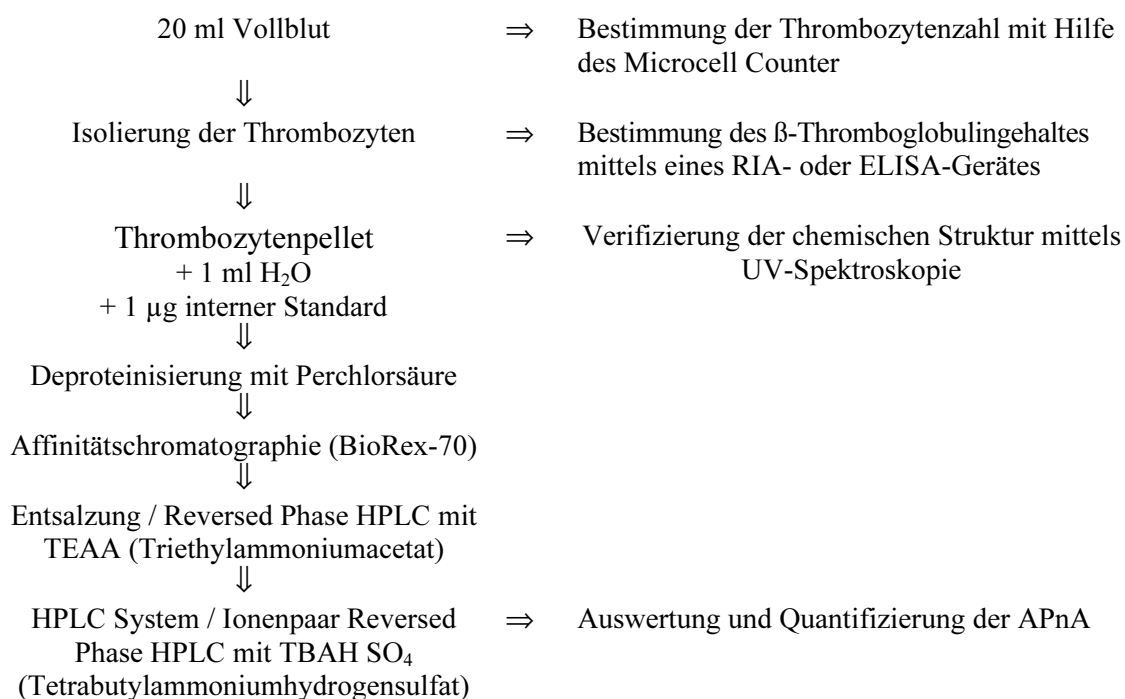
Ca. elf Minuten nach Ablassen des Druckes (der Gefäßdurchmesser ist wieder zum Ausgangswert zurückgekehrt) wurden 400 µg Glycerol-Trinitrat sublingual verabreicht.

Nach einer, drei und fünf Minuten wurden erneut Messungen durchgeführt. Entsprechend der FV wurde die Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation aus der maximal absoluten und relativen Zunahme des Diameters der A. brachialis (in Prozent vom Ausgangsdurchmesser) berechnet.

### 4.3 Bestimmung des thrombozytären Gehaltes an Diadenosinpolyphosphaten

In der vorliegenden Arbeit wurden die thrombozytären APnA mit Hilfe der Affinitätschromatographie und der Reversed Phase HPLC isoliert und durch „Ionenpaar Reversed Phase HPLC“ quantifiziert.

#### 4.3.1 Schematische Darstellung der Synthese und Analyse zur Quantifizierung von AP3A bis AP6A



#### 4.3.2 Reagentien

Die Diadenosin Tri-, Tetra-, Penta- und Hexaphosphate, welche als NH<sub>4</sub><sup>+</sup>-Salze vorliegen, sowie alle Chemikalien, die für das HPLC-Verfahren benötigt wurden, wurden von der Firma Sigma aus Dreisenhofen (Deutschland) bezogen. Der Anionenaustauscher BioRex wurde von der Firma Bio-Rad aus München (Deutschland) geliefert.

### 4.3.3 Gewinnung der Thrombozyten aus 20 ml Vollblut

Als Probe diente Vollblut, welches in 2 x 10 ml EDTA-Monovetten abgenommen wurde. Zur Isolierung der Thrombozyten wurde die gesamte Probe bei 1000 rpm (173 g) zehn Minuten lang zentrifugiert. Im Anschluss wurde der plättchenreiche Überstand nochmals für zehn Minuten bei 4000 rpm (2772 g) zentrifugiert. Dazu wurde eine Megafuge 1.0R, Heraeus Sepatech aus Osterode (Deutschland) benutzt. Das entstandene Thrombozytenpellet wurde durch Dekantieren vom Plasma getrennt. Anschließend wurde das Pellet zweimal mit 1 ml isotoner Kochsalz-Lösung gewaschen und bei -20 Grad Celsius über Nacht gelagert (durch das Einfrieren erreicht man eine Kristallisation der Thrombozyten, wodurch diese platzen und ihre Inhaltsstoffe freisetzen). Am folgenden Tag wurde das tiefgefrorene Pellet in 1 ml deionisiertem Wasser gelöst.

### 4.3.4 Der interne Standard

Der Suspension wurde  $\epsilon$ -AP6A als interner Standard beigelegt. Es handelt sich um ein mit Chloracetaldehyd derivatisiertes AP6A-Molekül, welches eine ähnliche chemische Struktur wie die gesuchten Diadenosinpolyphosphate (DAP) aufweist und diesen somit bezüglich ihrer chemischen Eigenschaften gleicht. Bei den anschließenden chromatographischen Trennungen kann es zu nicht vorhersehbaren Verlusten der Dinukleotide kommen. Durch die oben genannte Beimengung des internen Standards ist es möglich, diesen Verlust mengenmäßig zu erfassen, da mögliche Verluste der DAP in gleichem Maß auftreten wie Verluste des internen Standards.

Der interne Standard wurde nach dem von Rotilan beschriebenen Verfahren synthetisiert und isoliert (95).

### 4.3.5 Deproteinisierung der Thrombozytenpellets mit Perchlorsäure

Zur Deproteinisierung wurden tropfenweise 200  $\mu$ l einer 70%igen Perchlorsäure (PCA) zugegeben, die hierdurch erreichte Endkonzentration betrug 1.0 M. Zur raschen Neutralisierung wurde KOH hinzugegeben, wobei Kaliumperchlorat ausfiel. Diese Präzipitation wurde durch Lagerung der Probe bei 4 °C für 30 min gesteigert. Durch Zentrifugation für zehn Minuten bei 4000 rpm (2772 g) konnte ein klarer Überstand gewonnen werden, der mittels eines „vacuum concentrator systems“ einer Lyophilisierung unter-



zogen wurde (centrifuge VR1 und cooling trap CZ 60e, Systec GmbH Labor-Systemtechnik aus Wettenberg, Deutschland; Vakuum Pumpe MZ 2C, Vacuubrand aus Wertheim, Deutschland). Vor der sich anschließenden Affinitäts-Chromatographie wurden die resultierenden Pellets bei  $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$  gelagert.

#### **4.3.6 Affinitätschromatographie (Chromatographie auf Dihydroxyboryl BioRex-70)**

Die Herstellung des Dihydroxyboryl BioRex-70 erfolgte nach der Beschreibung von Baker und Jakobsen (5). Die Affinitätschromatographie diente der Separation der Dinukleotide von anderen Inhaltsstoffen der Thrombozyten wie z.B. ATP. Vor Beginn der Chromatographie wurde das Harz in eine Glassäule (10 x 100 mm, Supelco aus Deisenhofen, Deutschland) gefüllt. Im Rahmen der angestrebten Äquilibrierung wurde das Harz in Abfolge mit einer Fließgeschwindigkeit von 3 ml/min mit deionisiertem Wasser, 1 mM Hydrochloridsäure, deionisiertem Wasser und 1 M Ammoniumacetat-Lösung ( $\text{NH}_4\text{OAc}$ ,  $\text{pH} = 9.0$ ) gewaschen (Waters HPLC pump M510, Eschborn, Deutschland). Dieser Vorgang wurde so oft wiederholt, bis die bezüglich der UV-Absorptions- und Leitfähigkeit angestrebten Basisbedingungen (bei 254 nm), welche durch ein UV-Spektrometer bei 254 nm permanent registriert und aufgezeichnet wurden, erreicht waren (UV-Spektrometer, Pharmazia Biotech aus Freiburg, Deutschland). Die Glassäule enthielt nun ca. 2 g des derivatisierten Harzes, welches in der Lage ist, die APnA-Menge aus den Thrombozyten von ca. 20 ml menschlichem Blut zu extrahieren. Die lyophilisierten Pellets (Präparation siehe oben) wurden in 800  $\mu\text{l}$  1 M  $\text{NH}_4\text{OAc}$  ( $\text{pH} = 9.0$ ) aufgelöst und mit Hilfe eines „Rheodyne injection“-Systems in den Glashals injiziert (Injektionsschleife 1 ml, Fließgeschwindigkeit 0,5 ml/min). Nach eineinhalb Stunden erfolgte die Elution der retinierten Dinukleotide mit 1 mM Salzsäure-Lösung und einer Fließgeschwindigkeit von 1.0 ml/min. Das gewonnene Eluat wurde lyophilisiert.

#### **4.3.7 Entsalzung/Reversed Phase HPLC mit TEAA**

Im Eluat der Affinitätschromatographie befand sich noch Ammoniumsalz, welches aus der Waschlösung stammte. In Gegenwart von Salzen können Dinukleotide nicht vollständig an die stationäre Phase der für die Quantifizierung notwendigen RP-Säule anbinden. Um eine Beeinflussung des HPLC-Verfahrens zu vermeiden, wurde das Eluat einer Entsalzung unterzogen. Hierzu wurde das lyophilisierte Eluat in 800  $\mu\text{l}$  40 mM

Triethylammoniumacetat (TEAA) gelöst und über eine 1 ml Schleife in ein „Smart HPLC-System“ (Pharmazia aus Freiburg, Deutschland) injiziert. Es wurde eine LiChrospher 100 RP-18 Säule (250 x 3 mm, 5µm, Merck) verwendet, welche zu deren Protektion mit einer austauschbaren Vorsäule (4 x 4 mm) ausgestattet war. Diese Vorsäule enthielt das gleiche Füllungsmaterial wie die eigentliche Trennsäule und wurde nach ca. 100 Entsalzungsverfahren erneuert. Mit Hilfe der kationischen Ionenpaar-Reagenz Triethylammoniumacetat wurden die Dinukleotide aus der Affinitätschromatographie an die stationäre Phase gebunden. Nachdem das System für 20 min mit 40 mM TEAA gewaschen wurde, erfolgte die Elution der gereinigten Probe mit 80%igem Acetonitril. Im Rahmen der sich anschließenden Lyophilisierung wurde flüchtiges Triethylamin beseitigt.

#### **4.3.8 HPLC System/Ionenpaar Reversed Phase HPLC mit TBAH SO<sub>4</sub> (Tetrabutylammoniumhydrogensulfat)**

Die entsalzte Probe wurde zur weiteren Auftrennung über die „Reversed Phase HPLC-Säule“ (LaChrom L-7100, Merck, Darmstadt, Deutschland) gegeben. Hierbei erfolgte eine peakweise Fraktionierung der Probe, um die Identität der Substanzen massenspektrometrisch klären zu können.

Die HPLC-Säule war mit einem UV-Detektor (LaChrom L-7400, Merck) ausgestattet. Die Analyse wurde mit der LaChrom D-7000 HPLC System Manager Software (Merck) durchgeführt. Für die Ionenpaar Reversed Phase Chromatographie wurde eine LiChrospher 100 RP-18 Säule (250 x 3 mm, 5µm, Merck) verwendet, welche zur Protektion mit einer austauschbaren Vorsäule (4 x 4 mm) ausgestattet war. Diese Vorsäule enthielt das gleiche Füllungsmaterial wie die eigentliche Trennsäule und wurde wöchentlich erneuert. Die aus der Entsalzungsphase resultierenden lyophilisierten Proben wurden in 25 µl Wasser gelöst und in eine 20 µl-Injektionsschleife injiziert. Lösungsmittel A setzte sich aus 50 mM KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> und 8 mM Tetra-n-Butylammonium-Hydrogensulfat (TBAHSO<sub>4</sub>) zusammen und wies einen durch Phosphorsäure eingestellten pH-Wert von 6.5 auf.

Lösungsmittel B bestand aus Acetonitril (80%) und Wasser. Vor Gebrauch wurden alle Lösungsmittel in einem Ultraschall-Bad (Sonorex Super RK 514, Bandelin electronic, Berlin, Deutschland) entgast. Die UV-Absorption wurde bei 254 nm gemessen. Mit Lösungsmittel A erfolgte die Äquilibrierung. Das Gradientenprogramm verlief folgendermaßen:

0 min – 100 % A

38 min – 68 % A

50 min – 50 % A

10 min – 93 % A

40 min – 50 % A

Die Retentions-Zeiten betragen:

AP3A: 27,9 min

AP5A: 36,3 min

e-AP6A: 40,4 min

AP4A: 33,3 min

AP6A: 37,6 min

Die erkaufte Standards (APnA)  $n = 3-6$  wurden ebenfalls zu den beobachteten Retentionszeiten eluiert. Ein typisches Elutionsprofil der „Ionenpaar-Reversed Phase HPLC“ zur Bestimmung der Diadenosinpolyphosphate menschlicher Thrombozyten ist in Abbildung 8 dargestellt.

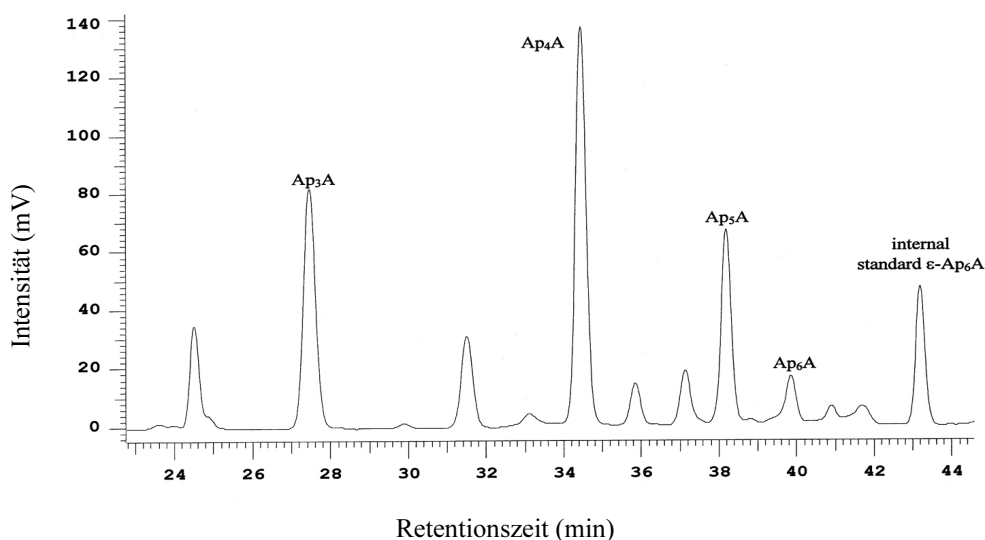


Abbildung 8: Elutionsprofil der Ionenpaar-Reversed Phase HPLC zur Bestimmung der Diadenosinpolyphosphate am Beispiel eines gesunden Probanden.

Die Zuordnung der Substanzen erfolgte mit Hilfe der Retentionszeiten von Standardsubstanzen. Die Retentionszeiten steigen mit zunehmender Anzahl der Phosphatgruppen. Aufgrund der höheren molekularen Masse wird der interne Standard als letztes eluiert.

### **4.3.9 Quantitative Auswertung der Diadenosinpolyphosphate**

Den Thrombozytenpellets wurde vor der weiteren Aufbereitung ein interner Standard ( $\epsilon$ -AP6A) beigefügt, um mögliche Verluste durch die Aufarbeitung mengenmäßig zu erfassen.

Die quantitative Auswertung der Diadenosinpolyphosphate wurde über die relative Wiedererlangensrate der APnA's in Bezug auf die des internen Standards  $\epsilon$ -AP6A, welcher mit 100 % gleichgesetzt wurde, berechnet.

### **4.3.10 Bestimmung der Thrombozyten-Anzahl**

Die Plättchen-Anzahl wurde durch einen Microzell-Zähler mit Selbstverdünner bestimmt (Sysmex, Düsseldorf, Deutschland).

### **4.3.11 Bestimmung des $\beta$ -Thromboglobulingehaltes der Plättchen**

Von der initialen Thrombozytenpellet-Suspension wurde eine Probe von 50  $\mu$ l um den Faktor 1000 verdünnt. Danach wurde der Gehalt an  $\beta$ -Thromboglobulin, ein für Thrombozyten spezifisches Protein, unter Verwendung eines RIA-Gerätes der Firma Demediatec aus Kiel, Deutschland oder eines ELISA-Gerätes der Firma Boehringer aus Mannheim, Deutschland bestimmt. Beide Geräte erzielten die gleichen Ergebnisse.

## **4.4 Bestimmung des Vitamin E-Spiegels**

Die Bestimmung des Vitamin E-Spiegels erfolgte durch HPLC.

## **4.5 Bestimmung des oxidierten LDH**

Die Bestimmung erfolgte unter Verwendung eines oxidierten LDL capture kit (Merco-dia, Uppsala, Schweden) mit spezifischem monoklonalem Antikörper 4E6 der Maus (5).

## **4.6 Das Protokoll**

### **4.6.1 Studie I**

Die Untersuchung wurde zum erstenmal unmittelbar vor der Dialyse (gegen 8 Uhr) durchgeführt. Jeder Patient wurde zunächst in eine liegende Position gebracht. Nach ei-

ner zehnminütigen Ruhepause wurde mit der Untersuchung begonnen. Nach der Bestimmung des Blutdrucks wurde unter Anwendung des Complior-Systems die arterielle PWG bestimmt.

Im Anschluss hieran wurde die Tonometrie der rechten A. carotis und die Messung der Distensibilität der linken A. carotis für die Berechnung der isobarischen Distensibilität durchgeführt. Danach wurde die A. brachialis am Arm ohne AV-Fistel hinsichtlich ihrer Distensibilität sowie Fluss- und Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation untersucht. Direkt nach der Hämodialyse-Behandlung sowie am folgenden (dialysefreien) Tag (hier gegen 8 und 10 Uhr) wurde das gleiche Protokoll erneut durchgeführt.

Die Blutentnahme zur Bestimmung der thrombozytären Diadenosinpolyphosphat-Konzentration (20 ml Blut, in EDTA-Monovetten, welche 1.2–2 mg EDTA/ml Blut enthalten) wurde unmittelbar vor Beginn und vor Ende der Hämodialyse sowie am dialysefreien Tag durchgeführt.

#### **4.6.2 Studie II**

In dieser Studie wurden nur hämodynamische Parameter sowie die endothelabhängige und -unabhängige Vasodilatation der A. brachialis gemessen. Die Patienten wurden im Rahmen einer blinden Cross-over-Studie randomisiert sowie einer Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran (F6 HPS, UF-Koeffizient 8.5 ml/h.mmHg, 1.3 sqm, dampfsterilisiert, Fresenius®) oder einer Cuprophan-Membran (Alwall GFS 12, UF-Koeffizient 6.5 ml/h.mmHg, 1.3 sqm, dampfsterilisiert, Gambro®) zugeteilt. In der nächsten Hämodialyse-Sitzung wurden sie mit der anderen Membran dialysiert.

Alle Patienten wurden durch den gleichen Untersucher, welcher nicht über die verwendete Membran (Cuprophan versus Polysulfon) informiert war, untersucht, und zwar jeweils direkt vor und direkt nach einer Dialysebehandlung, also insgesamt viermal.

Die Blutentnahme für die Bestimmung des oxidativen Stresses ( $\alpha$ -Tocopherol, oxidiertes LDL) erfolgte unmittelbar vor Beginn der Hämodialyse sowie fünf Minuten vor Beendigung der Hämodialyse. Die Blutproben wurden direkt nach der Entnahme zentrifugiert und bei –20 Grad eingefroren.

#### 4.7 Datenanalyse und Statistik (Studie I und Studie II)

Die gewonnenen Daten werden als Mittelwert  $\pm$  Standardfehler (SEM) präsentiert. Die statistische Analyse wurde mit der Computer-Software SPSS (Statistical Package of Social Science, 9.0, 1999, SPSS Inc., Chicago, IL, USA) durchgeführt. Der Effekt der Dialyse-Behandlung auf die gemessenen Parameter wurde mittels „repeated measures ANOVA“ und „post-hoc comparisons (planned contrasts)“ ermittelt. Der Einfluss anderer Variablen wurde durch die Analyse von Kovarianzen getestet. Statistische Signifikanz wurde bei einem  $p < 0,05$  angenommen.

Die Aussagekraft dieser Studie wurde in Kooperation mit dem Institut für Biomathematik der Universität Münster bewertet. Es wurde angenommen, dass Veränderungen, die um eine Standardabweichung von den errechneten Mittelwerten abweichen, von klinischer Bedeutung sind. In vorherigen Studien unserer Laboratorien wurde in verschiedenen Patienten-Gruppen gezeigt, dass Messungen von funktionellen Gefäßwandparametern Standardabweichungen von weniger als 30 % des Mittelwertes aufweisen.

Um bezüglich eines Parameters im Vergleich prä- und post-Dialyse eine Veränderung des Mittelwertes um 1 Standardabweichung mit einer Aussagekraft von 80 % und einem Typ 1-Fehler von 5 % zu entdecken, sind 10 Patienten notwendig. Demnach kann angenommen werden, dass die Anzahl der untersuchten Patienten (Studie I  $n=25$ ; Studie II  $n=12$ ) groß genug ist, um physiologisch signifikante Veränderungen in Bezug auf Gefäßwandeigenschaften festzustellen. Statistische Signifikanz wurde bei einem  $p < 0,05$  angenommen.

## 5 Ergebnisse

### 5.1 Studie I

#### 5.1.1 Hämodynamische Parameter (RR syst. und diast., Pulsdruck, Herzfrequenz)

Der Blutdruck hat sich über die Zeit nicht signifikant verändert. Es ist lediglich eine leichte Zunahme des Pulsdruckes und der Herzfrequenz zu beobachten, was jedoch keine statistische Signifikanz erreicht (Tabelle 3).

#### 5.1.2 Compliance (DC A. carotis, DC A. brachialis, PWG)

##### 5.1.2.1 Distensibilitätskoeffizient der A. carotis

Der Distensibilitätskoeffizient der A. carotis sank von  $18.4 \pm 1.4 \cdot 10^{-3} / \text{kPa}$  vor der Dialyse signifikant auf  $15.9 \pm 1.4 \cdot 10^{-3} / \text{kPa}$  nach der Dialyse und stieg bis zum nächsten Tag auf  $20.5 \pm 1.6 \cdot 10^{-3} / \text{kPa}$  an ( $p < 0.05$ , Abbildung 9).

Durch Tonometrie und Berechnung der isobarischen Distensibilität bei 100 mmHg konnten diese Daten bezüglich der Blutdruckveränderungen korrigiert werden. Hierdurch entfiel die zuvor signifikante Differenz ( $16.3 \pm 2.7 \cdot 10^{-3} / \text{kPa}$  vor der Dialyse,  $18.9 \pm 2.9 \cdot 10^{-3} / \text{kPa}$  nach der Dialyse und  $15.4 \pm 2.6 \cdot 10^{-3} / \text{kPa}$  am dialysefreien Tag) (Abbildung 9).

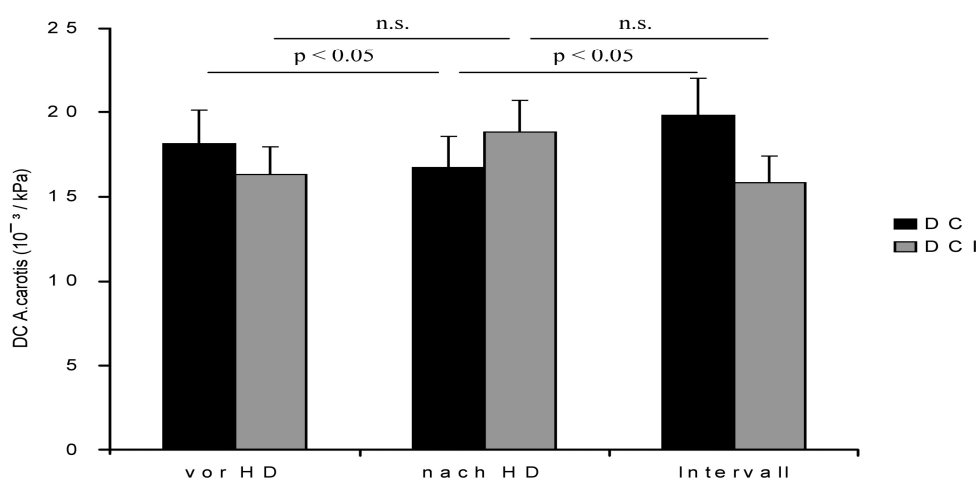


Abbildung 9: Distensibilitätskoeffizient (DC) und isobarischer Distensibilitätskoeffizient bei 100 mmHg (DCI) der A. carotis von 25 HD-pflichtigen Patienten vor und nach der HD sowie am HD-freien Tag.

### 5.1.2.2 Distensibilitätskoeffizient der A. brachialis

Bezüglich des Distensibilitätskoeffizienten der A. brachialis konnte keine signifikante Veränderung festgestellt werden ( $13.8 \pm 1.5 \cdot 10^{-3}$  / kPa vor der Dialyse,  $13.4 \pm 1.2 \cdot 10^{-3}$  / kPa nach der Dialyse und  $14.2 \pm 1.4 \cdot 10^{-3}$  / kPa am dialysefreien Tag).

Der Distensibilitätskoeffizient der A. carotis korrelierte negativ mit dem Alter ( $r = -0.59$ ,  $p < 0.05$ ) und der Dauer der Dialysepflichtigkeit ( $r = -0.51$ ,  $p < 0.05$ ). Die A. brachialis betreffend konnte eine solche Korrelation nicht beobachtet werden.

### 5.1.2.3 Aortale Pulswellengeschwindigkeit

Die aortale Pulswellengeschwindigkeit wies ebenfalls keine signifikanten Veränderungen auf (Tabelle 3).

## 5.1.3 Endothelabhängige und -unabhängige Vasodilatation der A. brachialis (FV, NV)

### 5.1.3.1 Fluss-induzierte Vasodilatation (FV)

Der Diameter der A. brachialis veränderte sich zu keinem Zeitpunkt signifikant. Der Ausgangswert der „flow-mediated vasodilatation“ lag vor der Dialyse bei 8.08 % und hat sich im weiteren Verlauf nicht signifikant verändert (Tabelle 3).

Die Zunahme des Blutflusses nach Abnahme des Cuffs (Aufhebung der Okklusion) wurde mit Hilfe des gepulsten Dopplers bestimmt. Auch diesbezüglich konnte keine signifikante Veränderung im Verlauf beobachtet werden (vor der HD  $421 \pm 27$  %, nach der HD  $411 \pm 20$  %, im dialysefreien Intervall  $425 \pm 25$  %, n.s.).

Bezüglich der Fluss-induzierten Vasodilatation und des Distensibilitätskoeffizienten der A. brachialis ( $r = 0.15$ ) ließ sich keine Korrelation feststellen.

In der Analyse der Kovarianzen zeigte sich, dass die Veränderung der arteriellen Distensibilität und der FMD unabhängig vom arteriellen Gefäßdurchmesser sowie vom arteriellen Blutdruck waren.

### 5.1.3.2 Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation (NV)

Der Ausgangswert der Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation lag vor der Dialyse bei 21.64 % und hat sich im weiteren Verlauf nicht signifikant verändert.



Parameter	vor HD	nach HD	Intervall
systolischer Blutdruck (mmHg)	132 ± 4	138 ± 4	130 ± 3
diastolischer Blutdruck (mmHg)	72 ± 2	72 ± 2	73 ± 2
Herzfrequenz (Schläge/min)	87 ± 4	90 ± 5	85 ± 5
Diameter der A. carotis (mm)	8.1 ± 0,7	8.0 ± 0,5	8.0 ± 0.7
rel. Distension der A. carotis (%)	7.0 ± 0.9	6.4 ± 0.8	7.3 ± 0.7
Diameter der A. brachialis (mm)	4.6 ± 0.2	4.5 ± 0.4	4.6 ± 0.2
rel. Distension der A. brachialis (%)	5.4 ± 0.6	5.2 ± 0.8	5.1 ± 0.9
Distensibilitätskoeffizient der A. brachialis (10 <sup>-3</sup> / kPa)	13.8 ± 2.0	13.2 ± 2.0	13.8 ± 2.0
aortale Pulswellengeschwindigkeit (m/s)	12.6 ± 0.7	12.8 ± 0.8	11.9 ± 0.6
Fluss-induzierte Vasodilatation (%)	7.9 ± 1.8	6.8 ± 2.1	7.1 ± 2.0
Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation (%)	22.0 ± 4.0	21.0 ± 4.0	22.0 ± 3.0

Tabelle 3: Blutdruck, Herzfrequenz und die gemessenen Gefäßwandparameter vor und nach der Dialyse sowie am dialysefreien Tag. Angegeben sind die arithmetischen Mittelwerte ± SEM. Es wurden keine signifikanten Veränderungen beobachtet.

#### 5.1.4 APnA's

Im Rahmen der Quantifizierung der Diadenosinpolyphosphate und des  $\beta$ -Thromboglobulin humaner Thrombozyten wurden folgende Ergebnisse ermittelt (Tabelle 4).

Parameter	vor HD	nach HD	Intervall
AP3A (ng/ $\mu$ g $\beta$ -Tg)	9,7 ± 1,5	11,7 ± 2,1	11,2 ± 1,8
AP4A (ng/ $\mu$ g $\beta$ -Tg)	27,6 ± 4,3	24,9 ± 3,0	27,6 ± 3,9
AP5A (ng/ $\mu$ g $\beta$ -Tg)	12,6 ± 1,6	11,7 ± 1,1	11,9 ± 1,3
AP6A (ng/ $\mu$ g $\beta$ -Tg)	2,8 ± 0,5	2,7 ± 0,6	2,6 ± 0,6
$\beta$ -Thromboglobulin ( $\mu$ g/Pellet)	70,6 ± 13,8	62,5 ± 13,3	77,5 ± 15,4

Tabelle 4: Thrombozytärer Gehalt an Diadenosinpolyphosphaten und  $\beta$ -Thromboglobulin der HD-Patienten (n = 16) vor und nach der Dialyse sowie am dialysefreien Tag. Die Konzentration der Diadenosinpolyphosphate ist als ng/ $\mu$ g  $\beta$ -Thromboglobulin dargestellt. Angegeben sind die arithmetischen Mittelwerte ± SEM. Es wurden keine signifikanten Veränderungen beobachtet.

Die Detektionsgrenze für alle vier Diadenosinpolyphosphate und den internen Standard betrug 1 pM (molare Masse  $\epsilon$ -AP6A: 1044 g/mol). Durch die Angabe der ermittelten APnA-Konzentrationen in ng/ $\mu$ g  $\beta$ -Thromboglobulin konnte eine geringe Streubreite erzielt werden.

Die quantitative Auswertung der Diadenosinpolyphosphate wurde über die relative Wiedererlangensrate der APnA's in Bezug auf die des internen Standards  $\epsilon$ -AP6A, welcher mit 100 % gleichgesetzt wurde, berechnet.

Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wurde durch den Einfluss der Hämodialyse nicht signifikant beeinflusst (Tabelle 4).

Die thrombozytäre APnA-Konzentration korrelierte nicht mit den Gefäßwandeigenschaften (Fluss-induzierte Vasodilatation und Distensibilitätskoeffizient der A. carotis und der A. brachialis) (Tabelle 5).

Parameter	vor HD r	nach HD r	Intervall r
DCC vs. AP3A	0.14	0.21	0.24
DCC vs. AP4A	0.14	0.04	0.27
DCC vs. AP5A	0.31	0.48	0.08
DCC vs. AP6A	0.3	0.08	0.2
FV rel. vs. AP3A	0.21	0.36	0.35
FV rel. vs. AP4A	0.07	0.05	0.03
FV rel. vs. AP5A	0.25	0.17	0.11
FV rel. vs. AP6A	0.37	0.35	0.02

Tabelle 5: Korrelationsanalyse: Gefäßwandeigenschaften (Bsp. DCC, FV) versus thrombozytäre APnA-Konzentration vor und nach der Hämodialyse sowie am folgenden Hämodialyse-freien Tag (Intervall). Statistische Signifikanz ( $p < 0.05$ ) wurde bei keiner Analyse beobachtet.

## 5.2 Studie II (Vergleich verschiedener HD-Membranen)

### 5.2.1 Häodynamische Parameter

Im Vergleich der beiden Membranen sowie im Verlauf wurden keine signifikanten Veränderungen des arteriellen Blutdrucks oder der Herzfrequenz beobachtet (Tabelle 6, 7).

### 5.2.2 Endothelabhängige und -unabhängige Vasodilatation der A. brachialis (FV, NV)

#### 5.2.2.1 Fluss-induzierte Vasodilatation (FV)

Im Vergleich der beiden Membranen sowie im Verlauf wurde keine signifikante Veränderung des arteriellen Diameters der A. brachialis beobachtet. Nach der HD mit einer Cuprophan-Membran wurde eine signifikante Verminderung der FV beobachtet. Der Ausgangswert der FV lag bei  $9.4 \pm 1.8 \%$  und betrug nach der HD-Sitzung  $7.4 \pm 1.7 \%$  (Abbildung 10, Tabelle 7).

Bei Verwendung einer Polysulfon-Membran konnte keine signifikante Veränderung der FV beobachtet werden. Der Ausgangswert der FV lag bei  $9.3 \pm 1.9 \%$  und betrug nach der HD-Sitzung  $9.6 \pm 1.8 \%$  (Tabelle 6).

Die Zunahme des Blutflusses nach Abnahme des Cuffs (Aufhebung der Okklusion) wurde mit Hilfe des Druckpulses bestimmt. Auch diesbezüglich konnte keine signifikante Veränderung im Verlauf sowie im Vergleich der verwendeten Membranen beobachtet werden.

#### **5.2.2.2 Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation (NV)**

Die Nitroglycerin-induzierte (Endothel-unabhängige) Vasodilatation wurde unabhängig von der Art der verwendeten Membran durch den Einfluss der HD nicht verändert (Tabelle 6, 7).

#### **5.2.3 Lipidparameter (Ox-LDL), $\alpha$ -Tocopherol**

Die Konzentration von oxidiertem LDL wurde durch den Einfluss der HD unabhängig von der Art der verwendeten Membran nicht signifikant beeinflusst (Tabelle 6, 7). Nach der HD mit einer Cuprophan-Membran wurde eine signifikante Reduzierung der Plasma- $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration beobachtet (vor der HD  $18.0 \pm 2.3$ , nach der HD  $16.6 \pm 1.3 \mu\text{g/ml}$ ) (Tabelle 7).

Nach der HD mit einer Polysulfon-Membran wurde keine signifikante Veränderung der Plasma- $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration beobachtet (Tabelle 6).

Aus den Ergebnissen geht hervor, dass eine Hämodialyse mit einer biokompatiblen low flux-Polysulfon-Membran weniger oxidativen Stress verursacht (erkennbar am geringeren Vitamin E-Verbrauch) und damit zu einer geringeren Beeinträchtigung der Endothelfunktion führt.

In der Analyse der Kovarianzen zeigte sich, dass die Konzentrationen von Ox-LDL sowie Vitamin E keine signifikante Veränderung der FV oder der Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation bewirken.

Parameter	vor HD POL	nach HD POL
systolischer Blutdruck (mmHg)	139 ± 7	136 ± 7
diastolischer Blutdruck (mmHg)	75 ± 4	76 ± 5
HF (Schläge/min)	77 ± 5	77 ± 8
Diameter der A. brachialis (mm)	4.55 ± 0.21	4.53 ± 0.82
Fluss-induzierte Dilatation (mm)	0.42 ± 0.06	0.41 ± 0.04
Nitroglycerin-induzierte Dilatation (mm)	0.67 ± 0.12	0.59 ± 0.13
Nitroglycerin-induzierte Dilatation (%)	14.6 ± 0.6	14.4 ± 0.8
α-Tocopherol-Konzentration (µmol/ml)	17.4 ± 1.7	17.5 ± 1.9
oxidiertes LDL-Konzentration (mg/l)	11.1 ± 0.8	11.5 ± 0.9

Tabelle 6: Gefäßwandeigenschaften und hämodynamische Parameter vor und nach der Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran (POL).

Parameter	vor HD CUP	nach HD CUP
systolischer Blutdruck (mmHg)	136 ± 8	134 ± 8
diastolischer Blutdruck (mmHg)	76 ± 4	75 ± 4
HF (Schläge/min)	78 ± 8	76 ± 7
Diameter der A. brachialis (mm)	4.51 ± 0.72	4.49 ± 0.87
Fluss-induzierte Dilatation (mm)	0.42 ± 0.05	0.31 ± 0.08 * #
Nitroglycerin-induzierte Dilatation (mm)	0.62 ± 0.21	0.66 ± 0.16
Nitroglycerin-induzierte Dilatation (%)	14.4 ± 1.0	14.8 ± 0.9
α-Tocopherol-Konzentration (µmol/ml)	18.0 ± 2.3	16.6 ± 1.3 *
oxidiertes LDL-Konzentration (mg/l)	11.2 ± 0.7	11.3 ± 0.8

Tabelle 7: Gefäßwandeigenschaften und hämodynamische Parameter vor und nach der Hämodialyse mit einer Cuprophan-Membran (CUP)

\* :  $p < 0.05$  vor vs. nach der Hämodialyse, # :  $p < 0.01$  Gruppen x Zeit-Interaktion.

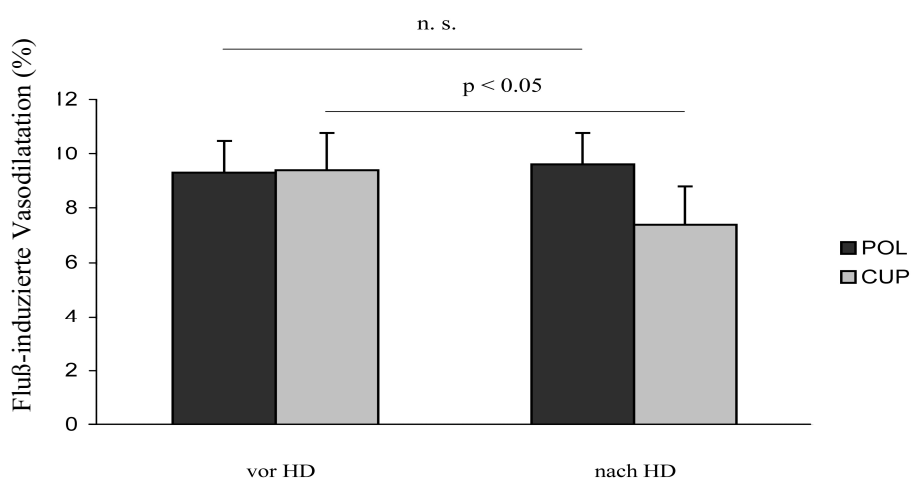


Abbildung 10: Relative Fluss-induzierte Dilatation (FV) der A. brachialis (in % vom Ausgangsdurchmesser) von zwölf Patienten vor und nach der Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran (POL) und einer Cuprophan-Membran (CUP).

## 6 Diskussion

Die erste Untersuchung hatte zum einen das Ziel, den Einfluss einer Hämodialyse unter in Deutschland üblicherweise angewandten Bedingungen (biokompatible Membran, schonende Ultrafiltration, ausreichende Dialysedauer) auf die elastischen Gefäßwandeigenschaften, die Endothelfunktion und die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration zu ermitteln.

Die Untersuchung erbrachte folgende Ergebnisse:

Hämodialyse verändert nicht die elastischen Gefäßwandeigenschaften großer Arterien. Es wurde keine Veränderung der aortalen Pulswellengeschwindigkeit oder des Distensibilitätskoeffizienten der A. brachialis festgestellt. Eine geringfügige Reduktion des Distensibilitätskoeffizienten der A. carotis nach der Hämodialyse konnte auf eine geringfügige Zunahme des Pulsdruckes zurückgeführt werden und wurde im Rahmen der isobarischen Distensibilitäts-Bestimmung nicht mehr beobachtet. Die durch Fluss-induzierte Vasodilatation ermittelte Endothelfunktion wurde durch den Einfluss der Hämodialyse nicht signifikant verändert.

Weiterhin wurde die thrombozytäre Diadenosin-Polyphosphat-Konzentration durch die Hämodialyse nicht beeinflusst.

Durch den Einfluss der Hämodialyse wurde keine akute Veränderung der aortalen Pulswellengeschwindigkeit oder des Distensibilitätskoeffizienten der A. brachialis festgestellt. Es konnte jedoch eine reversible, milde, aber signifikante Reduktion des Distensibilitätskoeffizienten der A. carotis nach der Hämodialyse beobachtet werden. Nach Korrektur des arteriellen Blutdrucks durch Berechnung der isobarischen Distensibilität bei 100 mmHg zeigte sich dieser Effekt abgeschwächt, die zuvor beobachtete Signifikanz entfiel.

Die Reduktion des Distensibilitätskoeffizienten war wahrscheinlich durch die milde Zunahme von Pulsdruck und Herzfrequenz nach der Hämodialyse bedingt, welche auf eine HD-induzierte Aktivierung des sympathischen Nervensystems zurückzuführen sein könnte (21). Nach Mangoni et al. führt sympathische Aktivität zu einer Einschränkung der arteriellen Distensibilität (74). Da Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz per se eine gesteigerte Sympathikus-Aktivität aufweisen, könnte diese für die hier beobachtete reduzierte arterielle Distensibilität mitverantwortlich sein.

Andere Faktoren, wie z.B. die Veränderung des Flüssigkeitsvolumens und des Gefäßdurchmessers (64), die die arterielle Distensibilität beeinflussen und somit mögliche Störfaktoren darstellen, waren in unserer Studie gut kontrolliert: Das Ultrafiltrationsvolumen war relativ klein und der arterielle Diameter änderte sich nach der Hämodialyse nicht signifikant.

Die von uns erhobenen Werte bezüglich des Distensibilitäts-Koeffizienten stimmen mit denen anderer Forschungsgruppen überein. Im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe ist sie jedoch deutlich herabgesetzt (115, 6).

Die mittlere aortale Pulswellengeschwindigkeit von 12 m/s ist ebenfalls mit den in der Literatur berichteten Werten vergleichbar. Sie ist im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Personen deutlich erhöht (63, 9). In Übereinstimmung mit unseren Daten berichten Van Guldener et al. und Barenbrock über eine negative Korrelation der Distensibilität der A. carotis mit dem Alter. Eine signifikante Abnahme der Distensibilität der A. carotis communis wurde lediglich bei HD-pflichtigen Patienten, die jünger als 50 Jahre alt waren, sowie bei Patienten, welche seit langer Zeit HD-pflichtig waren, beobachtet (7). Durch Berechnung der isobarischen Distensibilität können wir diese Feststellung bestätigen.

Chronische Veränderungen der Elastizität großer Arterien sind bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz häufig und haben u.a. einen erhöhten systolischen und erniedrigten diastolischen Blutdruck, eine erhöhte linksventrikuläre Nachlast, eine linksventrikuläre Hypertrophie und eine reduzierte Koronarperfusion zur Folge (7, 63).

Blacher et al. haben festgestellt, dass eine verminderte Elastizität der Aorta (welche in Form einer erhöhten PWG zum Ausdruck kommt) bei terminal niereninsuffizienten Patienten als unabhängiger Vorhersagewert einer gesteigerten kardiovaskulären Mortalität gewertet werden kann (9).

Die verminderte Elastizität großer Arterien weist vielfältige Ursachen auf. Bluthochdruck und eine gesteigerte sympathische Aktivität (74) sind häufig mit einer terminalen Niereninsuffizienz assoziiert und scheinen eine begünstigende Wirkung zu haben. Weiterhin ist eine Beeinflussung durch Hyperparathyreoidismus, Lipidstörungen, Flüssigkeitsüberladung oder durch den HD-Vorgang per se denkbar (115, 6, 66). Nishizawa et al. führen eine beschleunigte PWG auf Veränderungen des Lipoprotein-Musters zurück: Hypocalzämie und Hyperparathyreoidismus supprimieren die hepatische Triglycerid-

Lipase (HTGL), ein Enzym, welches den Metabolismus von intermediate density lipoprotein (IDL) und high density-lipoproteins (HDL) wesentlich beeinflusst. Es resultieren ein erhöhtes IDL und ein erniedrigtes HDL, Veränderungen, welche eine enge Assoziation zur erhöhten PWG aufweisen (81).

Wir konnten keinen akuten Einfluss der HD auf die aortale PWG beobachten. Die mittlere Pulswellengeschwindigkeit von 12 m/s ist vergleichbar mit Werten anderer HD-Patienten (63, 9) und ist im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Personen deutlich erhöht.

Insgesamt lässt sich feststellen, dass die erhobenen Daten durch den Einfluss der Hämodialyse nicht signifikant verändert wurden. Gleiches gilt für die Messung der regionalen Distensibilität der A. brachialis.

Zur Überprüfung, ob funktionelle Gefäßwandeigenschaften in Bezug zur HD-induzierten Thrombozytenaktivierung stehen, wurde die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration bestimmt. Diadenosinpolyphosphate werden bei der Thrombozytenaktivierung freigesetzt und könnten direkte Parameter der HD-induzierten Thrombozytenaktivierung sein.

Thrombozytenaggregation induziert die thrombozytäre Bildung von AP3A-AP6A (37) und führt zu einer gesteigerten thrombozytären Freisetzung (72). AP3A führt durch enzymatische Hydrolyse über ADP zu einer Verstärkung des Aggregationseffektes (69). AP4A-6A üben auf die ADP-induzierte Thrombozytenaggregation einen hemmenden Effekt aus (71, 67, 34).

Bei metabolischem Stress steigt die intrazelluläre Konzentration der APnA's (117, 10). Das Ausmaß der metabolischen Belastung während der HD ist unter anderem abhängig von der Biokompatibilität der verwendeten HD-Membran.

APnA's weisen vielfältige vasoaktive Eigenschaften auf (siehe Einleitung Seite 9) (17, 100, 102, 104, 108).

In isolierten Organen und präparierten Gefäßen werden vaskuläre Effekte der Diadenosinpolyphosphate ab einer Konzentration von 100 pM beobachtet. Insofern sind systemisch vaskuläre Effekte endogen zirkulierender Diadenosinpolyphosphate unwahrscheinlich (89, 112, 104). Durch Thrombozytenaggregation an Endothelläsionen können jedoch lokal erhöhte APnA-Konzentrationen vorliegen und so das Wachstum glatter Gefäßmuskelzellen stimulieren (50).

Wir haben jedoch keinen Einfluß einer HD mit einer Polysulfon-Membran auf die thrombozytäre APnA-Konzentration sowie funktionelle Gefäßwandeigenschaften gesehen.

Von den zahlreichen Untersuchungen, die über eine eingeschränkte Endothelfunktion bei HD-Patienten berichten (7, 115, 52), beziehen sich nur wenige auf den akuten Einfluss der HD auf die flussabhängige Vasodilatation der A. brachialis als Parameter der Endothelfunktion.

Die von uns durchgeführten Untersuchungen zeigten zu allen Messzeitpunkten eine beeinträchtigte FV der A. brachialis. Die ermittelten Daten waren mit denen anderer Untersucher vergleichbar (114, 77). Jedoch konnten wir in Untersuchung 1 bei Verwendung einer Polysulfon-Membran nach der Hämodialyse keinen substantiellen Abfall der FV beobachten, wie dies kürzlich beschrieben worden war.

Miyazaki et al. beobachteten bei terminal niereninsuffizienten Patienten nach einer einzigen Hämodialyse-Sitzung mit Cellulose-Membranen einen signifikanten Abfall der FV (77). Da unter Verwendung Vitamin E-beschichteter Cellulose-Membranen eine Abschwächung dieses Effektes festgestellt werden konnte, vermuteten sie einen akut schädigenden Einfluss der Hämodialyse auf die Endothelfunktion, welcher durch vermehrtes Anfluten reaktiver Oxidantien bedingt sein könnte.

Neben einer milden, aber nicht signifikanten Abnahme der FV nach der Hämodialyse konnten wir keine Veränderung der endothelialen Funktion feststellen. Diese Diskrepanz könnte in der Verwendung unterschiedlicher Hämodialyse-Membranen begründet sein: In unserer Untersuchung wurden Polysulfon-Membranen verwendet, welche (insbesondere im Vergleich zu Cellulose-Membranen) eine hohe Biokompatibilität aufweisen und auf der Oberfläche der HD-Membran weniger oxidativen Stress auslösen (45).

Im Gegensatz zu Miyazaki et al. konnten Hand et al. in der Untersuchung von Handvenen nach der Hämodialyse (im Vergleich zur Messung vor der HD) eine akute Verbesserung der Acetylcholin-induzierten Dilatation der Venen beobachten (35).

Darüber hinaus konnte gezeigt werden, dass die beeinträchtigte endothelabhängige Vasodilatation vor der Hämodialyse durch Gabe von L-Arginin verbessert werden konnte. Die Gabe von D-Arginin zeigte demgegenüber keinen Effekt. Methyliertes Arginin wie L-Monomethyl-Arginin (L-NMMA) (109, 110) und Dimethyl-Arginin (ADMA) (18) sind natürlich vorkommende Substanzen, welche u.a. als kompetitive Inhibitoren der



NO-Synthase fungieren und bei terminal niereninsuffizienten Patienten akkumuliert vorliegen (111). Das Entfernen dieser Inhibitoren durch Hämodialyse hat eine Verbesserung der endothelialen Funktion zur Folge (111).

Bezogen auf die Endothelfunktion großer Arterien können wir diesen Effekt der Hämodialyse nicht bestätigen. Unterschiede bezüglich des untersuchten Gefäßbettes (Venen versus große Arterien) und der verwendeten vasodilatierenden Stimulantien (Acetylcholin-Infusion versus FV) könnten für diese Diskrepanz verantwortlich sein. Der durch Entfernung der NO-Synthese-Inhibitoren beobachtete positive Effekt könnte im venösen Gefäßbett stärker als im arteriellen System ausgeprägt sein.

Eine mögliche Beeinträchtigung der NO-Synthese bei terminal niereninsuffizienten Patienten wird derzeit kontrovers diskutiert.

Hon et al. haben kürzlich bei terminal Niereninsuffizienten erhöhte systemische NO-Konzentrationen festgestellt, welche durch den Einfluss der HD signifikant reduziert wurden und bis zum Tag nach der Dialyse wieder Ausgangswerte erreicht hatten (47).

Störfaktoren der FV sind vielfältig, einige seien hier genannt:

1. Der arterielle Durchmesser ist eine wichtige Determinante der endothelabhängigen Dilatation. Nach Lambert et al. dilatieren Arterien mit größerem Diameter im Vergleich zu solchen mit geringerem Diameter relativ geringer (59). In unserer Studie veränderte sich der enddiastolische Durchmesser nach der HD nicht signifikant. In der statistischen Analyse stellte der arterielle Diameter keine relevante Co-Variable der Distensibilität dar.

2. Unterschiede im Grad der reaktiven Hyperämie können den Grad der FV beeinflussen. In der vorliegenden Studie wird die Zunahme des Blutflusses während der Hyperämie durch gepulste Doppler ermittelt. Sie war zu allen Zeitpunkten der Messung (vor und nach der Dialyse sowie im dialysefreien Intervall) vergleichbar. Das Ausmaß der Endothel-Stimulation erscheint hierdurch nicht different.

Des Weiteren konnte bezüglich der Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation (eine Prüfung der Endothel-unabhängigen Gefäßfunktion) ebenfalls kein Unterschied beobachtet werden.

Von den derzeit in Deutschland handelsüblichen synthetischen Membranen (z.B. Polysulfon-Membranen) werden Cellulose-Membranen (z.B. Cuprophan-Membranen) unterschieden. Letztere waren vor ca. 20 Jahren gebräuchlich und finden aktuell kaum

noch Verwendung. Da Unterschiede im Membranmaterial und somit der Biokompatibilität einen unterschiedlichen Einfluss auf die Endothelfunktion nehmen können, wurde der Hämodialyse-Effekt auf die Endothelfunktion vor und nach der Hämodialyse mit einer Cuprophan-Membran und Polysulfon-Membran gemessen. Des Weiteren wurde überprüft, ob Unterschiede der FV mit einem erhöhten oxidativen Stress assoziiert sind. Hämodialyse mit einer Cuprophan-Membran führt zu einer signifikanten Verminderung der FV der A. brachialis. Dieser Effekt wurde bei der Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran nicht festgestellt.

Die bei der Cuprophan-Membran beobachtete Beeinträchtigung der Endothelfunktion war mit einem Abfall der  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentration im Serum assoziiert, welche als Marker für die Zunahme des oxidativen Stresses während der Hämodialyse gewertet werden kann und bei der Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran nicht beobachtet wurde.

Diese Ergebnisse legen nahe, dass das Ausmaß oxidativen Stresses mit der Art der verwendeten Hämodialyse-Membran assoziiert ist und Einfluss auf die Endothelfunktion ausübt.

Nach unserem Wissen ist dies die erste Studie, welche bei HD-Patienten den Effekt der Cellulose- und Polysulfon-Membran auf die Endothelfunktion untersucht. Da beide Membranen nach der Hämodialyse keine Veränderung der Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation (Endothel-unabhängige Gefäßfunktion) zeigten, ist davon auszugehen, dass die Veränderungen der FV auf einer Veränderung der Endothelfunktion basieren.

Da sich der enddiastolische Durchmesser der A. brachialis und die Zunahme des Blutflusses während der reaktiven Hyperämie zwischen den Hämodialysen nicht signifikant geändert haben, ist davon auszugehen, dass das Ausmaß der Scherkräfte vergleichbar war. Obwohl die Veränderungen der FV nach der Hämodialyse relativ mild waren, ist es möglich, dass der Typ der verwendeten Dialyse-Membran und der Grad der Biokompatibilität eventuell die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität von Hämodialysepflichtigen Patienten beeinflussen.

Eine Vielzahl von Studien haben die klinische Bedeutung von Biokompatibilität und oxidativem Stress, welche durch Hämodialyse-Membranen hervorgerufen werden können, untersucht:

Linneweber et al. konnten zeigen, dass eine beeinträchtigte Funktion peripherer mononuklearer Zellen bei Patienten, die mit einer Cuprophan-Membran dialysieren, durch einen Wechsel auf Polysulfon-Membranen normalisiert werden kann (62). Die Autoren dieser Studie empfahlen die Verwendung biokompatibler Membranen, um den Zustand der Micro-Inflammation bei chronischen Hämodialyse-Patienten zu verbessern.

Ferreira und Mitarbeiter haben sich mit dem Effekt der Dialysemembran auf den Knochenstoffwechsel beschäftigt: Eine reguläre Dialyse mit einer Cuprophan-Membran ist im Vergleich zu Polysulfon-Membranen mit signifikant höheren Spiegeln für  $\beta_2$ -Microglobulin, alkalischer Phosphatase, Osteocalcin sowie einer erhöhten Osteoklasten-Anzahl assoziiert (29). Diese Ergebnisse wurden in einer prospektiven Studie, welche bei der HD mit einer Cuprophan-Membran im Vergleich zur Polysulfon-Membran einen erhöhten Knochen-Turnover zeigte, bestätigt (28).

Unsere Daten weisen darauf hin, dass durch Verwendung biokompatibler, synthetischer Membranen die endotheliale Dysfunktion bei chronischen Dialyse-Patienten verbessert werden kann.

Dialyse-induzierter oxidativer Stress könnte zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität chronisch dialysepflichtiger Patienten beitragen. Durch Verwendung biokompatibler, synthetischer Membranen könnten die Folgen eines erhöhten prooxidativen Status während der Hämodialyse minimiert werden (23). Jedoch ist die Messung und Quantifizierung des oxidativen Stresses in diesem Zusammenhang schwierig.

Oxidiertes LDL spielt bei der Entwicklung arteriosklerotischer Läsionen eine Schlüsselrolle (40). Darüber hinaus führt oxidiertes LDL durch Beeinträchtigung der Signaltransduktion zwischen Oberflächen-Rezeptoren der Endothelzelle und der NO-Bildung zur Hemmung der NO-Synthese und trägt so direkt zur endothelialen Dysfunktion bei (24). „Referance ranges“ oder eine Kinetik von oxidiertem LDL in Phasen akuten oxidativen Stresses wie z.B. während einer Hämodialyse-Sitzung existieren derzeit nicht.

Miyazaki et al. beobachteten nach einer einzigen HD-Sitzung mit einer Cuprophan-Membran eine Zunahme des oxidierten Plasma-LDL um 35% (77). In unserer Studie wurde bei keiner der verwendeten Membranen eine signifikante Veränderung der Plasma-Spiegel von oxidiertem LDL während der Hämodialyse beobachtet. Für die gleich bleibende Konzentration des oxidierten Plasma-LDL in unserer Studie gibt es zwei mögliche Gründe:

1. Die signifikante Abnahme des Vitamin E ( $\alpha$ -Tocopherol), welche lediglich nach HD mit einer Cuprophan-Membran beobachtet wurde.
2. Entfernung des oxidierten LDL aus dem Plasma noch vor der Probengewinnung am Ende der HD.

Einige Tierexperimente weisen darauf hin, dass die zuletzt erwähnte Hypothese zutrifft: Ling et al. zeigten, dass radioaktiv-markiertes oxidiertes LDL bei Mäusen rasch aus der Blutbahn entfernt wird (61). Über 90% des injizierten Materials wurden innerhalb von fünf Minuten hpts. durch die Leber aus der Blutbahn entfernt. Durch die schnelle Entfernung neu gebildeten oxLDL ist dieser Parameter als Marker für den akuten oxidativen Stress während einer HD-Sitzung nicht geeignet. Auf der anderen Seite sanken die  $\alpha$ -Tocopherol-Spiegel nach der HD mit einer Cuprophan-Membran signifikant, was nach der HD mit einer Polysulfon-Membran nicht beobachtet werden konnte.

Vitamin E ist ein verlässlicher Marker für systemische Oxidation. Eine inverse Korrelation mit der Dauer der HD-Behandlung wurde für Plasma- $\alpha$ -Tocopherol-Spiegel, jedoch nicht für andere Antioxidantien beobachtet (80).

Aus diesem Grund ist es möglich, dass der geringgradige, jedoch signifikante Abfall des Plasma-Vitamin E-Spiegels nach der HD mit einer Cuprophan-Membran auf einen im Vergleich zu Polysulfon-Membranen größeren oxidativen Stress zurückzuführen ist. Diese Interpretation stimmt mit anderen Studien über Biokompatibilität und oxidativen Stress, welcher durch verschiedene HD-Membranen hervorgerufen wird, überein: Linneweber et al. konnten zeigen, dass eine beeinträchtigte Funktion peripherer mononuklearer Zellen bei Patienten, die mit einer Cuprophan-Membran dialysieren, durch einen Wechsel auf Polysulfon-Membranen normalisiert werden kann (62).

Die Ergebnisse unserer Studie zeigen, dass akute endotheliale Dysfunktion auch vom Typ der verwendeten Dialyse-Membran abhängig ist. Es sollte geklärt werden, ob Unterschiede im oxidativen Stress oder andere Mechanismen, die mit dem Gebrauch verschiedener Membranen assoziiert sind, für die unterschiedlichen Effekte der Cuprophan-Membran und Polysulfon-Membran auf die endotheliale Dysfunktion verantwortlich sind. Überdies sollte bei der Interpretation der beobachteten, relativ moderaten akuten Veränderungen der Endothelfunktion berücksichtigt werden, dass die Endothelfunktion bei terminal Niereninsuffizienten durch die HD per se sowie durch andere Faktoren wie z.B. Flüssigkeitsüberladung, Hyperparathyreoidismus, Hypercholesteri-

nämie und Aktivierung des sympathischen Nervensystems beeinflusst werden kann (6, 39, 56).

Die Ergebnisse der zweiten Untersuchung stimmen mit denen von Miyazaki et al. überein, welche wie bereits erwähnt bei terminal Niereninsuffizienten nach einer einzigen Hämodialyse-Sitzung mit einer Cellulose-Membran einen signifikanten Abfall der FMD beobachteten (77).

Die nachteiligen Effekte der Cellulose-Membranen auf die Endothelfunktion können durch Verwendung von Polysulfon-Membranen vermieden werden. Dies stimmt mit dem Ergebnis der ersten Untersuchung, bei der wir unter Verwendung von Polysulfon-Membranen keine Beeinträchtigung der Endothelfunktion beobachteten, überein.

Es wurde gezeigt, dass Unterschiede im Membran-Material und somit der Biokompatibilität Einfluss nehmen auf die Beeinflussung der Endothelfunktion während einer Hämodialyse.

Während die Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran per se keinen akuten Effekt auf die FV ausübt, führt die HD mit einer Cellulose-Membran zu einem geringgradigen, aber signifikanten Abfall der Endothelfunktion.

Dieser Effekt ist zumindest zum Teil auf eine Zunahme des oxidativen Stresses, welcher durch abfallende Vitamin E-Spiegel deutlich wird, zurückzuführen und könnte so zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität chronisch HD-pflichtiger Patienten beitragen.

Es ist denkbar, dass die HD mit einer Cellulose-Membran die thrombozytäre Konzentration der Diadenosinpolyphosphate akut verändern und darüber auch die FV beeinflussen könnte, was bei Verwendung einer biokompatiblen Polysulfon-Membran nicht beobachtet wurde. Diese Fragestellung konnte jedoch im Rahmen der Cross-Over-Studie nicht mituntersucht werden, da dazu jedem Patienten innerhalb von drei Tagen ca. 200 ml Blut zusätzlich hätte entnommen werden müssen.

In den hier dargestellten Untersuchungen konnte gezeigt werden, dass die Endothelfunktion großer Arterien durch den Einfluss der Hämodialyse unter Verwendung biokompatibler Membranen nicht akut beeinflusst wird. Viele Untersuchungen zeigen, dass eine Akkumulation urämischer Toxine, strukturelle Veränderungen der Arterienwand, Flüssigkeitsüberladung und arterielle Hypertonie die Hauptursachen endothelialer Dysfunktion terminal Niereninsuffizienter sind. Eine chronische Verschlechterung der endothelialen Dysfunktion durch den Einfluss der Hämodialyse erscheint möglich.

Darüber hinaus wurden unabhängig von Blutdruckveränderungen keine akuten Veränderungen der elastischen Eigenschaften großer Arterien beobachtet. Hämodialyse unter Verwendung einer biokompatiblen Membran scheint also akut nicht zur Beeinträchtigung elastischer Gefäßwandeigenschaften großer Arterien beizutragen.

Es wurde kein akuter Einfluss der Hämodialyse auf die thrombozytäre APnA-Konzentration festgestellt. Eine positive Korrelation zwischen der APnA-Konzentration und den Gefäßwandeigenschaften konnte nicht beobachtet werden.

Unterschiede im Membran-Material und somit der Biokompatibilität nehmen während einer Hämodialyse Einfluss auf die Endothelfunktion.

Während die Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran per se keinen akuten Effekt auf die FV ausübt, führt die HD mit einer Cellulose-Membran zu einem geringgradigen, aber signifikanten Abfall der Endothelfunktion.

Dieser Effekt ist am ehesten auf eine Zunahme des oxidativen Stresses, welcher durch abfallende Vitamin E-Spiegel deutlich wird, zurückzuführen und kann so zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität chronisch HD-pflichtiger Patienten beitragen.

Ob HD mit einer Cellulose-Membran mit einem höheren kardiovaskulären Risiko verbunden ist als HD mit einer synthetischen Membran, sollte in weiteren prospektiven Langzeit-Studien mit einer größeren Patientenzahl untersucht werden.

## 7 Zusammenfassung

Störungen der funktionellen Gefäßwandeigenschaften großer Arterien tragen bei terminal Niereninsuffizienten zur erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität bei. Es ist nicht bekannt, ob Hämodialyse (HD) per se die mechanischen Gefäßwandeigenschaften oder die Endothelfunktion akut beeinflusst (Untersuchung 1). Einige Daten weisen darauf hin, dass die beeinträchtigte Endothelfunktion durch den oxidativen Stress während des HD-Verfahrens verursacht wird. Um Informationen über die Biokompatibilität einer HD-Membran zu erlangen, wurde die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration bestimmt, welche einen direkten Parameter der HD-induzierten Thrombozytenaktivierung darstellen könnte und vielfältige vasoaktive Eigenschaften aufweist. Um herauszufinden, ob verschiedene Hämodialyse-Membranen die Endothelfunktion unterschiedlich beeinflussen, wurden die Patienten im Rahmen einer doppelt verblindeten Cross-over-Studie randomisiert sowie einer Hämodialyse mit einer Cuprophan-Membran oder einer synthetischen Polysulfon-Membran zugeteilt (Untersuchung 2).

In Untersuchung 1 wurden 25 chronische HD-Patienten unmittelbar vor und nach der Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran sowie am folgenden (dialysefreien) Tag untersucht. Der enddiastolische Durchmesser und die Distensibilität der A. brachialis und der A. carotis wurden durch Doppler-Frequenz-Analyse der Gefäßwandbewegungen mittels eines „multigate pulsed doppler system“ in M-Mode tonometrisch bestimmt. Die aortale Pulswellengeschwindigkeit (PWG) wurde mit Hilfe eines Complior® erfasst.

Die endotheliale Funktion wurde durch Bestimmung der Fluss-induzierten Vasodilatation (FV) der Arteria brachialis während reaktiver Hyperämie bestimmt und mit der Endothel-unabhängigen Nitroglycerin-induzierten Vasodilatation verglichen (NV).

Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wurde mit Hilfe der Affinitätschromatographie und der Reversed Phase HPLC quantifiziert.

In Untersuchung 2 wurden zwölf Hämodialyse-Patienten eingeschlossen. Die FV und NV wurden wie in Untersuchung 1 bestimmt. Die Patienten wurden randomisiert, einer HD mit einer Polysulfon-Membran oder einer Cuprophan-Membran zugeteilt und in der nächsten HD-Sitzung mit der anderen Membran dialysiert. Die Untersucher waren blind für die verwendete Membran. Serum-Konzentrationen von oxidiertem LDL und  $\alpha$ -

Tocopherol als Marker für oxidativen Stress wurden unmittelbar vor Beginn der Hämodialyse sowie fünf Minuten vor Beendigung der Hämodialyse bestimmt.

In der ersten Untersuchung veränderte sich die FV nach der HD oder im HD-freien Intervall nicht signifikant. Gleiches gilt für die NV und die PWG nach der HD und im HD-freien Intervall. Der Distensibilitätskoeffizient der A. carotis sank während der HD signifikant und stieg zum HD-freien Tag wieder an. Nach der Korrektur des Blutdrucks durch Tonometrie veränderte sich der isobarische Distensibilitätskoeffizient nicht signifikant. Die Distensibilität der A. brachialis zeigte ebenfalls keine signifikanten Veränderungen.

Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wurde durch den Einfluss der Hämodialyse nicht signifikant verändert. Des Weiteren korrelierte sie nicht mit den Gefäßwandeigenschaften.

In der zweiten Untersuchung wurde die FV der A. brachialis bei der HD mit einer Polysulfon-Membran nicht signifikant beeinflusst. Nach der HD mit einer Cuprophan-Membran sank die FV signifikant ( $p < 0.05$ ). Die NV wurde unabhängig von der Art der verwendeten Membran nicht beeinflusst. Die Serum-Konzentrationen von oxLDL wurden durch die Art der verwendeten Membran nicht beeinflusst; jedoch fielen die  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentrationen nach der HD mit einer Cuprophan-Membran signifikant, während die  $\alpha$ -Tocopherol-Konzentrationen bei der Verwendung von Polysulfon-Membranen unbeeinflusst waren.

Hämodialyse mit einer biokompatiblen Membran übt per se bei terminal niereninsuffizienten Patienten keinen signifikanten Einfluss auf die Endothelfunktion großer Arterien oder die mechanischen Gefäßwandeigenschaften aus. Die thrombozytäre Diadenosinpolyphosphat-Konzentration wird durch den Einfluss einer Hämodialyse mit einer Polysulfon-Membran nicht signifikant verändert. Des Weiteren korreliert sie nicht mit den Gefäßwandeigenschaften.

Die Art der verwendeten HD-Membran beeinflusst allerdings den akuten Effekt der Hämodialyse auf die arterielle Endothelfunktion. Unterschiede bezüglich der Biokompatibilität und des oxidativen Stresses scheinen die verschiedenen Effekte der HD zu erklären, da die Abnahme der FV lediglich nach der Dialyse mit einer Cellulose-Membran auftrat und mit einer Reduktion des Vitamin E assoziiert war.



## 8 Literaturverzeichnis

1. Abel PW, Hermsmeyer K.  
Sympathetic cross-innervation of SHR and genetic controls suggests a trophic influence on vascular muscle membranes. *Circ Res.* 1981 Dec;49(6):1311-8.
2. Arnold WP, Mittal CK, Katsuki S, Murad F.  
Nitric oxide activates guanylate cyclase and increases guanosine 3':5'-cyclic monophosphate levels in various tissue preparations.  
*Proc Natl Acad Sci U S A.* 1977 Aug;74(8):3203-7.
3. Asmar R, Benetos A, Topouchian J, Laurent P, Pannier B, Brisac AM, Target R, Levy BI.  
Assessment of arterial distensibility by automatic pulse wave velocity measurement. Validation and clinical application studies.  
*Hypertension.* 1995 Sep;26(3):485-90.
4. Bachmann J, Tepel M, Raidt H, Riezler R, Graefe U, Langer K, Zidek W.  
Hyperhomocysteinemia and the risk for vascular disease in hemodialysis patients.  
*J Am Soc Nephrol.* 1995 Jul;6(1):121-5.
5. Baker JC, Jacobson MK.  
Determination of diadenosine 5',5''',-P<sub>1</sub>,P<sub>4</sub>-tetrphosphate levels in cultured mammalian cells.  
*Anal Biochem.* 1984 Sep;141(2):451-60.
6. Barenbrock M, Hausberg M, Kosch M, Kisters K, Hoeks AP, Rahn KH.  
Effect of hyperparathyroidism on arterial distensibility in renal transplant recipients.  
*Kidney Int.* 1998 Jul;54(1):210-5.
7. Barenbrock M, Spieker C, Laske V, Heidenreich S, Hohage H, Bachmann J, Hoeks AP, Rahn KH.  
Studies of the vessel wall properties in hemodialysis patients.  
*Kidney Int.* 1994 May;45(5):1397-400.
8. Baumgart P, Laske V, Barenbrock M, Spieker C, Hoeks APG, Rahn KH.  
A novel method for noninvasive assessment of local vessel wall elasticity.  
*Nieren-und Hochdruckkrankheiten* 20 (1991), 543-544.

9. Blacher J, Guerin A, Pannier B, Marchais S, Safar M, London G.  
Impact of aortic stiffness on survival in end-stage renal disease.  
*Circulation* 1999; 99:2434-2439.
10. Bochner BR, Lee PC, Wilson SW, Cutler CW, Ames BN.  
AppppA and related adenylylated nucleotides are synthesized as a consequence of oxidation stress.  
*Cell*. 1984 May;37(1):225-32.
11. Bohler J, Schollmeyer P, Dressel B, Dobos G, Horl WH.  
Reduction of granulocyte activation during hemodialysis with regional citrate anticoagulation: dissociation of complement activation and neutropenia from neutrophil degranulation.  
*J Am Soc Nephrol*. 1996 Feb;7(2):234-41.
12. Bradford MM.  
A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding.  
*Anal Biochem*. 1976 May 7;72:248-54. No abstract available.
13. Bramwell JC, Hill AV.  
*Lancet* 1922; 891:298-306.
14. Brown AS, Martin JF.  
The megakaryocyte platelet system and vascular disease.  
*Eur J Clin Invest*. 1994 Feb;24 Suppl 1:9-15.
15. Bruijns RH, van Kleef EM, Smits JF, De Mey JG, Daemen MJ.  
Effects of chemical sympathectomy on angiotensin II-induced neointimal growth in the balloon-injured rat carotid artery.  
*J Vasc Res*. 1998 Mar-Apr;35(2):124-33.
16. Burnstock G.  
Development and perspectives of the purinoceptor concept.  
*J Auton Pharmacol*. 1996 Dec;16(6):295-302.
17. Busse R, Ogilvie A, Pohl U.  
Vasomotor activity of diadenosine triphosphate and diadenosine tetraphosphate in isolated arteries.  
*Am J Physiol*. 1988 May;254(5 Pt 2):H828-32.

18. Calver A, Collier J, Leone A, Moncada S, Vallance P.  
Effect of local intra-arterial asymmetric dimethylarginine (ADMA) on the forearm arteriolar bed of healthy volunteers.  
*J Hum Hypertens* 7: 193-194, 1993.
19. Cases A, Reverter JC, Escolar G, Sanz C, Lopez-Pedret J, Revert L, Ordinas A.  
Platelet activation on hemodialysis: influence of dialysis membranes.  
*Kidney Int Suppl.* 1993 Jun;41:S217-20.
20. Celermajer DS.  
Endothelial dysfunction: does it matter? Is it reversible?  
*J Am Coll Cardiol.* 1997 Aug;30(2):325-33.
21. Converse RL Jr, Jacobsen TN, Jost CM, Toto RD, Grayburn PA, Obregon TM, Fouad-Tarazi F, Victor RG.  
Paradoxical withdrawal of reflex vasoconstriction as a cause of hemodialysis-induced hypotension.  
*J Clin Invest.* 1992 Nov;90(5):1657-65.
22. Cooke JP, Dzau VJ.  
Nitric oxide synthase: role in the genesis of vascular disease.  
*Annu Rev Med.* 1997;48:489-509.
23. Descamps-Latscha B, Drueke T, Witko-Sarsat V.  
Dialysis-induced oxidative stress: biological aspects, clinical consequences, and therapy.  
*Semin Dial.* 2001 May-Jun;14(3):193-9.
24. Diaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF Jr.  
Antioxidants and atherosclerotic heart disease.  
*N Engl J Med.* 1997 Aug 7;337(6):408-16.
25. Dobrin PB.  
Mechanical properties of arteries.  
*Physiol Rev.* 1978 Apr;58(2):397-460.
26. Elmaleh DR, Narula J, Babich JW, Petrov A, Fischman AJ, Khaw BA, Rapaport E, Zamecnik PC.  
Rapid noninvasive detection of experimental atherosclerotic lesions with novel <sup>99m</sup>Tc-labeled diadenosine tetraphosphates.  
*Proc Natl Acad Sci U S A.* 1998 Jan 20;95(2):691-5.

27. Ferguson JJd, Miller MJ, Sahagian P, Aroesty JM, McKay RG.  
Assessment of aortic pressure-volume relationships with an impedance catheter.  
Cathet Cardiovasc Diagn 15 (1): 27-36, 1988.
28. Ferreira A, Ghazali A, Galvao J, Souberbielle JC, Jehle PM, Mohan S, Descamps-Latscha B, Oprisiu R, Fournier A, Druke TB.  
Effect of type of dialysis membrane on bone in haemodialysis patients.  
Nephrol Dial Transplant 2001; 16:1230-1238
29. Ferreira A, Urena P, Ang KS, Simon P, Morieux C, Souberbielle JC, de Vernejoul MC, Druke TB.  
Relationship between serum beta 2-microglobulin, bone histology, and dialysis membranes in uraemic patients.  
Nephrol Dial Transplant. 1995;10(9):1701-7.
30. Flodgaard H, Klenow H.  
Abundant amounts of diadenosine 5',5'''-P<sub>1</sub>,P<sub>4</sub>-tetrphosphate are present and releasable, but metabolically inactive, in human platelets.  
Biochem J. 1982 Dec 15;208(3):737-42.
31. Goldman SJ, Gordon EL, Slakey LL.  
Hydrolysis of diadenosine 5',5''-P',P''-triphosphate (Ap<sub>3</sub>A) by porcine aortic endothelial cells.  
Circ Res 1986;59:362-366.
32. Griffith TM, Edwards DH, Lewis MJ, Newby AC, Henderson AH.  
The nature of endothelium-derived vascular relaxant factor.  
Nature. 1984 Apr 12-18;308(5960):645-7.
33. Hakim RM, Lowrie EG.  
Hemodialysis-associated neutropenia and hypoxemia: the effect of dialyzer membrane materials.  
Nephron. 1982;32(1):32-9.
34. Hall DA et Hourani SM.  
Effects of analogues of adenine nucleotides on increases in intracellular calcium mediated by P<sub>2</sub>T-purinoceptors on human blood.  
Br.J. Pharmacol., 108, 728-733.

35. Hand MF, Haynes WG, Webb DJ.  
Hemodialysis and L-arginine, but not D-arginine, correct renal failure-associated endothelial dysfunction.  
Kidney Int. 1998 Apr;53(4):1068-77.
36. Hardt SE, Just A, Bekeredjian R, Kubler W, Kirchheim HR, Kuecherer HF.  
Aortic pressure-diameter relationship assessed by intravascular ultrasound: experimental validation in dogs.  
Am J Physiol. 1999 Mar;276(3 Pt 2):H1078-85.
37. Harrison MJ, Brossmer R.  
Inhibition of platelet aggregation and the platelet release reaction by alpha, omega diadenosine polyphosphates.  
FEBS Lett 1975 Jun 1;54(1):57-60.
38. Hausberg M, Kisters K, Kosch M, Rahn KH, Barenbrock M.  
Flow-mediated vasodilation and distensibility of the brachial artery in renal allograft recipients.  
Kidney Int. 1999 Mar;55(3):1104-10.
39. Hausberg M., Kosch M., Harmelink P et al.  
Sympathetic Nerve Activity in End-Stage Renal Disease.  
Circulation 2002; 8; 106(15): 1974-1979.
40. Heinecke JW.  
Oxidants and antioxidants in the pathogenesis of atherosclerosis: implications for the oxidized low density lipoprotein hypothesis.  
Atherosclerosis. 1998 Nov;141(1):1-15.
41. Himmelfarb J, Ault KA, Holbrook D, Leeber DA, Hakim RM.  
Intradialytic granulocyte reactive oxygen species production: a prospective, crossover trial.  
J Am Soc Nephrol. 1993 Aug;4(2):178-86.
42. Hoeks, A.P.G., Brands, P.J., Renemann, R.S.  
Technical aspects of compliance assessment.  
Arch. Mal Coeur 84, III (1991), 77-81.
43. Hoeks AP, Brands PJ, Smeets FA, Reneman RS.  
Assessment of the distensibility of superficial arteries.  
Ultrasound Med Biol. 1990;16(2):121-8.

44. Hoeks AP, Ruissen CJ, Hick P, Reneman RS.  
Transcutaneous detection of relative changes in artery diameter.  
Ultrasound Med Biol. 1985 Jan-Feb;11(1):51-9.
45. Hoenich NA.  
Platelet and leucocyte behaviour during haemodialysis.  
Contrib Nephrol. 1999;125:120-32.
46. Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D.  
Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease.  
Circulation. 1998 Oct 13;98(15):1487-94.
47. Hon WM, Lee JC, Lee KH.  
Effect of hemodialysis on plasma nitric oxide levels.  
Artif Organs. 2000 May;24(5):387-90.
48. Horl WH, Heidland A.  
Evidence for the participation of granulocyte proteinases on intradialytic catabolism.  
Clin Nephrol. 1984 Jun;21(6):314-22.
49. Horl WH, Steinhauer HB, Schollmeyer P.  
Plasma levels of granulocyte elastase during hemodialysis: effects of different dialyzer membranes.  
Kidney Int. 1985 Nov;28(5):791-6.
50. Jankowski J, Hagemann J, Yoon MS, Van Der Giet M, Stephan N, Zidek W, Schluter H, Tepel M.  
Increased vascular growth in hemodialysis patients induced by platelet-derived diadenosine polyphosphates.  
Kidney Int 2001 Mar; 59(3): 1134-41
51. Jankowski J, Potthoff W, van der Giet M, Tepel M, Zidek W, Schluter H.  
High-performance liquid chromatographic assay of the diadenosine polyphosphates in human platelets.  
Anal Biochem. 1999 Apr 10;269(1):72-8.

52. Joannides R, Bakkali EH, Le Roy F, Rivault O, Godin M, Moore N, Fillastre JP, Thuillez C.  
Altered flow-dependent vasodilatation of conduit arteries in maintenance haemodialysis.  
*Nephrol Dial Transplant.* 1997 Dec;12(12):2623-8.
53. Joannides R, Haefeli WE, Linder L, Richard V, Bakkali EH, Thuillez C, Luscher TF.  
Nitric oxide is responsible for flow-dependent dilatation of human peripheral conduit arteries in vivo.  
*Circulation.* 1995 Mar 1;91(5):1314-9.
54. Kassab S, Kato T, Wilkins FC, Chen R, Hall JE, Granger JP.  
Renal denervation attenuates the sodium retention and hypertension associated with obesity.  
*Hypertension.* 1995 Apr;25(4 Pt 2):893-7.
55. Konings CJ, Dammers R, Rensma PL, Kooman JP, Hoeks AP, Kornet L, Gladziwa U, van der Sande FM, Leunissen KM.  
Arterial wall properties in patients with renal failure.  
*Am J Kidney Dis.* 2002 Jun;39(6):1206-12.
56. Kosch M, Hausberg M, Vormbrock K, Kisters K, Gabriels G, Rahn KH, Barenbrock M.  
Impaired flow-mediated vasodilation of the brachial artery in patients with primary hyperparathyroidism improves after parathyroidectomy.  
*Cardiovasc Res.* 2000 Sep;47(4):813-8.
57. Kratz M, Cullen P, Kannenberg F, Kassner A, Fobker M, Abuja PM, Assmann G, Wahrburg U.  
Effects of dietary fatty acids on the composition and oxidizability of low-density lipoprotein.  
*Eur J Clin Nutr.* 2002 Jan;56(1):72-81.
58. Kuwahara T, Markert M, Wauters JP.  
Neutrophil oxygen radical production by dialysis membranes.  
*Nephrol Dial Transplant.* 1988;3(5):661-5.

59. Lambert J, Aarsen M, Donker AJ, Stehouwer CD  
Endothelium-dependent and -independent vasodilation of large arteries in normoalbuminuric insulin-dependent diabetes mellitus.  
*Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1996 May;16(5):705-11.
60. Levey AS, Eknoyan G.  
Cardiovascular disease in chronic renal disease.  
*Nephrol Dial Transplant.* 1999 Apr;14(4):828-33.
61. Ling W, Lougheed M, Suzuki H, Buchan A, Kodama T, Steinbrecher UP.  
Oxidized or acetylated low density lipoproteins are rapidly cleared by the liver in mice with disruption of the scavenger receptor class A type I/II gene.  
*J Clin Invest.* 1997 Jul 15;100(2):244-52.
62. Linnenweber S, Lonnemann G.  
Effects of dialyzer membrane on interleukin-1beta (IL-1beta) and IL-1beta-converting enzyme in mononuclear cells.  
*Kidney Int Suppl.* 2001 Feb;78:S282-5.
63. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Pannier B, Safar ME, Day M, Metivier F.  
Cardiac and arterial interactions in end-stage renal disease.  
*Kidney Int.* 1996 Aug;50(2):600-8.
64. London G, Guerin A, Marchais S, Levy B.  
[Evaluation of arterial compliance in renal insufficiency]  
*Arch Mal Coeur Vaiss.* 1991 Sep;84 Spec No 3:63-6. French.
65. London GM, Guerin A, Pannier B, Marchais SJ, Benetos A, Safar MG.  
Increased systolic pressure in chronic uremia role of arterial wave reflections.  
*Hypertension* 1992; 20: 10-19.
66. London GM, Druke TB.  
Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure.  
*Kidney Int.* 1997 Jun;51(6):1678-95.
67. Louie, S., Kim, B.K. & Zamecnik, P.  
Diadenosine 5',5''P1, P4-tetraphosphate, a potential antithrombotic agent  
*Thromb Res.* 1988; 49., 557-565.
68. Luescher TF.  
Hypertonie und Gefäßerkrankungen: molekulare und zelluläre Mechanismen.  
*Schweiz Med Wochenschr* 125: 270-282, 1995



69. Luthje J, Baringer J, Ogilvie A.  
Effects of diadenosine triphosphate (Ap3A) and diadenosine tetraphosphate (Ap4A) on platelet aggregation in unfractionated human blood.  
Blut. 1985 Dec;51(6):405-13.
70. Luthje J, Miller D, Ogilvie A.  
Unproportionally high concentrations of diadenosine triphosphate (Ap3A) and diadenosine tetraphosphate (Ap4A) in heavy platelets. Consequences for in vitro studies with human platelets.  
Blut. 1987 Apr;54(4):193-200.
71. Luthje, J. et Ogilvie, A.  
Diadenosine triphosphate (AP3A) mediates human platelet aggregation by liberation of ADP.  
Biochem. Biophys. Res. Commun.1984; 704-709
72. Luthje J, Ogilvie A.  
The presence of diadenosine 5',5'''-P1,P3-triphosphate (Ap3A) in human platelets.  
Biochem Biophys Res Commun. 1983 Aug 30;115(1):253-60.
73. Luthje J, Ogilvie A.  
Catabolism of Ap4A and Ap3A in whole blood. The dinucleotides are long-lived signal molecules in the blood ending up as intracellular ATP in the erythrocytes.  
Eur J Biochem 1988; 173: 241-245.
74. Mangoni AA, Mircoli L, Giannattasio C, Mancina G, Ferrari AU.  
Effect of sympathectomy on mechanical properties of common carotid and femoral arteries.  
Hypertension. 1997 Nov;30(5):1085-8.
75. Martin-Malo A, Castillo D, Castro M, Perez R, Rios A, Jaraba M, Aljama P.  
Biocompatibility of dialysis membranes: a comparative study.  
Nephrol Dial Transplant. 1991;6 Suppl 2:55-8.
76. Mateo J, Rotllan P, Marti E, Gomez De Aranda I, Solsona C, Miras Portugal MT.  
Diadenosine polyphosphate hydrolase from presynaptic plasma membranes of Torpedo electric organ.  
Biochem J. 1997 May 1;323 (Pt 3):677-84.

77. Miyazaki H, Matsuko H, Itabe H, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T:  
Haemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress.  
*Circulation*. 2000 Mar 7;101(9):1002-6.
78. Moncada S, Higgs A.  
The L-arginine-nitric oxide pathway.  
*N Engl J Med*. 1993 Dec 30;329(27):2002-12.
79. Munoz de Bustillo E, Alvarez Chiva V.  
Leukocyte--endothelial cell interactions in haemodialysis-induced neutropenia.  
*Nephrol Dial Transplant*. 1996 Apr;11(4):572-4.
80. Nguyen-Khoa T, Massy ZA, De Bandt JP, Kebede M, Salama L, Lambrey G,  
Witko-Sarsat V, Drueke TB, Lacour B, Thevenin M.  
Oxidative stress and haemodialysis: role of inflammation and duration of dialysis  
treatment.  
*Nephrol Dial Transplant*. 2001 Feb;16(2):335-40.
81. Nishizawa Y, Shoji T, Kawagishi T, Morii H.  
Atherosclerosis in uremia: possible roles of hyperparathyroidism and intermediate  
density lipoprotein accumulation.  
*Kidney Int Suppl*. 1997 Nov;62:S90-2.
82. Ogilvie A.  
Extracellular functions for ApnA. in: McLennan AG, editor, Ap4A and Other Di-  
nucleoside Polyphosphates, CRC Press, Boca Raton, FL, 1992, pp.229-273.
83. Palmer RM, Ashton DS, Moncada S.  
Vascular endothelial cells synthesize nitric oxide from L-arginine.  
*Nature*. 1988 Jun 16;333(6174):664-6.
84. Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Safar ME, London GM.  
Postischemic vasodilation, endothelial activation, and cardiovascular remodeling  
in end-stage renal disease.  
*Kidney Int*. 2000 Mar;57(3):1091-9.
85. Pintor J, Diaz-Rey MA, Torres M, Miras-Portugal MT.  
Presence of diadenosine polyphosphates--Ap4A and Ap5A--in rat brain synaptic  
terminals. Ca<sup>2+</sup> dependent release evoked by 4-aminopyridine and veratridine.  
*Neurosci Lett*. 1992 Mar 2;136(2):141-4.

86. Pintor J, Torres M, Miras-Portugal MT.  
Carbachol induced release of diadenosine polyphosphates--Ap4A and Ap5A--  
from perfused bovine adrenal medulla and isolated chromaffin cells.  
Life Sci. 1991;48(24):2317-24.
87. Pohl U, Holtz J, Busse R, Bassenge E.  
Crucial role of endothelium in the vasodilator response to increased flow in vivo.  
Hypertension. 1986 Jan;8(1):37-44.
88. Pohl U, Ogilvie A, Lamontagne D, Busse R.  
Potent effects of AP3A and AP4A on coronary resistance and autacoid release of  
intact rabbit hearts.  
Am J Physiol. 1991 May;260(5 Pt 2):H1692-7.
89. Ralevic V, Hoyle CH, Burnstock G.  
Pivotal role of phosphate chain length in vasoconstrictor versus vasodilator ac-  
tions of adenine dinucleotides in rat mesenteric arteries.  
J Physiol. 1995 Mar 15;483 ( Pt 3):703-13.
90. Rees DD, Palmer RM, Moncada S.  
Role of endothelium-derived nitric oxide in the regulation of blood pressure.  
Proc Natl Acad Sci U S A. 1989 May;86(9):3375-8.
91. Renemann RS, van Merode T, Hick P, Hoeks AP.  
Cardiovascular applications of multi-gate pulsed Doppler systems.  
Ultrasound Med Biol. 1986 May; 12(5): 357-70.
92. Ritz E, Deppisch R, Stier E, Hansch G.  
Atherogenesis and cardiac death: are they related to dialysis procedure and bio-  
compatibility?  
Nephrol Dial Transplant. 1994;9 Suppl 2:165-72.
93. Rodriguez del Castillo A, Torres M, Delicado EG, Miras-Portugal MT.  
Subcellular distribution studies of diadenosine polyphosphates--Ap4A and Ap5A--  
-in bovine adrenal medulla: presence in chromaffin granules.  
J Neurochem. 1988 Dec;51(6):1696-703.
94. Rodriguez-Pascal F, Torres M, Rotllan P, Miras-Portugal MT.  
Extracellular hydrolysis of diadenosine polyphosphates, ApnA, by chromaffin  
cells in culture.  
Arch Biochem Biophys 1992;297:176-183.

95. Rotilan P, Ramos A, Pintor J, Torres M, Miras-Portugal MT.  
Di(1,N6-ethenoadenosine)5', 5'''-P1,P4-tetraphosphate, a fluorescent enzymatically active derivative of Ap4A.  
FEBS Lett. 1991 Mar 25;280(2):371-4.
96. Ryan JW, Ryan US.  
Endothelial surface enzymes and the dynamic processing of plasma substrates.  
Int Rev Exp Pathol. 1984;26:1-43.
97. Safar ME, Laurent S, Pannier BM, London GM.  
Structural and functional modifications of peripheral large arteries in hypertensive patients.  
J Clin Hypertens. 1987 Sep;3(3):360-7.
98. Schäfer HJ.  
Vergleichende Untersuchungen über die Elastizitätsverhältnisse der Aorta mit der Niederfrequenten Ballistokardiographie and der Pulswellengeschwindigkeitsmessung.  
Bonn (1966), 6-10, 17-20.
99. Schimmler W.  
Untersuchungen zu Elastizitätsproblemen der Aorta (Statistische Korrelation der PWG zu Alter, Geschlecht und Blutdruck)  
Arch Kreisl Forsch 47: 189-233.
100. Schluter H, Offers E, Bruggemann G, van der Giet M, Tepel M, Nordhoff E, Karas M, Spieker C, Witzel H, Zidek W.  
Diadenosine phosphates and the physiological control of blood pressure.  
Nature. 1994 Jan 13;367(6459):186-8.
101. Simpson P.  
Norepinephrine-stimulated hypertrophy of cultured rat myocardial cells is an alpha 1 adrenergic response.  
J Clin Invest. 1983 Aug;72(2):732-8.
102. Stachon A, Stegemann H, Hohage H, Rahn KH, Schlatter E.  
Effects of diadenosine polyphosphates on the intracellular Ca<sup>2+</sup> Concentration in endothelial cells.  
Cell Physiol Biochem. 1998;8(4):175-84.

103. Stavrou BM, Sheridan DJ, Flores NA.  
Cardiac electrophysiological and haemodynamic effects of diadenosine polyphosphates in the isolated perfused guinea-pig heart.  
J Physiol 1998;509P:150P-151P.
104. Steinmetz M, Schlatter E, Rahn KH, De Mey JGR.  
Diadenosine polyphosphates (APnA) exert different vasodynamic effects on innervated and non-innervated resistance arteries of the rat.  
Arch Pharmacol. 1988, 357 (suppl):R33.
105. Stuard S, Bonomini M, Settefrati N, Albertazzi A.  
Platelet-neutrophil interactions during hemodialysis: a proposed biocompatibility approach.  
Int J Artif Organs. 1998 Feb;21(2):75-82.
106. Suchow KL  
Untersuchung der Pulswellengeschwindigkeit als Mass der Gefaesselastizitaet bei Menschen verschiedener Berufe und bei verschiedenen Krankheiten.  
Berlin 1966; 32-37.
107. Tarng DC, Huang TP, Liu TY, Chen HW, Sung YJ, Wei YH.  
Effect of vitamin E-bonded membrane on the 8-hydroxy 2'-deoxyguanosine level in leukocyte DNA of hemodialysis patients.  
Kidney Int. 2000 Aug;58(2):790-9.
108. Tepel M, Bachmann J, Schluter H, Zidek W.  
Diadenosine polyphosphate-induced increase in cytosolic free calcium in vascular smooth muscle cells.  
J Hypertens. 1995 Dec;13(12 Pt 2):1686-8.
109. Vallance P, Collier J, Moncada S.  
Nitric oxide synthesised from L-arginine mediates endothelium dependent dilatation in human veins in vivo.  
Cardiovasc Res. 1989 Dec;23(12):1053-7.
110. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S.  
Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man.  
Lancet ii:997-1000, 1989.

111. Vallance P, Leone A, Calver A, Collier J, Moncada S.  
Accumulation of an endogenous inhibitor of nitric oxide synthesis in chronic renal failure.  
Lancet. 1992 Mar 7;339(8793):572-5.
112. Van der Giet M, Khattab M, Borgel J, Schluter H, Zidek W.  
Differential effects of diadenosine phosphates on purinoceptors in the rat isolated perfused kidney.  
Br J Pharmacol. 1997 Apr;120(8):1453-60.
113. Van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, Steyn M, Donker AJ, Stehouwer CD  
Endothelium-dependent vasodilatation is impaired in peritoneal dialysis patients.  
Nephrol Dial Transplant. 1998 Jul;13(7):1782-6.
114. Van Guldener C, Janssen MJ, Lambert J, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD  
Folic acid treatment of hyperhomocysteinemia in peritoneal dialysis patients: no change in endothelial function after long-term therapy.  
Perit Dial Int. 1998 May-Jun;18(3):282-9.
115. Van Guldener C, Lambert J, Janssen MJ, Donker AJ, Stehouwer CD.  
Endothelium-dependent vasodilatation and distensibility of large arteries in chronic haemodialysis patients.  
Nephrol Dial Transplant. 1997;12 Suppl 2:14-8.
116. Vanhoutte PM.  
Endothelium and control of vascular function. State of the Art lecture.  
Hypertension. 1989 Jun;13(6 Pt 2):658-67.
117. Varshavsky  
Diadenosine 5', 5''-P1, P4-tetraphosphate: a pleiotropically acting alarmone?  
Cell. 1983 Oct;34(3):711-2.
118. Ventura H, Messerli FH, Oigman W, Suarez DH, Dreslinski GR, Dunn FG, Reisin E, Frohlich ED.  
Impaired systemic arterial compliance in borderline hypertension.  
Am-Heart-J. (1984); 108:132-136.

119. Wilcken DE, Gupta VJ, Reddy SG.  
Accumulation of sulphur-containing amino acids including cysteine-homocysteine in patients on maintenance haemodialysis.  
Clin Sci (Colch). 1980 May;58(5):427-30.
120. Yang ZH, von Segesser L, Bauer E, Stulz P, Turina M, Luscher TF.  
Different activation of the endothelial L-arginine and cyclooxygenase pathway in the human internal mammary artery and saphenous vein.  
Circ Res. 1991 Jan;68(1):52-60.

**9 Abkürzungsverzeichnis**

ADMA	=	Dimethylarginin
ADP	=	Adenosindiphosphat
AMP	=	Adenosinmonophosphat
AP2A	=	Diadenosindiphosphat
AP3A	=	Diadenosintriphosphat
AP4A	=	Diadenosintetraphosphat
AP5A	=	Diadenosinpentaphosphat
AP6A	=	Diadenosinhexaphosphat
APnA	=	Diadenosinpolyphosphate
ATP	=	Adenosintriphosphat
BMI	=	Body Mass Index
β-TG	=	β-Thromboglobulin
CC	=	Compliance
cGMP	=	cyclisches Guanosinmonophosphat
CUP	=	Cuprophan
DAP	=	Diadenosinpolyphosphate
DBP	=	diastolischer Blutdruck
DC	=	Distensibilitätskoeffizient
DCC	=	Distensibilitätskoeffizient der A. carotis
DCI	=	isobarischer Distensibilitätskoeffizient
Dia. der A. brach.	=	Diameter der A. brachialis
EDRF	=	Endothelium Derived Relaxing Factor
EDTA	=	Äthylendiamintetraessigsäure (engl.) Ethylene Diamine Tetraacetic Acid
ELISA	=	heterogener Enzym-Immunoassay (engl.) Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay
FV	=	Fluss-induzierte Vasodilatation
FV rel.	=	relative Fluss-induzierte Vasodilatation
GMP	=	Guanosin-Monophosphat
H <sub>2</sub> O <sub>2</sub>	=	Wasserstoffperoxid
HD	=	Hämodialyse



HDL	=	High Density-Lipoproteins
HF	=	Herzfrequenz
HPLC	=	Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (engl.) High Performance / High Pressure Liquid Chromatography
HTGL	=	Hepatische Triglycerid-Lipase
HWZ	=	Halbwertszeit
IDL	=	Intermediate-Density Lipoprotein
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	=	Kaliumhydrogenphosphat
KOH	=	Kaliumhydroxid
LDL	=	Low-Density Lipoprotein
L-NMMA	=	L-Monomethyl-Arginin
min	=	Minuten
NH <sub>4</sub> OAc	=	Ammoniumacetat
Nitro-ind. Dilat.	=	Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation
NO	=	Nitroglycerin
n.s.	=	nicht signifikant
NV	=	Nitroglycerin-induzierte Vasodilatation
OxLDL	=	oxidiertes LDL
PA	=	Polyamid
PAN	=	Polyacrylnitril
PCA	=	Perchlorsäure
PMMA	=	Polymethylmethacrylat
POL	=	Polysulfon
PTH	=	Parathormon
PWG	=	Pulswellengeschwindigkeit
RIA	=	Radio-Immunassay
RP	=	Reversed Phase
SBP	=	systolischer Blutdruck
SEM	=	Standard Error of the Mean
TBAHSO <sub>4</sub>	=	Tetrabutylammoniumhydrogensulfat
TEAA	=	Triethylammoniumacetat
UV	=	Ultraviolett

## 10 Danksagung

Ich danke den Medizinisch-Technischen Assistentinnen der Medizinischen Poliklinik D, Frau Claudia Gördes und Frau Verena Holland, für ihre Assistenz bei der Durchführung der hier vorgestellten Untersuchungen.

Ganz herzlich danke ich auch Herrn Dr. Markus Kosch, der mich bei der Durchführung der Untersuchungen unterstützt und mir des Weiteren sehr wertvolle Anregungen beim Verfassen dieser Schrift gegeben hat.

Ganz besonders danke ich jedoch Herrn Priv.-Doz. Dr. med. Martin Hausberg für seine engagierte Betreuung. Ohne die von ihm ausgehende Anregung, wissenschaftliche Diskussion, materielle Ausstattung (Personalcomputer, Messgeräte und Software) und ständige ideelle Unterstützung wäre die Durchführung der vorliegenden Dissertation nicht möglich gewesen.

Schließlich danke ich Herrn Prof. Dr. Karl Heinz Rahn, der mir die Anregung gegeben hat, die in dieser Arbeit dargelegten Methoden zu erlernen und durch Verfassung dieser Schrift den doctor medicinae zu erlangen.



