

Unterschiede im Bereich der retinalen Mikrozirkulation bei Dialysepatienten und gesunden Probanden anhand dynamischer retinaler Gefäßanalyse

Patrizia Verena Glaser

Vollständiger Abdruck der von der TUM School of Medicine and Health der Technischen
Universität München zur Erlangung einer
Doktorin der Medizin (Dr. med.)
genehmigten Dissertation.

Vorsitz: Prof. Kathrin Schumann, Ph.D.

Prüfende der Dissertation:

1. apl. Prof. Dr. Christoph Schmaderer
2. Priv.-Doz. Dr. Georg Lorenz

Die Dissertation wurde am 22.06.2023 bei der Technischen Universität München eingereicht
und durch die TUM School of Medicine and Health am 10.04.2024 angenommen.

Inhalt

| | | |
|---------|--|----|
| 1 | Einleitung | 7 |
| 1.1 | Chronische Nierenerkrankung | 7 |
| 1.1.1 | Definition chronische Nierenerkrankung | 8 |
| 1.1.2 | Ursachen und Auswirkungen | 8 |
| 1.1.3 | Nierenersatztherapie | 9 |
| 1.1.3.1 | Dialysebehandlung | 9 |
| 1.1.3.2 | Hämodialyse und Hämofiltration | 10 |
| 1.1.3.3 | Gefäßzugang..... | 11 |
| 1.1.4 | Erhöhte kardiovaskuläre Mortalität..... | 11 |
| 1.2 | Chronische Inflammation und atherosklerotische Effekte | 13 |
| 1.2.1 | Chronische Inflammation bei Niereninsuffizienz..... | 13 |
| 1.2.2 | Atherosklerose..... | 13 |
| 1.3 | Die Mikrozirkulation..... | 16 |
| 1.3.1 | Anatomische und physiologische Grundlagen | 16 |
| 1.3.2 | Regulation der Mikrozirkulation | 16 |
| 1.3.3 | Endotheliale Dysfunktion..... | 17 |
| 1.3.4 | Untersuchung der retinalen Mikrozirkulation | 18 |
| 1.3.5 | Retinale Gefäßversorgung..... | 19 |
| 1.3.6 | Stimulation mit Flickerlicht..... | 20 |
| 1.4 | Dynamische Gefäßanalyse | 21 |
| 2 | Zielsetzung | 23 |
| 3 | Methoden und Materialien | 24 |
| 3.1 | Probandenkollektiv..... | 24 |
| 3.2 | Untersuchungsablauf..... | 25 |
| 3.3 | Blutentnahme..... | 25 |
| 3.4 | Dynamische Untersuchung des Augenhintergrunds..... | 25 |
| 3.4.1 | Aufbau und Messprinzip | 25 |
| 3.4.2 | Stimulation der retinalen Gefäße mit Flickerlicht | 27 |
| 3.4.3 | Untersuchungsablauf und Messprotokoll | 28 |
| 3.4.4 | Auswertung und Qualitätsbeurteilung..... | 30 |
| 3.5 | Statistische Testverfahren..... | 34 |
| 4 | Ergebnisse | 36 |
| 4.1 | Basisdemographie Studienpopulation | 36 |
| 4.1.1 | Dialysepatienten | 36 |
| 4.1.2 | Gesunde Probanden..... | 36 |

| | | |
|---------|---|----|
| 4.1.3 | Assoziationen innerhalb der Kohorten | 38 |
| 4.1.4 | Vergleich eingeschlossene versus ausgeschlossene Probanden | 42 |
| 4.2 | Vergleich Dialysekohorte und gesunde Probanden hinsichtlich DVA Parameter | 43 |
| 4.2.1 | Vergleich des Gefäßverhaltens unter Flickerlichtstimulation | 43 |
| 4.2.2 | Assoziationen innerhalb der Kohorten | 48 |
| 4.2.2.1 | Dialysepatienten | 48 |
| 4.2.2.2 | Gesunde Probanden | 49 |
| 4.3 | Untersuchung einer ausgesuchten Matchingkohorte | 50 |
| 4.3.1 | Basisdemographie Matchingkohorte | 50 |
| 4.3.2 | Vergleich Gesamtkohorte und Matchingkohorte | 51 |
| 4.3.3 | Vergleich der Gefäßdurchmesser unter Flickerlichtstimulation | 52 |
| 5 | Diskussion | 55 |
| 5.1 | Veränderung der retinalen Mikrozirkulation | 55 |
| 5.1.1 | Verminderte Gefäßdilataion durch Alterungsprozess | 55 |
| 5.1.1.1 | Unterschiede im Gefäßverhalten gesunder Probanden versus Dialysepatienten | 56 |
| 5.1.1.2 | Verminderte Gefäßreagibilität bei erhöhten Inflammationsmarkern | 57 |
| 5.1.2 | Beeinträchtigung der Vasodilatation bei Dialysepatienten bei Komorbiditäten | 58 |
| 5.1.3 | Veränderte Laborparameter bei Dialysepatienten | 59 |
| 5.2 | DVA als Untersuchungsmethode der Mikrozirkulation | 61 |
| 5.2.1 | Datengewinnung | 61 |
| 5.2.1.1 | Übertragbarkeit | 61 |
| 5.2.1.2 | Rekrutierung | 61 |
| 5.2.1.3 | Datenqualität abhängig von Patientencompliance | 62 |
| 5.2.2 | Einfache klinische Anwendbarkeit | 62 |
| 5.3 | Limitationen | 64 |
| 5.3.1 | Rekrutierung der Probanden | 64 |
| 5.3.2 | Reversibilität der mikrozirkulatorischen Veränderungen nicht zu erwarten | 65 |
| 5.3.3 | Vergleichbarkeit | 65 |
| 6 | Zusammenfassung | 66 |
| 7 | Literaturverzeichnis | 68 |
| 8 | Abbildungsverzeichnis | 75 |
| 9 | Tabellenverzeichnis | 76 |

Abkürzungsverzeichnis

| | |
|--------|--|
| ATP | Adenosintriphosphat |
| AV | Arterio-Venös |
| AVR | Arteriolar-to-Venular Ratio |
| BMI | Body Mass Index |
| CCD | Charge Coupled Device |
| cGMP | Zyklisches Guanosinmonophosphat |
| CKD | Chronic Kidney Disease |
| CRAE | Central Retinal Arteriolar Equivalent |
| CRP | C-reaktives Protein |
| CRVE | Central Retinal Venular Equivalent |
| DVA | Dynamic Vessel Analyzer |
| eNOS | Endotheliale NO-Synthase |
| EDTA | Ethylendiamintetraessigsäure |
| EPO | Erythropoetin |
| ESRD | End Stage Renal Disease |
| GFR | Glomeruläre Filtrationsrate |
| hsCRP | hochsensitives C-reaktives Protein |
| Hz | Hertz |
| IL-6 | Interleukin 6 |
| ISAR | Risk stratification in end-stage renal disease |
| LDL | Low Density Lipoprotein |
| mm | Millimeter |
| mmol/l | Millimol pro Liter |
| nm | Nanometer |

| | |
|-----------|----------------------------|
| MW | Mittelwert |
| µm | Mikrometer |
| NO | Stickstoffmonoxid |
| PEW | Protein-Energy-Wasting |
| PWV | Pulswellengeschwindigkeit |
| RVA | Retinal Vessel Analyzer |
| SD | Standardabweichung |
| S-VHS | Super Video Home System |
| TNF-alpha | Tumor Nekrose Faktor alpha |

1 Einleitung

Seit Langem ist bekannt, dass Personen mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz ein erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse haben. Hypertension, Diabetes und Dyslipidämien sind allesamt nicht nur Risikofaktoren für die Entwicklung einer Niereninsuffizienz, sondern auch für atherosklerotische Effekte. Diese wiederum haben einen negativen Einfluss auf das Gefäßsystem, wodurch es konsekutiv zu einer weiteren Verschlechterung der Nierenleistung kommt: Ein Circulus vitiosus. Darüber hinaus wird durch die bestehende Niereninsuffizienz das Renin-Angiotensin-Aldosteron System aktiviert, was zur Freisetzung von Entzündungsmediatoren führt und damit in der Folge zu einer weiteren Verstärkung der Atherosklerose [1]. Dieser Einfluss zeigt sich im Bereich der Makrozirkulation mit einer zunehmenden Gefäßversteifung. Ferner wirkt sich eine chronische Niereninsuffizienz auch auf die Gefäße der Mikrozirkulation aus. Die Möglichkeiten der Untersuchung dieses Gefäßsystems sind jedoch beschränkt auf wenige Organsysteme des Körpers, mit Ausnahme des Auges ist lediglich eine indirekte Beobachtung möglich. Alleine im Bereich der Retina bietet sich die einzigartige Möglichkeit der in-vivo Analyse des Kapillarsystems. Der Dynamic Vessel Analyzer ist ein dafür exzellent geeignetes Beobachtungstool. Er misst die Gefäßreagibilität unter Einfluss von Flickerlicht. Die damit einhergehende gesteigerte neuronale Aktivität äußert sich in einem erhöhten metabolischen Bedarf, was eine Dilatation der Kapillaren zur Folge hat. Anhand der Gefäßreagibilität der retinalen Kapillaren unter Lichtprovokation eröffnet sich die Möglichkeit der Untersuchung früher mikrozirkulatorischer Veränderungen, die mit der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz assoziiert sind.

Das Gefäßverhalten der Mikrozirkulation gesunder Probanden sowie von Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz wurde im Rahmen dieser Arbeit analysiert und ein Vergleich zwischen einem Kollektiv gesunder Probanden und Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz angestellt.

1.1 Chronische Nierenerkrankung

Chronische Nierenerkrankungen zeigen weltweit steigende Inzidenzen und Prävalenzen. In den Jahren 1995-2006 war in Deutschland ein kontinuierlicher Anstieg der Dialysepatienten zu verzeichnen (1995: 41.350, 2006: 66.508 Patienten). Die größte anteilige Steigerung ist in der Altersgruppe der über 65-jährigen zu finden [2]. Auch andere Länder wie die USA weisen steigende Zahlen an chronischen Nierenerkrankungen auf. Im Jahr 2004 wurde hier eine Zunahme der Inzidenz terminaler Niereninsuffizienz von 24% in der Gruppe der 65-74-jährigen

verzeichnet [3]. Steigende Fallzahlen bei Dialysepatienten sowie damit einhergehende Komorbiditäten und Folgekosten stellen das Gesundheitssystem vor erhebliche Herausforderungen. Eine Tatsache, die durch den zu erwartenden demographischen Wandel noch befeuert wird.

1.1.1 Definition chronische Nierenerkrankung

Als chronische Nierenerkrankung wird eine über einen längeren Zeitraum bestehende, progrediente Verschlechterung der Nierenfunktion bezeichnet. Definitionsgemäß liegt eine chronische Nierenerkrankung vor, wenn über einen Zeitraum von mehr als drei Monaten eine Einschränkung von Struktur oder Funktion der Nieren vorliegt [4]. Die Einteilung erfolgt dabei anhand dreier Kriterien: GFR, Albuminurie und Ursache der Niereninsuffizienz. Die chronische Niereninsuffizienz im Endstadium (ESRD, end-stage renal disease) umfasst diejenigen Patienten, die dialysepflichtig sind oder bereits eine Nierentransplantation erhalten haben [5]. Im Rahmen dieser Arbeit werden ESRD Patienten betrachtet, die sich im Stadium der Dialysepflichtigkeit befinden.

1.1.2 Ursachen und Auswirkungen

Der Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz können verschiedene Ursachen zugrunde liegen (siehe Abbildung 1). Neben den beiden häufigsten Ursachen Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie sind Glomerulopathien, interstitielle Nephritiden und hereditäre Erkrankungen an der Entstehung von Nierenschädigungen beteiligt.

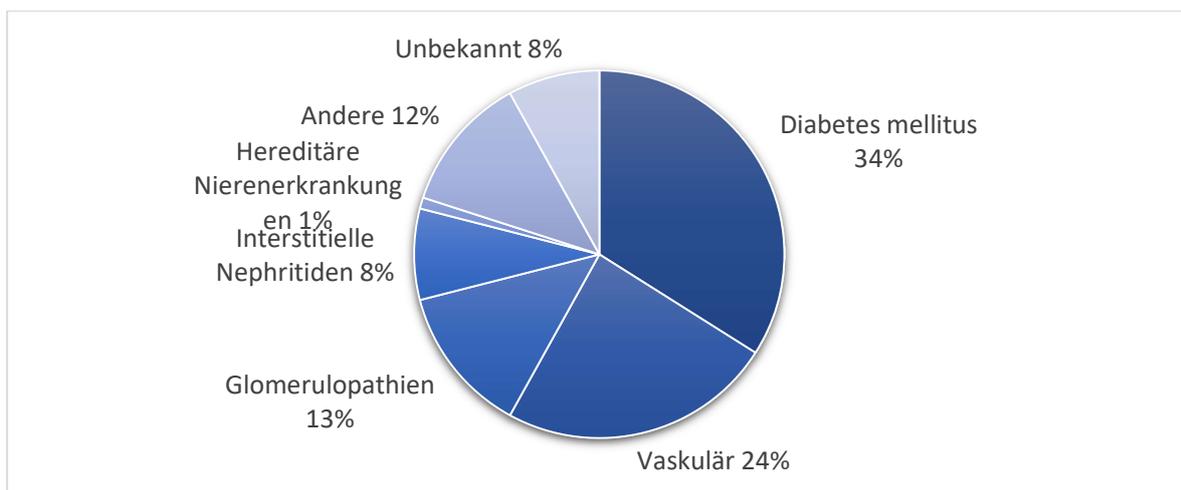


Abbildung 1: Ursachen Niereninsuffizienz [2]

Im Rahmen des Projekts QuaSi-Niere erfolgt seit 1994 in Deutschland eine Datenerhebung zu dialysepflichtigen und nierentransplantierten Patienten. Hier konnte eine deutliche Zunahme des Anteils an Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie als Ursache verzeichnet werden [2].

Die oben genannten Krankheitsbilder wirken sich auf die Niere aus, indem sie deren funktionelle Arbeitseinheit, das Nephron, schädigen. Mit dem Ausfall immer mehr Nephronen muss die Filtrationsleistung von einer stetig sinkenden Zahl an Glomeruli erbracht werden. Deren Funktionsleistung leidet in der Folge unter der Überbeanspruchung durch Drucksteigerung und Hyperfiltration wodurch es zu einem weiteren Untergang an Glomeruli und damit zu einer progredienten Abnahme der Nierenfunktion kommt [6]. Diese Organschädigung zieht eine Reihe an Komplikationen nach sich. Die reduzierte Filtrationsleistung führt zu einer verminderten Flüssigkeitsausscheidung mit Volumenüberladung und arterieller Hypertonie. Durch die Einschränkung der exkretorischen Funktion der Niere kommt es zur Akkumulation harnpflichtiger Substanzen, unter anderem Harnstoff, Kreatinin und beta2-Mikroglobulin. Die weitere Folge sind toxische Organschäden, auch Urämiesyndrom genannt. Dagegen hat die Einschränkung der inkretorischen Funktion der Niere Auswirkung auf verschiedene Hormonkreisläufe. Die mangelnde Produktion von Erythropoetin führt zur renalen Anämie. Zudem ist die Vitamin D Produktion beeinträchtigt. Elektrolytverschiebungen zeigen sich als Hyperkaliämie, Hypokalziämie und Hyperphosphatämie mit Begünstigung einer renalen Osteopathie [7].

1.1.3 Nierenersatztherapie

1.1.3.1 Dialysebehandlung

Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, bei denen konservative Maßnahmen zur Behandlung nicht mehr ausreichend sind, ist der Beginn einer Nierenersatztherapie indiziert. Der Zeitpunkt des Beginns ist immer eine individuelle Einzelfallentscheidung. Anhaltspunkte sind unter anderem ein Absinken der GFR und/oder Auftreten klinischer Zeichen einer Urämie, nicht korrigierbare Hypertonie, Hyperkaliämie, Hyperphosphatämie, Hypervolämie oder Azidose [8, 9].

Die Nierenersatztherapie dient dem Ersatz der exkretorischen Nierenfunktion bei akuter oder chronischer Nierenfunktionsstörung. Ziel ist die Entfernung harnpflichtiger Stoffe, der Entzug überschüssigen Körperwassers sowie die Korrektur des Elektrolyt- und Säure-Basen-Haushalts. Hierbei haben sich verschiedene Therapieregimes etabliert: Zum einen die Hämodialyse und Hämofiltration, extrakorporale Austauschverfahren unter Zuhilfenahme eines Filters, zum

anderen die Filtration über das Peritoneum bei der Peritonealdialyse. Kontinuierliche Verfahren werden meist im stationären Umfeld (z.B. in der Intensivmedizin), intermittierende Verfahren meist im ambulanten Kontext angewendet. Die einzig langfristig kurative Option ist die Nierentransplantation.

1.1.3.2 Hämodialyse und Hämofiltration

Das Prinzip der Dialyse besteht darin, den Patienten an einen extrakorporalen Kreislauf anzuschließen, dabei wird das Blut über Pumpsysteme durch das Dialysegerät transportiert. Zur Vermeidung der Koagulation des Blutes im externen Kreislauf ist eine Gerinnungshemmung essenziell. Dazu werden entweder systemisch Heparine verabreicht oder es erfolgt eine Antikoagulation mit Citratlösungen. Citrat bindet die im Blut enthaltenen Calciumionen, die als Faktor IV integraler Bestandteil der Gerinnungskaskade sind. Vor Rückführung des Blutes in den Patienten erfolgt dann die physiologische Calcium Substitution.

Hierbei unterscheidet man zwei unterschiedliche Verfahren, die Hämodialyse und die Hämofiltration. Bei der Hämodialyse erfolgt der Stoffaustausch per Diffusion über eine semipermeable Membran. Dem Patienten wird kontinuierlich Blut entnommen und über eine Pumpe in einen extrakorporalen Kreislauf eingespeist. Dabei wird es durch einen Dialysefilter geleitet, der aus Hohlfasern mit definierter Porengröße besteht. Diese Hohlfasern werden von einer Flüssigkeit, dem Dialysat, umspült, welche in Gegenstromrichtung zum Blutfluss geleitet wird [10]. Der so entstehende Konzentrationsgradient zwischen Blut und Dialysat ist maßgeblich für den Stoffaustausch verantwortlich. Das Druckgefälle (hydraulischer Druckgradient) zwischen Blut- und Dialysatseite und die Porengröße bestimmen den Flüssigkeitsentzug (= Ultrafiltration) [8]. So können insbesondere niedermolekulare Substanzen eliminiert werden. In der Regel findet die intermittierende Hämodialyse dreimal wöchentlich für die Dauer von vier bis fünf Stunden in ambulanten Dialyseeinrichtungen statt.

Bei der Hämofiltration erfolgt der Stofftransport ausschließlich mittels Konvektion. Durch einen hydraulisch erzeugten Druckgradienten an der Filtermembran werden große Mengen an Flüssigkeit und darin gelöste Substanzen abgepresst. Die Verwendung einer Dialysatlösung ist nicht erforderlich. Der Flüssigkeitsverlust übersteigt dabei die Menge an gewünschtem Ultrafiltrat, zum Ausgleich wird dem Patienten daher kontinuierlich eine sterile Substitutatlösung infundiert. Diese gleicht die Wasser- und gegebenenfalls die Elektrolytbilanz aus [8]. Die Substitution kann vor (Prädilution) oder hinter dem Hämofilter (Postdilution) erfolgen.

Die Hämodiafiltration ist eine Kombination beider Verfahren und vereint die Vorteile der Elimination niedermolekularer Substanzen bei der Hämodialyse mit der Entfernung höhermolekularer Substanzen bei der Hämofiltration und erlaubt so die effektivste Elimination harnpflichtiger Stoffe.

1.1.3.3 Gefäßzugang

Für die Durchführung einer Dialysebehandlung ist die Anlage eines Gefäßzugangs nötig, der die erforderlichen Flussraten gewährleistet. Dabei stellt die Anlage einer AV (arterio-venösen) -Fistel den Zugang der ersten Wahl dar, da diese mit dem geringsten Risiko für Infektionen und kardiovaskulären Komplikationen assoziiert ist [11, 12]. Dies bedarf jedoch einer rechtzeitigen Planung und chirurgischen Anlage, da zwischen Etablierung und Benutzbarkeit ein Zeitraum von ein bis drei Monaten liegen sollte. Üblicherweise wird hier eine Anastomose zwischen Arteria radialis und Vena cephalica angelegt. Synthetische Prothesenshunts stellen die zweitbeste Variante eines Gefäßzugangs dar, weisen jedoch bereits höhere Infektions- und Stenoseraten auf. Darüber hinaus können venöse Katheter sowohl als vorübergehender (v.a. nicht-getunnelt) als auch als dauerhafter Zugang (v.a. getunnelt) verwendet werden. Studien konnten jedoch belegen, dass der Einsatz venöser Kathetersysteme mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität assoziiert ist [13-15]. Es gibt jedoch Fälle, in denen die Verwendung eines AV-Shunts nicht möglich ist und daher nur die Alternative eines venösen Katheters bleibt. Dies sind unter anderem Patienten, mit frustriertem Versuch der Anlage einer AV-Fistel bzw. eines Prothesenshunts, Patienten mit bekannter eingeschränkter Pumpfunktion (Ejektionsfraktion < 30%) zur Vorbeugung einer kardialen Dekompensation [8]. In jedem Fall ist eine engmaschige Kontrolle des verwendeten Gefäßzugangs nötig, um Komplikationen wie Infektionen, Shuntverschlüsse oder Ischämiephänomene der Hand rechtzeitig erkennen und behandeln zu können.

1.1.4 Erhöhte kardiovaskuläre Mortalität

Zahlreiche Studien konnten bereits belegen, dass Patienten mit dialysepflichtiger Niereninsuffizienz ein erhöhtes Risiko für die Entwicklung von Atherosklerose und kardiovaskulären Zwischenfällen haben. Knapp die Hälfte der Todesfälle sind dabei auf kardiovaskuläre Ereignisse zurückzuführen [16]. Der Zusammenhang zwischen kardiovaskulärer Erkrankung und dialysepflichtiger Niereninsuffizienz begründet sich dabei nicht nur auf die gemeinsamen Risikofaktoren wie Nikotinabusus, Übergewicht, Hypertension, Hypercholesterinämie und Diabetes. Vielmehr konnte in epidemiologischen Studien

nachgewiesen werden, dass eine chronische Nierenschädigung einen unabhängigen Faktor für die Entwicklung einer kardiovaskulären Erkrankung darstellt [17-19]. Dabei ist eine reduzierte GFR assoziiert mit einem erhöhten Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis, Hospitalisierung und Tod, unabhängig von bekannten Risikofaktoren [20].

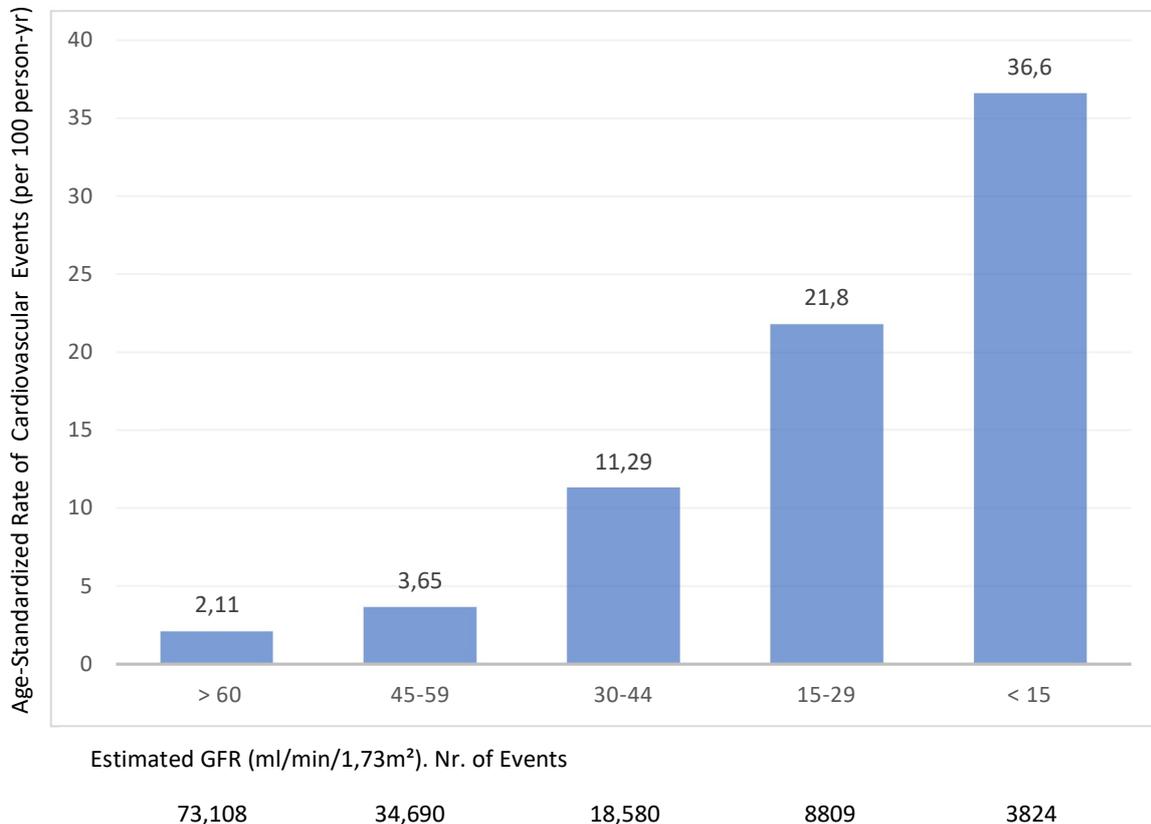


Abbildung 2: Kardiovaskuläre Events und GFR [20]

Die Anzahl an kardiovaskulären Todesfällen steigt dabei mit sinkender GFR an: Sie ist dreifach erhöht bei Patienten mit einer GFR von 15-29 ml/min/1,73m² im Vergleich zu nierengesunden Personen [17, 21, 22]. Diese Veränderungen betreffen alle Teile des Gefäßsystems bis hin zu den peripheren arteriellen und venösen Gefäßen mit erhöhter Koagibilität und der Gefahr von entstehenden Thrombembolien [23-25]. Damit stellen Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz eine Gruppe mit äußerst hohem Risiko für kardiovaskuläre Erkrankungen dar.

Beim Prozess der Entwicklung kardiovaskulärer Probleme bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz spielen verschiedene Faktoren eine Rolle. Einen großen Anteil haben inflammatorische Prozesse, oxidativer Stress und endotheliale Dysfunktion, die sich im

Gefäßsystem abspielen und dieses in physiologischem Verhalten und Funktionsweise beeinträchtigen.

1.2 Chronische Inflammation und atherosklerotische Effekte

1.2.1 Chronische Inflammation bei Niereninsuffizienz

Das Vorhandensein einer chronischen Inflammation bei Patienten mit Niereninsuffizienz ist lange bekannt und in zahlreichen Studien untersucht worden [26]. Dabei steigt die Prävalenz der Patienten mit vorliegender Entzündungsreaktion mit steigendem Grad der Niereninsuffizienz an [27]. Mehr als die Hälfte der Patienten mit Niereninsuffizienz Grad 3 oder höher weisen erhöhte CRP Werte auf, die Prävalenz steigt bei Patienten mit ESRD oder Dialysepflichtigkeit noch weiter [28]. Die Pathophysiologie der Entwicklung einer systemischen, chronischen Inflammation ist multifaktoriell. Hierbei kommen folgende Faktoren zum Tragen: Exogene Faktoren wie Dialysemembranen und Katheter, zelluläre Faktoren wie oxidativer Stress und Zellalterung, mikrobiologische Faktoren wie immunologische Dysfunktion, sowie die Retention von Urämietoxinen wie beispielsweise Indoxylsulfat [28]. Dabei konnte für erhöhte Serumwerte von CRP [29], TNF-alpha Rezeptor [30] und IL-6 [31] nachgewiesen werden, dass diese in Zusammenhang mit einer Verschlechterung der Nierenfunktion stehen [32]. Das CRP stellt einen wesentlichen Marker Akuter-Phase-Reaktionen beim Menschen dar. Bislang ist nicht eindeutig geklärt, ob das CRP lediglich als Indikator einer stetigen inflammatorischen Situation dient, oder ob das CRP selbst eine aktive Rolle bei vaskulären Schädigungen spielt [33].

Daneben wurde YKL-40, ein Glykoprotein, mit chronisch inflammatorischen Prozessen, darunter auch Atherosklerose und endotheliale Dysfunktion, bei Dialysepatienten in Verbindung gebracht [34, 35].

1.2.2 Atherosklerose

Der aktuelle wissenschaftliche Kenntnisstand sieht die Atherosklerose als eine chronische Entzündungsreaktion. Eine vorliegende Inflammation spielt eine zentrale Rolle bei der Atherogenese, inflammatorische Signalwege sind beteiligt in allen Phasen der Atheroskleroseentstehung, sowohl bereits im Frühstadium als auch bei Fortschreiten der Erkrankung [36]. Diese inflammatorischen Prozesse führen zu einer Veränderung der Gefäßwand, zusätzlich begünstigt durch das Vorliegen von weiteren schädigenden Einflussfaktoren wie arterieller Hypertonie, oxidierter Glukosemoleküle, erhöhtem Homozystein, erhöhtem LDL oder oxidativem Stress [37, 38]. Diese Beeinträchtigung der

Funktion des Endothels ohne zunächst sichtbare morphologische Veränderungen nennt man endotheliale Dysfunktion. Dabei kommt es zu einer erhöhten Permeabilität des Endothels für Lipoproteine und Plasmabestandteile [39, 40]. Das in der Gefäßwand abgelagerte LDL wird im weiteren Verlauf oxidiert und von Makrophagen vermittelt über den Scavenger-Rezeptor phagozytiert, wodurch sie sich zu Schaumzellen umwandeln [41, 42]. Makroskopisch werden sie als subendotheliale Fetteinlagerungen sichtbar [43].

Darüber hinaus kommt es zu einer Aktivierung des Endothels und damit zur vermehrten Adhäsion von Monozyten und T-Zellen. Die lokale Freisetzung verschiedener Mediatoren führt zur Einwanderung und Proliferation glatter Muskelzellen in die Gefäßwand [44]. Diese produzieren extrazelluläre Matrix, die die Fetteinlagerung umhüllt: Es entsteht ein typischer atherosklerotischer Plaque. Mit zunehmender Plaqueansammlung kommt es zu einem Elastizitätsverlust der Arterienwände, die Folge sind progrediente Gefäßversteifungen im makrozirkulatorischen Gefäßsystem [45, 46].

Inflammation und arterielles Remodelling

Arteriell Remodelling bezeichnet die funktionelle und strukturelle Veränderung der Gefäßwand als Reaktion auf Krankheit, Verletzung oder Alterung [47]. Bei den Umbauvorgängen spielen inflammatorische Prozesse und die Ausschüttung von Zytokinen eine wichtige Rolle. Diese Abläufe nehmen sowohl auf Gefäße der Makrozirkulation als auch auf die Gefäße der Mikrozirkulation Einfluss. Dabei müssen vor allem zwei Prozesse betrachtet werden: Die Verfügbarkeit von Stickstoffmonoxid als Schlüsselmolekül der endothelvermittelten Vasodilatation sowie eine zunehmende Steifigkeit der arteriellen Gefäße.

Stickstoffmonoxid (NO) ist nicht nur maßgeblich verantwortlich für die vasodilatatorische Antwort muskulärer Arterien und Arteriolen, sondern auch für die Dehnbarkeit großer Arterien. Durch das Vorliegen einer Inflammationsreaktion kommt es zu einer Verminderung des verfügbaren NO. Erhöhte CRP-Spiegel haben eine verminderte Expression der endothelialen NO-Synthase (eNOS) zur Folge, wodurch weniger NO produziert werden kann. Die Vermehrung reaktiver Sauerstoffspezies führt zu einer Inaktivierung verfügbaren NOs. Inflammatorische Zytokine wie TNF-alpha, Interleukin-6 und Interleukin-1 führen zudem über Zwischenstufen zu einer Verminderung der Substratverfügbarkeit der NO Produktion [48]. Die Folge ist eine reduzierte Bioverfügbarkeit von NO und damit die Ausbildung einer

endothelialen Dysfunktion sowie eine reduzierte vasodilatatorische Antwort auf veränderte Bedingungen.

Das Vorliegen einer chronischen Inflammation ist darüber hinaus assoziiert mit der Versteifung großer arterieller Gefäße. Hierbei spielen eine Vielzahl an Prozessen eine Rolle. Inflammation führt zu einer gesteigerten Synthese von Matrix-Metalloproteasen, welche zur Akkumulation steiferen Kollagens in der Gefäßwand führt [48]. Darüber hinaus kommt es durch oxidative Vorgänge, einer Erhöhung von C-reaktiven Proteins und der Ausschüttung von Zytokinen zu einer Beförderung kalzifizierender Prozesse. Fetuin-A, ein endogener Inhibitor der Kalzifizierung, wird inflammationsbedingt herunterreguliert, was einen unabhängigen Risikofaktor für eine zunehmende arterielle Versteifung bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz darstellt und assoziiert ist mit zunehmender Kalzifizierung großer Arterien [49, 50]. Inflammatorische Prozesse führen ferner zu einer Aktivierung glatter Muskelzellen, deren Migration und Proliferation sowie zu einer Veränderung in der Zusammensetzung der extrazellulären Matrix [47, 49]. Die Folge ist eine Erhöhung der arteriellen Gefäßsteifigkeit.

Wechselseitiger Einfluss von Makro- und Mikrozirkulation

Verschiedene Studien konnten bereits zeigen, dass ein Zusammenhang zwischen Gefäßschädigungen der Makrozirkulation und Veränderungen der Mikrozirkulation besteht. Dabei ist eine erhöhte arterielle Gefäßsteifigkeit assoziiert mit Veränderungen des Kapillarbett in Zielorganen wie dem Herzen oder der Niere [51]. Triantafyllou et al konnten in ihrer Untersuchung bereits einen Zusammenhang belegen für retinale arterioläre Veränderungen und arterielle Gefäßsteifigkeit bei hypertensiven Patienten [52]. Ein erhöhter Blutdruck fördert die Versteifung großer Arterien, woraus ein erhöhter Pulsdruck resultiert. Dieser wiederum schädigt kleinere Arterien und Arteriolen im Herzen, der Niere und der Retina. Diese Veränderungen führen langfristig zu einem gesteigerten peripheren Widerstand, welcher seinerseits zu einer Erhöhung des Blutdrucks beiträgt [53]. Eine Auswirkung dieser Veränderungen der Gefäßsteifigkeit großer Arterien auf die Mikrozirkulation konnte bereits vielfach gezeigt werden, auch unabhängig vom Vorliegen einer Hypertension [54, 55]. Zudem haben Studien ergeben, dass es bei zunehmender Versteifung der großen Gefäße zu einer retinalen Gefäßverengung kommt. Arterielle Gefäßsteifigkeit ist demnach assoziiert mit verengten retinalen Gefäßkalibern [56]. Dieser Effekt betrifft nicht nur die retinalen Gefäße, sondern die Mikrozirkulation als Ganzes und nimmt damit auch Einfluss auf die renalen Kapillargefäße. Es kommt zu einer Verschlechterung der Nierenleistung.

1.3 Die Mikrozirkulation

1.3.1 Anatomische und physiologische Grundlagen

Das Gefäßsystem dient der Versorgung des Organismus und gewährleistet den Transport von Atemgasen, Nährstoffen, Botenstoffen und Metaboliten. Durch eine Vielzahl an Verzweigungen und Anastomosen ergibt sich eine enorme Gesamtoberfläche von mehr als 0,5 km² [57]. Nach anatomischem Aufbau und Gefäßdurchmesser lässt es sich einteilen in Makro- und Mikrozirkulation. Die Gefäße der Makrozirkulation zeichnen sich in der Regel durch einen dreischichtigen Wandaufbau (Intima, Media, Adventitia) aus. Die Mikrozirkulation umfasst die Gefäße der terminalen Strombahn mit einem Durchmesser unter 300 µm und setzt sich zusammen aus Arteriolen, Venolen und Kapillaren [58, 59]. Über glatte Gefäßmuskelzellen können Arteriolen und Venolen den Gefäßdurchmesser regulieren und sind damit für den überwiegenden Anteil des peripheren Widerstandes verantwortlich [60]. Eine Muskelkontraktion führt zu einer Verengung der Gefäße mit konsekutiver Reduzierung der Blutversorgung, eine Relaxation hingegen bewirkt eine Dilatation und damit eine Verbesserung der Perfusion im Zielgewebe. So wird sichergestellt, dass jede Zelle stets optimal versorgt wird. Der Gas- und Stoffaustausch zwischen Blut und Gewebe erfolgt in den Kapillaren mittels Diffusion. Für optimalen Stoffaustausch ist eine möglichst geringe Diffusionsstrecke von Vorteil, daher sind die Kapillarwände nur noch aus einer Schicht Endothelzellen und einer Basallamina aufgebaut. Man unterscheidet zudem drei Typen von Endothel, die je nach Zielgewebe funktionelle Unterschiede aufweisen: Kontinuierliches, fenestriertes und diskontinuierliches Endothel [61]. Die im Rahmen dieser Arbeit betrachteten mikrozirkulatorischen retinalen Gefäße sind ausschließlich vom kontinuierlichen Typ.

1.3.2 Regulation der Mikrozirkulation

An der Regulation des Gefäßwiderstandes sind unterschiedliche Mechanismen beteiligt, die den Blutfluss anhand der Anforderungen des Zielorgans steuern und je nach metabolischem und hämodynamischem Feedback Anpassungen vornehmen. Für eine einheitliche, synchrone Reaktion im gesamten Kapillarbett ist es nötig, dass die einzelnen Endothelzellen miteinander kommunizieren und stimulatorische Signale integrieren und weiterleiten [62]. Die interzelluläre Kommunikation erfolgt hierbei über sogenannte Gap Junctions, interzelluläre Kanäle, die sowohl zwischen Endothelzellen als auch zwischen Endothel und glatten Muskelzellen bestehen [63, 64]. Der vaskuläre Grundtonus wird bestimmt durch eine basale Freisetzung von Stickstoffmonoxid (NO) [65]. An den präkapillären Arteriolen erfolgt die Steuerung des

Blutflusses im nachgeschalteten Kapillarbett vor allem über Veränderung der hämodynamischen Bedingungen und über chemische Signale, diese können dann entweder eine Vasodilatation oder -konstriktion erwirken [66]. Eine veränderte Wandschubspannung oder die Bindung vasoaktiver Substanzen wie ATP oder Histamin führen zur vermehrten Bildung von NO, welches in der glatten Gefäßmuskulatur zu einer Relaxation und konsekutiv zu einer Vasodilatation führt. Vom Endothel synthetisiertes Endothelin hingegen führt zu einer Muskel- und damit einer Gefäßkonstriktion [67]. Darüber hinaus scheint ein Zusammenhang zwischen interstitiellem Sauerstoffpartialdruck und Gefäßtonus zu bestehen. Dabei führt ein niedriger Sauerstoffpartialdruck zu einer vaskulären Dilatation und umgekehrt [68].

1.3.3 Endotheliale Dysfunktion

Die endotheliale Dysfunktion beschreibt eine gestörte Regulation des Gefäßtonus. Dabei kommt es zur reduzierten Bioverfügbarkeit von Vasodilatoren, insbesondere NO oder einer Verminderung von aus dem Endothel stammenden konstriktiven Faktoren [69]. Als Folge entsteht eine Beeinträchtigung der endothelvermittelten Vasodilatation und damit eine veränderte Gefäßreaktivität.

Die Bildung von Stickstoffmonoxid erfolgt durch die endotheliale Isoform der Stickstoffmonoxid-Synthase, eNOS, die konstitutiv in gesunden Endothelzellen exprimiert wird [70]. Die Expression der eNOS wird unter anderem gesteigert durch Faktoren wie Zytokine, bakterielle Endotoxine oder eine veränderte Wandschubspannung [71]. Die eNOS wandelt L-Arginin in L-Citrullin um, wobei Stickstoffmonoxid entsteht. NO diffundiert in die glatte Gefäßmuskulatur, dort vermittelt es die Stimulation der Guanylatzyklase, wodurch es zu einem Konzentrationsanstieg von cGMP und damit zur Relaxation der glatten Gefäßmuskelzellen kommt [72].

Pathophysiologisch stehen Risikofaktoren wie steigendes Alter, Nikotinabusus, Hypercholesterinämie, arterielle Hypertonie und Hyperglykämie in Verbindung mit Veränderungen der Endothelfunktion und Begünstigung einer chronischen Entzündungsreaktion [73-75]. Als Antwort auf diese inflammatorischen Reize oder aber auch veränderte Strömungsverhältnisse im Gefäß kommt es initial zur sogenannten endothelialen Aktivierung, die dann zu Veränderungen der Genexpression und der Morphologie von Endothelzellen führt [71]. Im Rahmen von Entzündungsreaktionen entstandene freie Sauerstoffradikale führen zudem über verschiedene Mechanismen zur Inaktivierung von NO bzw. zur verminderten NO Synthese [76, 77]. Ferner ist bekannt, dass das C-reaktive Protein

ebenfalls die Fähigkeit hat, die NO Bildung zu dämpfen [78]. Eine Beeinträchtigung der eNOS oder eine Inaktivierung von NO führen zu einer Einschränkung der endothelvermittelten Vasodilatation.

Die unter 1.2.1 beschriebene chronische Entzündungsreaktion bei Dialysepatienten trägt so zur Ausbildung einer endothelialen Dysfunktion bei. Zudem scheint es weitere, bislang nicht vollständig erforschte Faktoren bei Patienten mit Niereninsuffizienz zu geben, die diese Entwicklung begünstigen. Studien konnten belegen, dass eine Beeinträchtigung der endothelvermittelten Vasodilatation bei Patienten mit moderater bis fortgeschrittener dialysepflichtiger Niereninsuffizienz vorliegt [79].

Das gesunde Endothel und insbesondere Stickstoffmonoxid weisen antiatherogene Effekte auf, indem sie Prozesse wie die Proliferation und Migration glatter Muskelzellen, die Oxidation von low density Lipoproteinen, Monozyten- und Thrombozytenadhärenz sowie die Synthese inflammatorischer Zytokine inhibieren [80]. Im Rahmen der endothelialen Dysfunktion und reduzierten NO Freisetzung kommt es zur Förderung proatherogener Effekte, was letztlich die Bildung arteriosklerotischer Plaques begünstigt.

Das Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion ist damit ein entscheidender Faktor bei der Entwicklung kardiometabolischer und renaler Krankheiten und ist assoziiert mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität [81-83]. Das Vorliegen gefäßschädigender Faktoren bedingt Beeinträchtigungen des gesamten Gefäßsystems, wobei die Ausbildung einer endothelialen Dysfunktion häufig makrozirkulatorischen Veränderungen voraus geht und daher bereits in einem frühen Stadium Hinweise auf das Vorliegen einer Risikokonstellation liefern kann [84].

1.3.4 Untersuchung der retinalen Mikrozirkulation

Die Möglichkeiten der nicht-invasiven Untersuchung der Mikrozirkulation sind beschränkt auf wenige Organsysteme. Bereits bekannte und erprobte Untersuchungen umfassen die Gefäße der Haut, der Bindehaut und der sublingualen Mukosa mittels Videomikroskopie, Laser-Doppler-Flowmetrie oder transkutaner Sauerstoffmessung [85]. Während bei allen genannten Ansätzen lediglich eine indirekte Beurteilung der Gefäßstruktur möglich ist, bietet die Retina die einzigartige Möglichkeit, die Gefäße der Mikrozirkulation nicht-invasiv und in vivo zu beobachten.

Die Retina entwickelt sich während der Embryogenese aus dem Diencephalon, und ist somit formal Teil des zentralen Nervensystems [86]. Aufgabe der Retina ist die Umwandlung des

einfallenden Lichtes in elektrische Impulse und Aktionspotenziale und deren Weiterleitung an das Sehzentrum des Gehirns. Bei Eingang eines Stimulus müssen dabei Blutfluss und Gewebeversorgung dynamisch an den Grad der neuronalen Aktivität angepasst werden. Diese Veränderungen der Gewebsperfusion lassen sich durch Beobachtung der retinalen Mikrozirkulation feststellen. Die retinalen Gefäße sind hierbei mittels Funduskopie, einer Beobachtung der einsehbaren Anteile der Retina und der versorgenden Blutgefäße, im Gegensatz zu anderen Geweben des Körpers direkt zu sehen und können so mittels geeigneter Untersuchungsmethoden in ihrem Verhalten genauer betrachtet werden. Hierbei ist nicht nur eine statische Momentaufnahme möglich, sondern auch die Beobachtung des Gefäßverhaltens unter Einfluss von Stimulationsfaktoren. Dies erlaubt eine Untersuchung des Gefäßes vor, während und nach Applikation eines Stimulus. So können Ableitungen getroffen werden, die eine räumliche und zeitliche Komponente enthalten.

1.3.5 Retinale Gefäßversorgung

Die arterielle Versorgung der Retina erfolgt über die Arteria ophtalmica, dem ersten intrakraniellen Ast der Arteria carotis interna. Die Arteria ophtalmica läuft durch das Foramen opticum in die Orbita und gibt dort als ersten Ast die Arteria centralis retinae ab [87]. Diese durchbricht die Lamina cribrosa, teilt sich dann an der Innenseite der Retina in vier Hauptäste auf und bildet im weiteren Verlauf ein Gefäßnetzwerk aus. Auf diese Weise erfolgt die arterielle Versorgung der inneren neuronalen Schichten der Retina. Die äußeren Schichten der Retina, Photorezeptorschicht und retinales Pigmentepithel, sind kapillarfrei. Ihre Versorgung erfolgt per Diffusion aus den Gefäßen der Choroidea, welche aus den Arteriae ciliares posteriores breves, ebenfalls Ästen der Arteria ophtalmica, gespeist werden [88]. Die zentralen retinalen Gefäße sind funktionelle Endäste, das bedeutet sie bilden keine Kollateralen untereinander oder mit anderen Gefäßen aus. Ein Verschluss führt daher unmittelbar zum Infarkt des jeweiligen Versorgungsgebiets [89].

Der venöse Abfluss erfolgt über die Kapillaren und Venolen in die Vortexvenen, die dann in die Vena ophtalmica superior drainieren. Diese vereinigt sich in der Fissura orbitalis superior mit der Vena ophtalmica inferior, der gemeinsame Abfluss erfolgt dann in den Sinus cavernosus [90].

Mittels Ophtalmoskopie lassen sich die retinalen Gefäße als einziges Kapillarsystem des Körpers in vivo beobachten. Damit ist es möglich, Veränderungen der Mikrozirkulation in Echtzeit unter dem Einfluss äußerer Faktoren zu beobachten.

Wie bereits unter 1.3.1 beschrieben zählen zur Mikrozirkulation alle Gefäße bis zu einem Durchmesser von 300 µm. Da alle von der Arteria centralis retinae abzweigenden Äste einen kleineren Gefäßdurchmesser aufweisen, durchschnittlich 50-200 µm bei den großen Arteriolen, zählt das gesamte retinale Gefäßsystems zur Mikrozirkulation [91]. Die retinalen Gefäße bestehen aus kontinuierlichem Endothel und Zonulae occludentes, die zusammen die innere Blut-Retina-Schranke bilden, welche nur für kleine Moleküle passierbar ist [92]. Die retinalen Gefäße besitzen keinerlei sonst für die Mikrozirkulation üblichen präkapillären Sphinkteren und verfügen ab Durchbrechen der Lamina cribrosa darüber hinaus nicht mehr über eine vegetative Innervation [93]. Damit kommt den lokalen Modulatoren wie NO im Bereich der retinalen Gefäße eine größere Bedeutung für die Regulation des Blutflusses zu als in anderen Stromgebieten. Im Umkehrschluss wirken sich krankhafte Veränderungen an den Regulationsmechanismen der Gefäßdurchmesser somit stärker auf das Versorgungsgebiet aus.

1.3.6 Stimulation mit Flickerlicht

Das zentrale Nervensystem zeichnet sich aus durch schnelle Änderungen der neuronalen Aktivität mit hoher zeitlicher und örtlicher Variation. Dies erfordert ein dichtes Kapillarnetz, welches eine prompte und schnelle Anpassung des Blutflusses an den veränderten Bedarf ermöglicht, um die adäquate Versorgung der Zellen mit Energie und Sauerstoff sowie den Abtransport von Metaboliten zu gewährleisten. Ebenso wie das ZNS ist die Retina aufgebaut aus einem Netz von Neuronen, das eine Vielzahl an eingehenden Signalen in kürzester Zeit verarbeiten und weiterleiten muss. Damit ist sie gleichermaßen angewiesen auf einen steten Blutfluss zur Aufrechterhaltung der zellulären Homöostase. Eine zentrale Rolle kommt dabei dem Prozess der neurovaskulären Kopplung zu. Dieser reguliert anhand der neuronalen Aktivität die Perfusion des zentralen Nervensystems und gewährleistet so die optimale, bedarfsgerechte Versorgung mit Sauerstoff und Energie. Ebenso wie im Gehirn ist damit auch der Blutfluss in der Retina an den Grad der neuronalen Aktivität gekoppelt. Ein Kausalzusammenhang zwischen neuronaler Aktivität und endothelabhängiger Vasodilatation wurde bereits für die retinale Mikrozirkulation beschrieben [94]. Eine Vielzahl an Studien konnte zeigen, dass retinale Gefäßdurchmesser während der Stimulation mit Flickerlicht durch die gesteigerte neuronale Aktivität zunehmen [95-97]. Dabei kommt es während der Stimulation mit Flickerlicht zu einem Anstieg der Kaliumkonzentration im Bereich des Nervus opticus. Erhöhter Glukoseverbrauch und der vermehrte Anfall von Laktat in der Retina sind weitere Faktoren, die einen erhöhten Metabolismus während der Stimulation anzeigen [94]. Zur Aufrechterhaltung der Zellversorgung kommt es zur endothelvermittelten retinalen

Vasodilatation, hierbei scheint NO der entscheidende Mediator zu sein. Studien konnten belegen, dass eine Hemmung der NO-Synthase zu einer signifikanten Reduktion der flickerinduzierten Vasodilatation führt [96, 98]. Bei Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion hingegen kommt es zu einer reduzierten Vasodilatation unter Provokation der Retina mit Flickerlicht [98, 99]. Retinale Gefäße können damit als wichtige Surrogatmarker des Gefäßbettes dienen. Die Funktionstüchtigkeit des vaskulären Endothels kann folglich durch Beobachtung der Gefäßdurchmesser während der Stimulation mit Flickerlicht evaluiert werden, da diese in intaktem Zustand zu einer Vasodilatation führt [100]. Die Untersuchung der retinalen Mikrozirkulation und deren Verhalten unter Stimulation liefert damit bereits in einem frühen Stadium Hinweise für das mögliche Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion [101].

1.4 Dynamische Gefäßanalyse

Bei der Beurteilung der Mikrozirkulation spielt der Zustand des Endothels eine entscheidende Rolle. Durch Provokation mit Flickerlicht kommt es an der Retina zu einer erhöhten metabolischen Aktivität, welche dann mittels neurovaskulärer Kopplung zur endothelvermittelten Vasodilatation und damit zu vermehrtem Blutfluss führt [102]. Dieses Phänomen lässt sich durch funduskopische Untersuchungen analysieren, welche einen direkten Blick auf die retinalen Gefäße ermöglichen. Die bedarfsgerechte Regulation des retinalen Blutflusses erfolgt durch autoregulatorische Mechanismen, welche sich an Veränderungen des Gefäßdurchmessers manifestieren. Dabei genügt es nicht, eine statische Momentaufnahme der retinalen Gefäßstruktur zu analysieren. Zur Beurteilung des Gefäßverhaltens ist eine kontinuierliche Messung sowohl im Ruhezustand als auch während des Einwirkens stimulatorischer Reize nötig. Diese Möglichkeit bietet die sogenannte dynamische Gefäßanalyse mit dem Dynamic Vessel Analyzer (DVA). Hierbei handelt es sich um ein Messgerät zur nicht-invasiven Messung und Beurteilung retinaler Gefäße im Zeitverlauf und unter Einwirkung von Lichtreizen. Es erfolgt mit dem DVA eine Beurteilung der Gefäßdurchmesser entlang selektierter Gefäße vor, während und nach der Stimulation mit Flickerlicht. Während einer 5-minütigen Untersuchungsdauer wird dabei das Auge dreimalig für 20 Sekunden mit Flickerlicht stimuliert. Erfasst werden hier jeweils entlang eines vorab selektierten arteriellen und venösen Gefäßabschnitts der Grundtonus, oder auch Baseline genannt, sowie Gefäßdilataion oder -konstriktion. Dabei reagiert ein gesundes Gefäß mit einer Vasodilatation während der Stimulation und mit einer Vasokonstriktion nach Beendigung des Stimulus.

Die Vorteile der Untersuchungsmethode sind vielfältig. Zum einen bietet sie eine hohe Sensitivität bezüglich der Detektion von Gefäßveränderungen [85, 103]. Zum anderen konnte bei wiederholten Messungen eine hohe Reproduzierbarkeit der retinalen Gefäßantwort auf Flickerlicht gezeigt werden [104]. Darüber hinaus ist die Methode einfach anwendbar und das Erlernen gestaltet sich für den Untersucher einfach und schnell. Außerdem beinhaltet der Untersuchungsablauf keine subjektive Komponente [105]. Die Messung erfolgt nicht-invasiv, bei zudem kurzer Untersuchungsdauer ist sie damit auch geeignet für ältere und vorerkrankte Personen. Zu erwähnen bleibt, dass zur adäquaten Beurteilung des Augenhintergrundes eine medikamentöse Mydriasis nötig ist. Zudem erfordert die Methode ein gewisses Maß an Mitarbeit seitens des Probanden in Bezug auf Einhalten der Kopf- und Blickposition sowie Offenhalten des Augenlids.

2 Zielsetzung

Das Gefäßsystem des Körpers unterliegt dem Einfluss einer Reihe endogener und exogener Einflussfaktoren. Dabei spielt auch das Vorliegen einiger Grunderkrankungen eine Rolle. So wurden beispielsweise die Auswirkungen von Diabetes mellitus oder arterieller Hypertonie auf das Gefäßsystem in diversen Studien untersucht und nachgewiesen. Die vorliegende Arbeit untersucht nun, ob auch ein derartiger Zusammenhang zwischen mikrozirkulatorischem Gefäßstatus und chronischer dialysepflichtiger Niereninsuffizienz besteht. Hierzu wurde das Gefäßverhalten der Mikrozirkulation dialysepflichtiger Patienten im Vergleich zu einer ausgewählten Gruppe gesunder Probanden untersucht. Dabei erfolgte die in vivo Beobachtung und Analyse der Reagibilität der retinalen Gefäße unter Provokation mit Flickerlicht mittels DVA Untersuchung. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wird die Frage geklärt, ob das Vorliegen einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz das Gefäßverhalten der Mikrozirkulation beeinflusst.

3 Methoden und Materialien

3.1 Probandenkollektiv

Das Studienkollektiv bestand aus zwei Gruppen, den Dialysepatienten und den gesunden Probanden. Im Rahmen der vorliegenden Arbeit wurden 220 gesunde Probanden untersucht. Die Rekrutierung der Studienteilnehmer erfolgte per Anzeigenschaltung in den Tageszeitungen Münchner Merkur, tz und Süddeutsche Zeitung. Die Probanden wurden mit Hinblick auf die festgelegten Ein- und Ausschlusskriterien telefonisch vorqualifiziert. Die Auswahl der Probanden erfolgte hinsichtlich Geschlecht und Alter so, dass das Kollektiv der gesunden Probanden mit den bereits untersuchten dialysepflichtigen Probanden in etwa vergleichbar war. Folgende Ausschlusskriterien waren festgelegt: Diabetes mellitus, unbehandelter Hypertonus, definiert als Werte über 140/90 mmHg, Erkrankung des Gefäßsystems, stattgehabter Apoplex oder transitorische ischämische Attacke, koronare Herzerkrankung inklusive Myokardinfarkt, Niereninsuffizienz oder andere chronische Erkrankungen der Niere, chronische Infektionskrankheiten (HIV, Hepatitis, Tuberkulose), erhöhter Augeninnendruck, Glaukom, degenerative Erkrankungen der Retina sowie Epilepsie. Weitere Ausschlusskriterien waren Schwangerschaft, bekannte Allergie auf Mydriatika und Fehlen eines schriftlichen Einverständnisses. Zudem wurden Probanden ausgeschlossen, die Calciumkanal-Inhibitoren sowie Nitratpräparate einnehmen, da diese Substanzklassen Einfluss auf die Vasodilatation haben. Einschlusskriterien waren Alter über 18 Jahre sowie schriftliches Einverständnis und Gesundheit entsprechend oben genannter Kriterien. Alle untersuchten Probanden legten ein schriftliches Einverständnis zur Teilnahme an der Studie ab und erhielten eine entsprechende Aufwandsentschädigung.

Folgende Probandendaten wurden erfasst: Geburtsdatum, Größe, Gewicht, Vorerkrankungen, Medikamenteneinnahme.

Die Rekrutierung der Dialysepatienten fand im Rahmen der ISAR Studie (rISk strAtification in end-stage renal disease) statt [106]. Einschlusskriterien waren hier ein Alter über 18 Jahren, Dialysepflichtigkeit von ≥ 90 Tagen und das Vorliegen eines schriftlichen Einverständnisses. Ausschlusskriterien waren eine vorliegende Infektion, Schwangerschaft, maligne Erkrankung sowie das Fehlen eines schriftlichen Einverständnisses [106].

3.2 Untersuchungsablauf

Der Untersuchungsablauf wurde analog des Untersuchungsaufbaus der ISAR Studie gestaltet. Dieser gliederte sich wie folgt: Aufklärung der Probanden, Blutentnahme, Messung des Blutdrucks nach fünfminütiger Ruhezeit, Gabe des Mydriatikums, Pulswellenmessung, statische Augenuntersuchung, dynamische Augenuntersuchung.

3.3 Blutentnahme

Die Blutentnahme erfolgte mit Hilfe von Serum und EDTA Röhrchen. Diese wurden im Labor des Klinikums Rechts der Isar untersucht und ausgewertet.

3.4 Dynamische Untersuchung des Augenhintergrunds

Bei der dynamischen Untersuchung des Augenhintergrundes erfolgt die nicht-invasive Messung und Beurteilung der retinalen Gefäße im Zeitverlauf und unter Einwirkung von Lichtreizen. Unter Verwendung des Systems Dynamic Vessel Analyzer (DVA, IMEDOS Systems, Jena, Germany) wurde der Durchmesser ausgewählter retinaler arterieller und venöser Gefäßsegmente im Untersuchungsverlauf aufgezeichnet und analysiert. Im Gegensatz zur Fundusfotographie, die lediglich eine statische Momentaufnahme des Augenhintergrunds erzeugt, ist somit eine Beurteilung des dynamischen Gefäßverhaltens möglich.

Das dem DVA ähnelnde Gerät Retinal Vessel Analyzer (RVA), ebenfalls IMEDOS Systems, Jena, Germany, wird ebenfalls oft für Untersuchungen der retinalen Gefäße eingesetzt, hat aber einen geringeren Funktionsumfang. Beide Geräte werden in der Literatur jedoch häufig synonym verwendet.

3.4.1 Aufbau und Messprinzip

Abbildung 3 zeigt den Aufbau des DVA Systems, das aus folgenden Komponenten besteht: Mydriatische Funduskamera, CCD (Charge Coupled Device), Analysekamera, Personal Computer mit Analysesoftware Visualis und Kontrollmonitor, SVHS Videorekorder, Provokationssystem.



Abbildung 3: DVA Arbeitsplatz [107]

Sowohl Beleuchtung als auch Beobachtung des Augenhintergrunds erfolgt durch die dilatierte Pupille über die zentrale Komponente des DVA Systems, die Funduskamera (FF450, Carl Zeiss GmbH, Jena, Germany). Das durch die verschiedenen retinalen Schichten reflektierte Licht wird über die CCD-Analysekamera erfasst. Die Analysekamera überträgt ein Standardvideosignal sowohl an den Personal Computer als auch an den S-VHS Videorekorder [107, 108]. Die Aufzeichnung der Aufnahmen über den Videorekorder ermöglicht spätere offline Auswertungen und Reevaluationen an verschiedenen Gefäßabschnitten. Für einen optimalen Kontrast enthält das Beleuchtungssystem einen integrierten Grünfilter.

Die Messung der Gefäßdurchmesser basiert auf der Tatsache, dass die darin zirkulierenden Erythrozyten auftreffendes Licht bei Wellenlängen von 400-620 nm absorbieren. Umliegendes Gewebe hingegen reflektiert das Licht weitestgehend [107]. Das bedeutet, dass ausschließlich die Erythrozytensäule im Gefäß messbar ist, Plasmastrom und Gefäßwand können durch die Kamera nicht detektiert werden (siehe Abbildung 4). In so erzeugten Helligkeitsprofilen heben sich die Gefäße dunkel gegen den hellen Augenhintergrund ab. Der Messalgorithmus des DVA-Systems ermittelt den Gefäßdurchmesser aus den erzeugten Helligkeitsprofilen und gleicht Störeinflüsse wie Schatten oder zusätzliche Reflektionen durch die Gefäßoberfläche aus. Die tatsächlichen Begrenzungen der Gefäßwand werden dann ermittelt aus den Hell-/Dunkel-Übergängen der Messprofile. Adaptive Module gleichen Verschiebungen des Messbereichs durch leichte Augenbewegungen aus und unterbrechen die Messung für Zeiträume, in denen keine ausreichende Datenqualität erreicht wird, wie z.B. während des Blinzeln [107]. Das DVA System kann Gefäße mit Durchmessern von 60 bis 200 μm

analysieren. Über eine markierte Strecke von bis zu 2 mm Länge erfolgt die kontinuierliche Aufzeichnung mit einer zeitlichen Auflösung von 25 Messungen pro Sekunde [105].

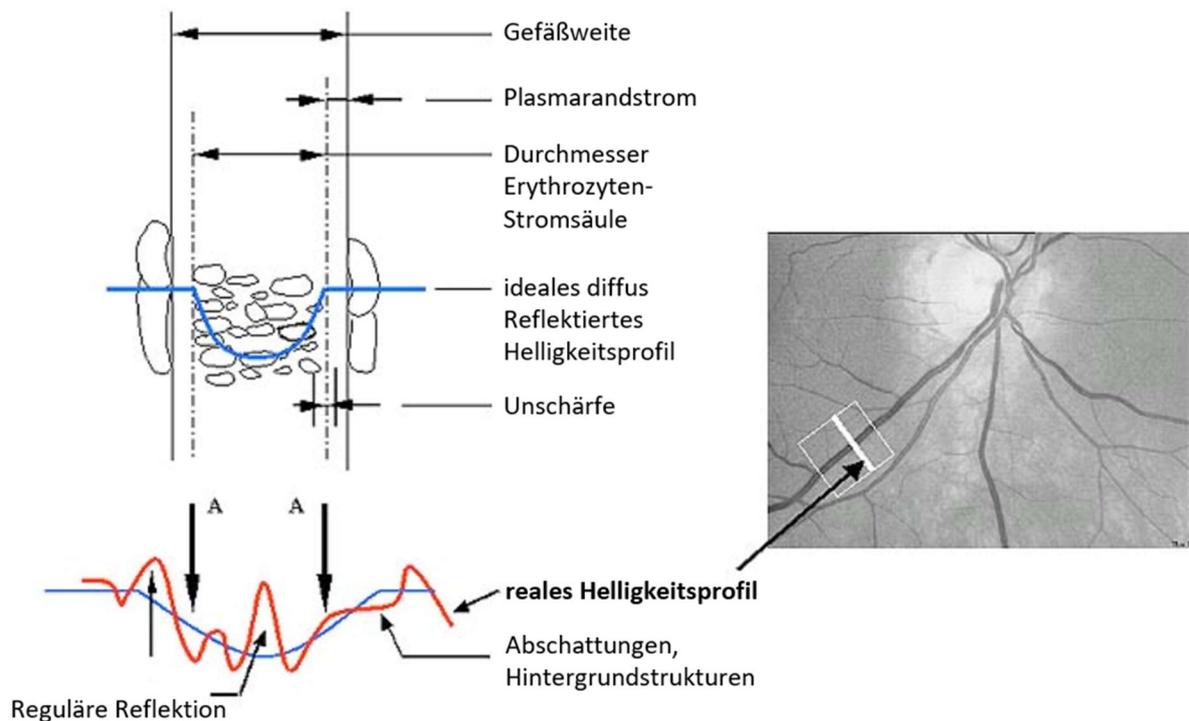


Abbildung 4: Messprinzip des DVA [109]

3.4.2 Stimulation der retinalen Gefäße mit Flickerlicht

Wie bereits in zahlreichen Studien gezeigt wurde, besteht ein Zusammenhang zwischen Stimulation der Retina mit Flickerlicht und Durchmesser der retinalen Gefäße. Die Einwirkung von Lichtreizen auf das Auge führt zu gesteigerter neuronaler Aktivität des Nervus opticus und zu einem konsekutiv erhöhten Sauerstoffbedarf. Die somit nötige Steigerung des Blutflusses wird auf Ebene der Mikrozirkulation über Dilatation der retinalen Gefäße erzielt. Dieser Effekt der Autoregulation wird auch als neurovaskuläre Kopplung bezeichnet [102, 110, 111]. Viele Studien konnten bereits einen Zusammenhang zeigen zwischen reduzierter retinaler Vasodilatation und verschiedenen Faktoren, die mit Veränderungen der Mikrozirkulation assoziiert sind [112]. Beispiele sind eine veränderte flickerinduzierte Vasodilatation bei Diabetes [113] oder unbehandelter arterieller Hypertonie [114].

Die Provokation mit Flickerlicht wurde in der vorliegenden Arbeit benutzt, um die Reaktivität der Gefäße anhand des Gefäßdurchmessers zu ermitteln.

3.4.3 Untersuchungsablauf und Messprotokoll

Zur Erzeugung des Flickerlichts enthält die Beleuchtungseinheit des DVA Systems einen optoelektrischen Shutter, der die Belichtung unterbricht und mit einem hell-zu-dunkel Verhältnis von 25:1 arbeitet. Somit entsteht die Bildfolge eines hellen und dunklen Einzelbildes, wobei die Messung immer im hellen Einzelbild erfolgt [105]. Die Flickerfrequenz liegt bei 12,5 Hz, da diese Frequenz [106] beim Menschen die maximale Dilatation retinaler Gefäße hervorruft [95, 114].

Die Probanden erhielten Tropicamid (0,5% Mydriatikum Stulln, Pharma Stulln, Deutschland) Augentropfen zur Dilatation der Pupille, das nicht beteiligte Auge wurde abgedeckt. Die Untersuchung erfolgte 20 Minuten nach Applikation des Mydriatikums in einem abgedunkelten Raum, um die bestmögliche Gefäßantwort zu erhalten [115]. Die Einstellung von Sitzposition sowie Kinnhöhe erfolgte individuell, um Messungenauigkeiten durch Körper- oder Kopfbewegungen zu minimieren. Über integrierte Auflagevorrichtungen für Kinn und Stirn des Probanden wurde ein gleichbleibender Abstand zwischen Fundus und Kamera sichergestellt und somit Vergrößerungseffekte durch Änderung des Messabstandes verhindert. Zur optimalen Bildeinstellung wurde vor Untersuchungsbeginn die Bildschärfe eingestellt und die Beleuchtung des Augenhintergrundes an den vorgegebenen Zielbereich angepasst. Es wurde streng darauf geachtet, dass während der Untersuchung keine Änderungen mehr an Belichtung und Schärfereinstellungen vorgenommen wurden, um Messfehler zu vermeiden. Zur Positionierung des Messbereichs im Kamerafokus und Blickfixation des Probanden während der Untersuchung enthält die optische Einheit eine Nadel, deren Spitze vom Probanden zu fixieren war. Der ausgewählte Messbereich wurde dann über die Software mit einem Markierungsrahmen festgelegt. Per Mausklick wird vom Untersucher jeweils ein darin liegendes arterielles und venöses Gefäß ausgewählt und über eine Strecke von ca. 1-2 mm Länge markiert. Ausgewählt wurden Gefäße mit Lage temporal und kranial der Papille, ein bis drei Papillendurchmesser von der Papille entfernt. Zudem wurde darauf geachtet, dass mindestens eine Gefäßbreite Abstand zwischen Arteriole und Venole lag und die Markierung nicht im Bereich von Gefäßkreuzungen erfolgte, damit das System das Signal eindeutig dem jeweils markierten Gefäß zuweisen kann.

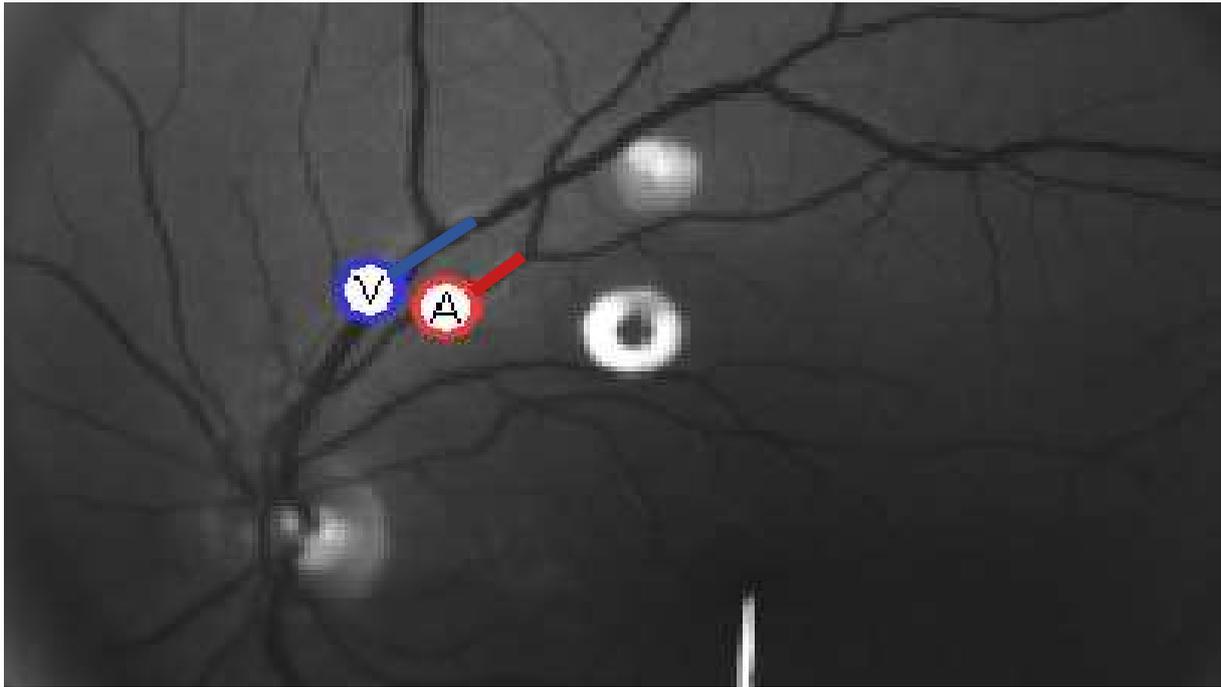


Abbildung 5: Augenhintergrund und Markierung A (Arteriole) und V (Venole)

Die Gefäßdurchmesser werden insgesamt für die Dauer von 350 Sekunden beobachtet. Zu Beginn erfolgt die Aufzeichnung einer Baseline für 50 Sekunden, zur Bestimmung des Ruhezustands der Gefäße. Darauf folgen drei Stimulationsperioden mit Flickerlicht für 20 Sekunden und einer jeweils nachfolgenden 80-sekündigen Ruhephase. Die Ruhephase dient dabei als Relaxationszeit der Gefäße vor der nächsten Provokation.

Während der Messung kann auf dem Monitor die Datenqualität und Durchgängigkeit des Messsignals beobachtet werden.

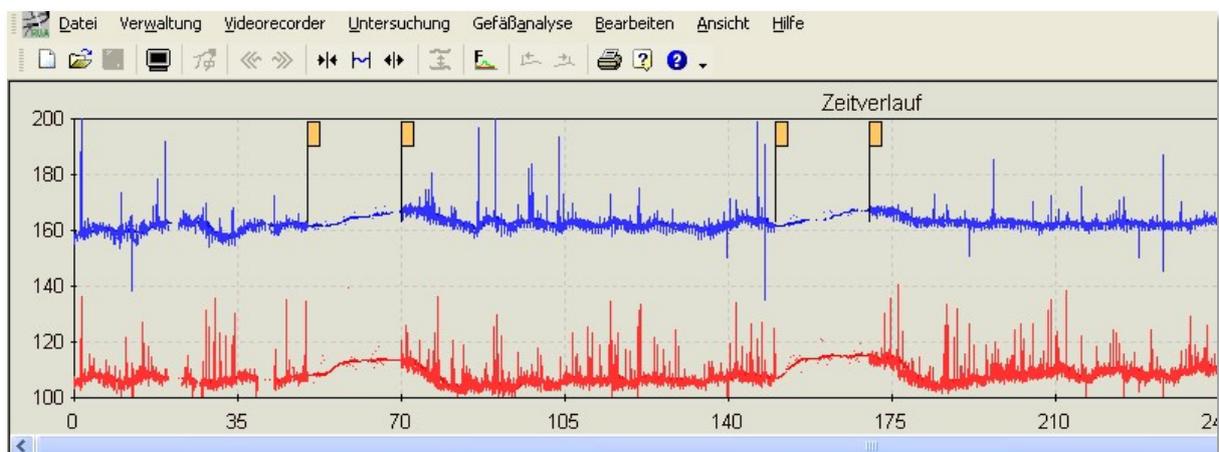


Abbildung 6: Messsignal Flickeruntersuchung

3.4.4 Auswertung und Qualitätsbeurteilung

Die Datenqualität wird anhand fünf verschiedener Kriterien beurteilt, die am Ende zu einem Score aufsummiert werden:

1. Durchführbarkeit einer Analyse
2. Erfassung einer kompletten Flickerperiode inklusive zugehöriger Baseline
3. Signal-Registrierung während der Flickerperiode
4. Rauschen der Messung
5. Signallücken im Messverlauf

Da die Messung sowohl ein arterielles als auch ein venöses Signal umfasst, erfolgte die Einstufung und Beurteilung der Qualität jeweils getrennt und separat für Venole und Arteriole. Im Folgenden werden die einzelnen Qualitätskriterien ausführlich erklärt.

1. Qualitätskriterium: Durchführbarkeit einer Analyse

Zu bewerten ist hier, ob die erfolgte Messung ausreichend ist für die Durchführung einer Datenanalyse. Bei nicht ausreichender aufgezeichneter Datenbasis ist eine Auswertung nicht möglich. Ist dieses Kriterium erfüllt, wird ein Punkt vergeben. Ist dies nicht der Fall, wird kein Punkt vergeben.

2. Qualitätskriterium: Erfassung komplette Flickerperiode inklusive zugehöriger Baseline

Zu beurteilen ist hier, ob mindestens eine komplette Flickerperiode vollständig aufgezeichnet wurde. Dazu wird zum einen der Zeitraum der Flickerperiode herangezogen (jeweils Sekunde 50-70, 150-170 und 250-270). Zum anderen wird die zugehörige Baseline betrachtet, die als Bezugspunkt für die gemessenen Veränderungen dient. Ist die Signalerfassung mindestens einmal komplett vorhanden, wird ein Scorepunkt vergeben werden. Ist dies nicht der Fall, wird kein Scorepunkt vergeben.

3. Qualitätskriterium: Signal-Registrierung während der Flickerperiode

Hierbei wird beurteilt, ob während der drei Flickerperioden eine konsistente und durchgängige Erfassung des Signals erfolgt ist. Ist dies bei allen drei Flickerzyklen der Fall, wird ein Scorepunkt vergeben. Ist dies nur bei einem oder zwei Flickerzyklen der Fall, wird lediglich ein halber Scorepunkt vergeben. Ist bei keinem Zyklus eine durchgängige Signalregistrierung zu sehen, wird kein Punkt vergeben.

4. Qualitätskriterium: Rauschen der Messung

Beim Punkt Rauschen der Messung werden die Signaloszillationen in Relation zu einer gedachten Grundlinie beurteilt. Schwankt die Messung stark und hat viele Ausschläge nach oben oder unten (große Amplitude), wird ein halber Scorepunkt vergeben, sind die Oszillationen hingegen gering, wird ein ganzer Scorepunkt vergeben.

5. Qualitätskriterium: Signallücken

Beurteilt wird die Durchgängigkeit des Signals bzw. die Häufigkeit und Dauer eventueller Signalausfälle. Für ein durchgängiges Signal wird ein Scorepunkt vergeben, sind es nur wenige Lücken, ein halber Scorepunkt.

Eine ideale Messung ergibt, wie oben beschrieben, einen maximalen Gesamtscore von 5,0 Punkten (siehe Tabelle 1). Um eine hohe Datenqualität und konsekutiv verlässliche, valide Ergebnisse zu erhalten, wurde in dieser Studie der Cut-Off der Qualitätsbeurteilung bei 2,5 Punkten angesetzt. Nur Messungen, die mindestens eine Punktzahl von 2,5 Punkten sowohl beim arteriellen als auch beim venösen Signal erreicht haben, wurden in die Datenauswertung eingeschlossen und berücksichtigt.

| Nr. | Qualitätskriterium | 1 Punkt | ½ Punkt | Kein Punkt |
|------------|---|--------------------------|--------------------|---------------------|
| 1 | Durchführbarkeit einer Analyse | Möglich | - | Nicht möglich |
| 2 | Erfassung komplette Flickerperiode inkl. Baseline | Mind. einmal vollständig | Bei kleinen Lücken | Keinmal vollständig |
| 3 | Signal-Registrierung während Flickerperiode | Bei drei Zyklen | Bei 1 -2 Zyklen | Kein Zyklus |
| 4 | Rauschen der Messung | Wenig | Sichtbar | Stark |
| 5 | Signallücken | Wenige und geringe | Wenige | Viele |

Tabelle 1: Qualitätsbewertung dynamische Gefäßuntersuchung

Da die Beurteilung der jeweiligen Qualitätskriterien nicht auf harten Wertekorridoren beruht, unterliegt diese bis zu einem gewissen Grad der subjektiven Einschätzung des Auswerters. Eine

etablierte Methode dieses Dilemma zu lösen ist die Validierung der Ergebnisse durch einen zweiten, unabhängigen Auswerter. Dazu wurden im Rahmen der ISAR Studie 20 zufällig ausgewählte Messungen von zwei Personen unabhängig voneinander evaluiert, wobei sich eine hohe Übereinstimmung der Ergebnisse zeigte. Für diese Studie wurde bei einem erreichbaren Gesamtscore von 5,0 Punkten eine Abweichung von maximal 0,5 Punkten zwischen den Ergebnissen zweier Untersucher als noch akzeptabel festgelegt. Die Interobserver Variabilität beträgt dabei +/- 0,5 Punkte. Die Intraclass Correlation Coefficients (ICCs) der arteriellen und venösen Messkurven ergaben einen ICC von (95% CI): 0.854 (95% CI, 0.674–0.939) bzw. 0.872 (95% CI, 0.709–0.947) [116].

Für die arteriellen und venösen Gefäße wurden Messkurven aus Durchmesser und Zeit mittels des medianen Gefäßdurchmessers aus drei Messzyklen berechnet. Das Zeitfenster der Erfassung des Maximums befindet sich im Bereich von vier Sekunden vor und einer Sekunde nach Beendigung des Flickerlichts (siehe Abbildungen 7 und 8). Die ermittelten Maximalwerte wurden geteilt durch den gemessenen Baseline-Durchmesser des jeweiligen Gefäßes und geben die prozentuale Dilatation bezogen auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline, an [116].

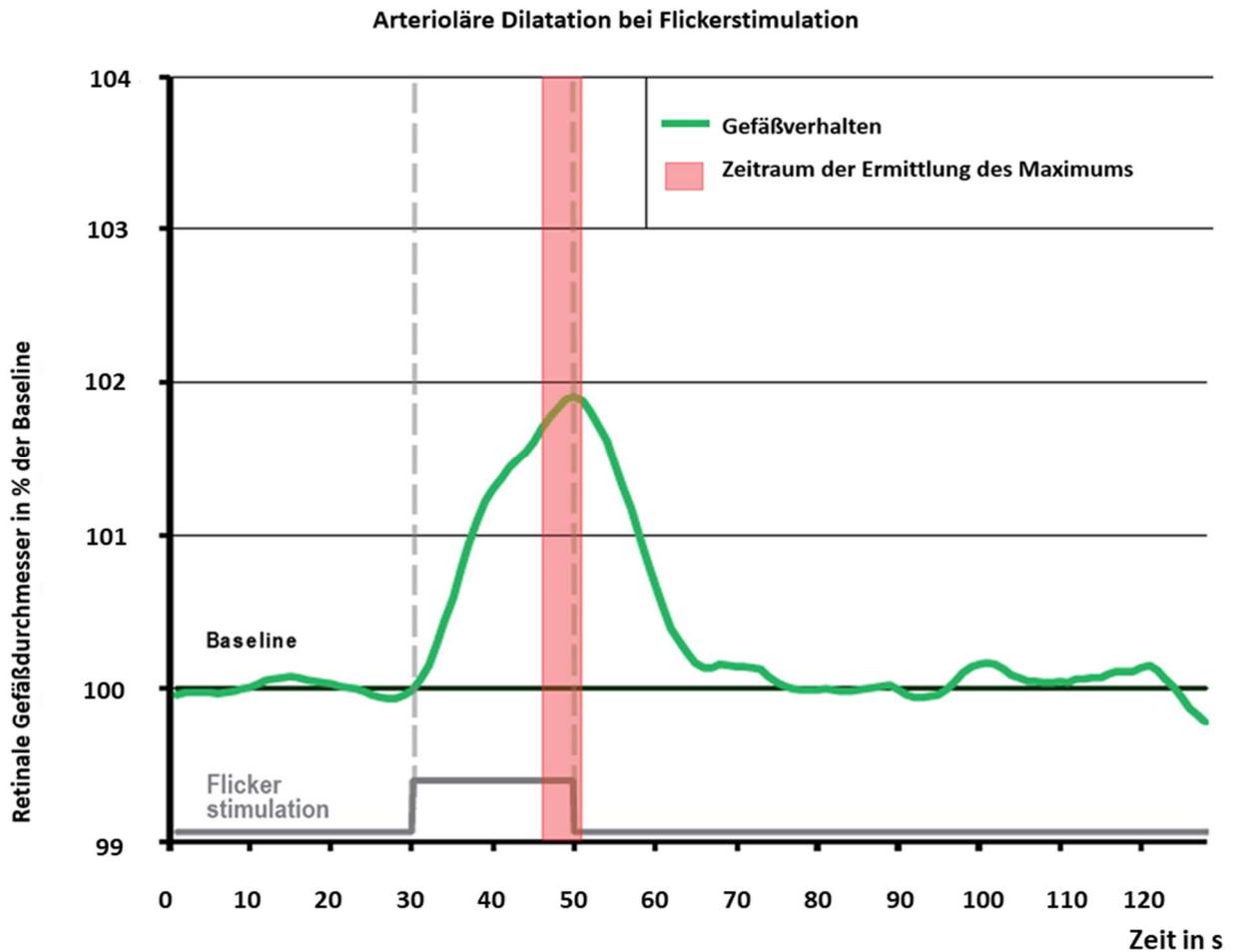


Abbildung 7: Beispielhafte Darstellung des arteriölären Gefäßverhaltens [116]. In grün dargestellt die Zeit-Durchmesser-Kurve der untersuchten Arteriole angegeben in Prozent der gemessenen Baseline (Berechnung: Maximalwerte der Gefäßdurchmesser -gemittelt über drei Flickerlichtzyklen- wurden geteilt durch den gemessenen Baseline-Durchmesser des jeweiligen Gefäßes. Diese ergeben dann die prozentuale Dilatation bezogen auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline). Der Zeitraum der Erfassung der maximalen Gefäßantwort wird durch den roten Balken angezeigt. Die hellgraue Linie am unteren Rand des Panels zeigt das Zeitprofil der 20-sekündigen Flickerlichtstimulation an.

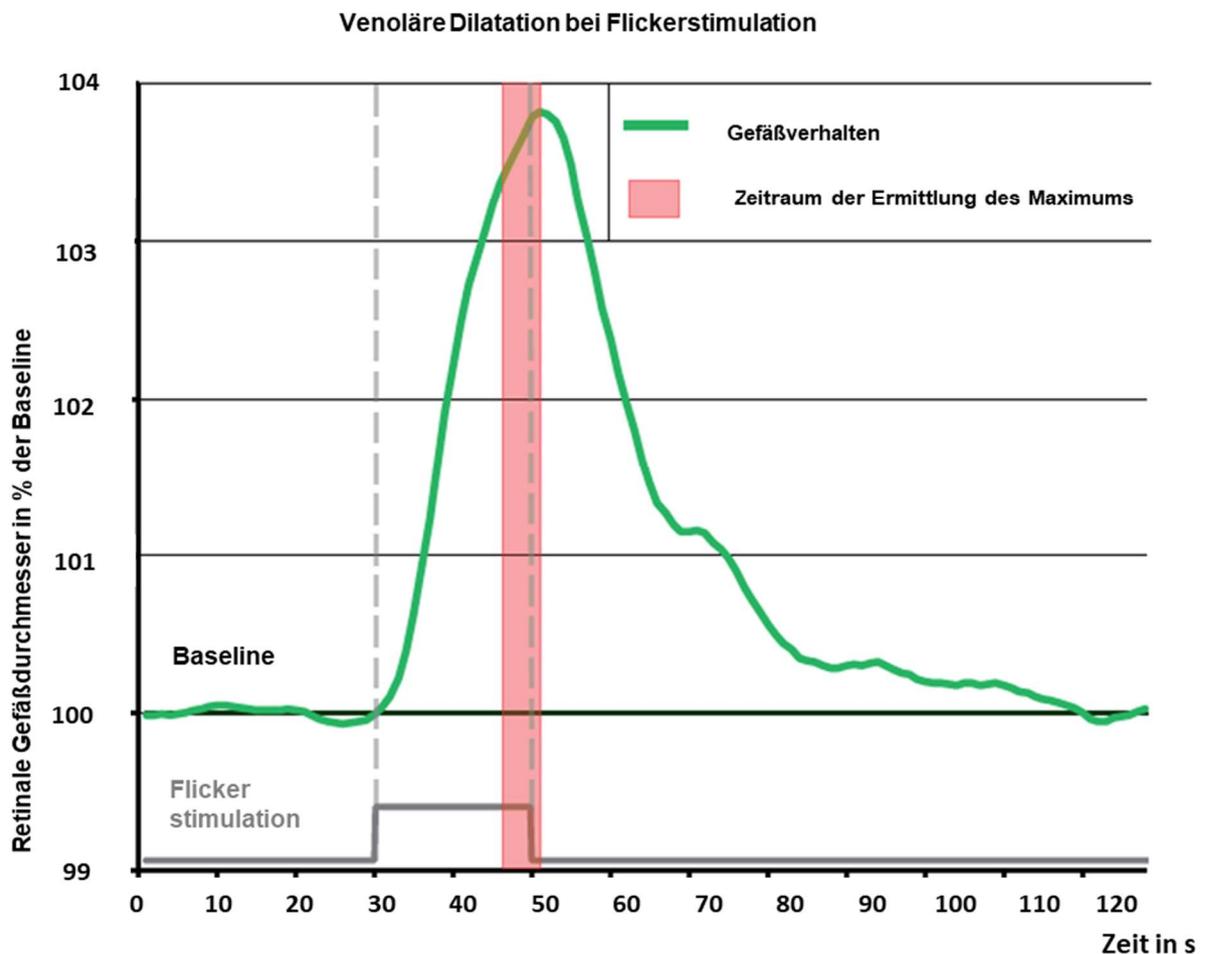


Abbildung 8: Beispielhafte Darstellung des venulären Gefäßverhaltens [116]. In grün dargestellt die Zeit-Durchmesser-Kurve der untersuchten Venole angegeben in Prozent der gemessenen Baseline (Berechnung: Maximalwerte der Gefäßdurchmesser -gemittelt über drei Flickerlichtzyklen- wurden geteilt durch den gemessenen Baseline-Durchmesser des jeweiligen Gefäßes. Diese ergeben dann die prozentuale Dilatation bezogen auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline). Der Zeitraum der Erfassung der maximalen Gefäßantwort wird durch den roten Balken angezeigt. Die hellgraue Linie am unteren Rand des Panels zeigt das Zeitprofil der 20-sekündigen Flickerlichtstimulation an.

3.5 Statistische Testverfahren

Die statistische Auswertung erfolgte mit der Software IBM SPSS für Windows Version 26 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA).

Für die deskriptive Statistik wurde bei den kontinuierlich skalierten Variablen der t-Test für unabhängige Stichproben verwendet. Es wurde der Mittelwert als Lagemaß und die

Standardabweichung als Streuungsmaß ermittelt. Für nominal skalierte Variablen kamen Kreuztabellen zum Einsatz. Um die vorliegenden Daten im Hinblick auf Normalverteilung zu beurteilen, wurde der Kolmogorov-Smirnov-Test durchgeführt. Zur Analyse der Korrelationen wurde der Korrelationskoeffizient nach Spearman (ρ) angewendet. Um zu zeigen, ob sich das Gefäßverhalten unter Flickerlichtstimulation signifikant zwischen den gesunden Probanden und den Dialysepatienten unterscheidet, wurde der Mann-Whitney U-Test verwendet. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0,05$ festgelegt.

4 Ergebnisse

4.1 Basisdemographie Studienpopulation

4.1.1 Dialysepatienten

Im Rahmen der ISAR Studie, “rISk strATification in end-stage Renal disease” wurden 287 dialysepflichtige Patienten bezüglich der retinalen Mikrozirkulation untersucht [106]. Davon konnten von 214 Patienten vollständige Datensätze für Blutdruckwerte, Laborparameter aus der Blutuntersuchung und DVA Analyse für die vorliegende Arbeit identifiziert werden. Die Mehrheit waren Männer (146 Personen = 68%). Das mittlere Alter zum Untersuchungszeitpunkt betrug 62,6 Jahre (+/- 15 Jahre). Unter den Teilnehmern befanden sich 47 Raucher (23%). Der Body Mass Index der Probanden lag bei 26,1 (+/- 5,5) und lag damit im altersentsprechenden Normbereich. Dieser Wert ist jedoch schwer zu interpretieren, da viele Dialysepatienten zu Beginn der Behandlung übergewichtig sind, mit fortschreitender Dialysedauer jedoch deutlich an Gewicht verlieren. Der hier angegebene BMI Wert gibt jedoch nur einen Durchschnitt an und kann keine Aussage zur Verteilung der Werte liefern. Nahezu die Hälfte der untersuchten Patienten wies eine vaskuläre Komorbidität (periphere arterielle Erkrankungen, stattgehabter Apoplex) auf, insgesamt 102 Patienten (48%), ferner hatten 65 Personen (30%) eine koronare Herzerkrankung.

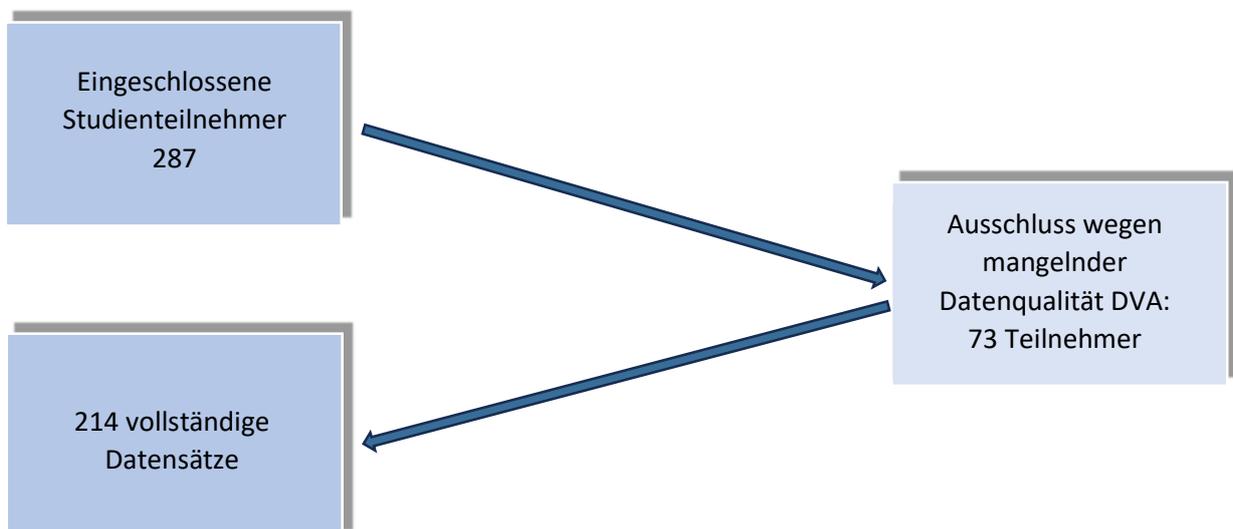


Abbildung 9: Studienteilnehmer Dialysepatienten

4.1.2 Gesunde Probanden

Als Kontrollgruppe wurde im Rahmen der vorliegenden Arbeit ein Kollektiv von 220 gesunden Probanden untersucht. Diese wurden nach Überprüfung der Ausschlusskriterien (siehe Kapitel

3.1.) hinsichtlich Geschlechts und Alter, soweit bei Rekrutierung möglich, ähnlich der Verteilung im bereits untersuchten Dialysekollektiv ausgewählt. Aufgrund mangelnder Datenqualität bei der DVA Untersuchung fielen 28 Probanden aus der Studie heraus. Die Auswertung erfolgte somit mit Datensätzen von 192 Probanden (siehe Abbildung 10). Dieses Kollektiv wird im Weiteren bezeichnet als Probandenkollektiv. Es bestand aus 192 Probanden, davon waren 80 Personen Männer (42%). Das mittlere Alter zum Untersuchungszeitpunkt betrug 65,6 (+/- 12,5) Jahre. Davon waren 39 Personen Raucher (20%). Der Body Mass Index der Probanden lag bei 24,4 (+/- 3,6).

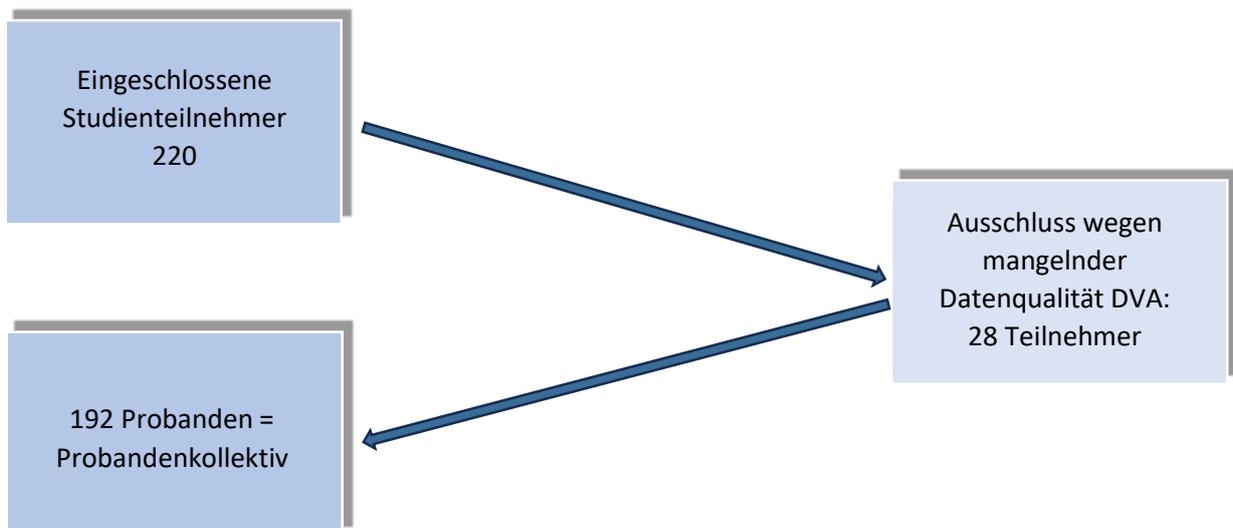


Abbildung 10: Studienteilnehmer gesunde Probanden

4.1.3 Assoziationen innerhalb der Kohorten

Die beiden Kohorten wurden hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Eigenschaften eingehend untersucht und miteinander verglichen, wobei sich folgende Ergebnisse zeigten:

| Parameter | Dialyse* | Gesund* | p-Wert |
|--|-----------------------------|-----------------------------|-------------------|
| Alter (MW ± SD) | 62,6 ± 15,0 (n=214) | 65,6±12,5 (n=192) | 0,030 |
| Geschlecht (männlich, %) | 146 (68%) (n=214) | 80 (42%) (n=192) | < 0,001 |
| BMI (MW±SD) | 26,1±5,5 (n=214) | 24,4±3,6 (n=192) | <0,001 |
| Systolischer Blutdruck (MW±SD) | 134 22 (n=214) | 132±15 (n=183) | 0,252 |
| Diastolischer Blutdruck (MW±SD) | 74±14 (n=214) | 85±13 (n=183) | <0,001 |
| Arterieller Mitteldruck (MW SD) | 94±15 (n=214) | 106±11 (n=183) | <0,001 |
| Nikotinabusus (in %) | 47 (23%) (n=202) | 39 (20%) (n=192) | 0,494 |
| Gesamtserumprotein (g/dl, MW±SD) | 6,7±0,6 (n=140) | 7,1±0,4 (n=174) | <0,001 |
| Serum Calcium (mmol/l, MW±SD) | 2,26±0,19 (n=214) | 2,40±0,10 (n=185) | <0,001 |
| Serum Phosphat (mmol/l, MW±SD) | 1,76±0,49 (n=214) | 3,45±0,48 (n=185) | <0,001 |
| Serum Kreatinin (mg/dl, MW±SD) | 9,13±2,78 (n=214) | 0,90±0,18 (n=185) | <0,001 |
| Harnstoff (mg/dl, MW±SD) | 64±16 (n=214) | 16±4 (n=185) | <0,001 |
| Hämoglobin (g/dl, MW±SD) | 11,9±1,2 (n=214) | 14,8±2,0 (n=174) | <0,001 |
| Leukozyten (10 ³ per µl, MW±SD) | 6,8±2,3 (n=214) | 6,2±2,5 (n=176) | 0,024 |
| hsCRP (mg/dl, Median [IQR]) | 0,36 [0,18-0,81] (n=199) | 0,13 [0,06-0,26] (n=185) | <0,001 |
| Koronare Herzerkrankung in % | 65 (30%) (n=214) | Keine | N/A |
| Diabetes mellitus in % | 66 (31%) (n=214) | Keine | N/A |
| Vaskuläre Komorbidität in % | 102 (48%) (n=214) | Keine | N/A |

Tabelle 2: Basisdemographie Dialysekollektiv und Probandenkollektiv. Angabe als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) für normal verteilte Variablen und als Median und Interquartilabstand (IQR) für nicht normal verteilte Variablen. Verwendung des t-Tests für normalverteilte Daten und des Mann-Whitney U-Tests für nicht normal verteilte Daten. * Erhobene Parameter teilweise nicht für alle Probanden/Patienten verfügbar, daher Angabe der Kollektivgröße einzeln je Parameter.

Alter, Geschlecht, BMI, Nikotinabusus: Hinsichtlich der erfassten Parameter Geschlecht, Alter und BMI bestand ein statistisch signifikanter Unterschied. Hinsichtlich des Nikotinabusus unterschieden sich die beiden Gruppen nicht signifikant.

Blutdruck: Für die erfassten systolischen Blutdruckwerte konnte kein signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen festgestellt werden (p-Wert 0,252). In Bezug auf den diastolischen Blutdruck sowie den arteriellen Mitteldruck gab es einen statistisch signifikanten Unterschied (p-Wert jeweils < 0,001).

Komorbiditäten: Als relevante Komorbiditäten mit Einfluss auf das Gefäßverhalten der Mikrozirkulation sind folgende Krankheiten bekannt: Diabetes mellitus, Hypercholesterinämie sowie arterielle Hypertonie. Des Weiteren haben Erkrankungen der Makrozirkulation Einfluss auf die Gefäße der Mikrozirkulation. Dazu gehören unter anderem die koronare Herzerkrankung sowie die periphere arterielle Verschlusskrankheit. Bei den Dialysepatienten wiesen nahezu die Hälfte der Studienteilnehmer eine vaskuläre Komorbidität auf (102 Personen, 48%). An Diabetes mellitus waren 66 Patienten erkrankt (31%). 65 Personen (30%) hatten eine koronare Herzerkrankung. Da die oben genannten Erkrankungen Ausschlusskriterien bei der Rekrutierung der gesunden Probanden waren, zeigten diese Patienten keine der Erkrankungen in der Vorgeschichte. Eine entsprechende Korrelation lässt sich bezüglich der Komorbiditäten daher nicht ausgeben.

Laborwerte: Es lässt sich feststellen, dass sich bei allen erfassten Laborparametern signifikante Unterschiede zwischen den beiden Gruppen ergeben. Interessant sind hierbei vor allem der CRP Wert, das Hämoglobin und das Gesamt-Serumprotein.

1. Durch die bei Dialysepatienten vorliegende chronische Inflammation zeigten sich die hier erhobenen Inflammationsparameter erwartungsgemäß erhöht. Der erhobene CRP Wert bei den Dialysepatienten lag bei 0,36 mg/dl [0,18 -0,81], p-Wert < 0,001. Die ermittelte Leukozytenzahl lag bei $6,8 \pm 2,3 \cdot 10^3$ per μl , p-Wert 0,024.

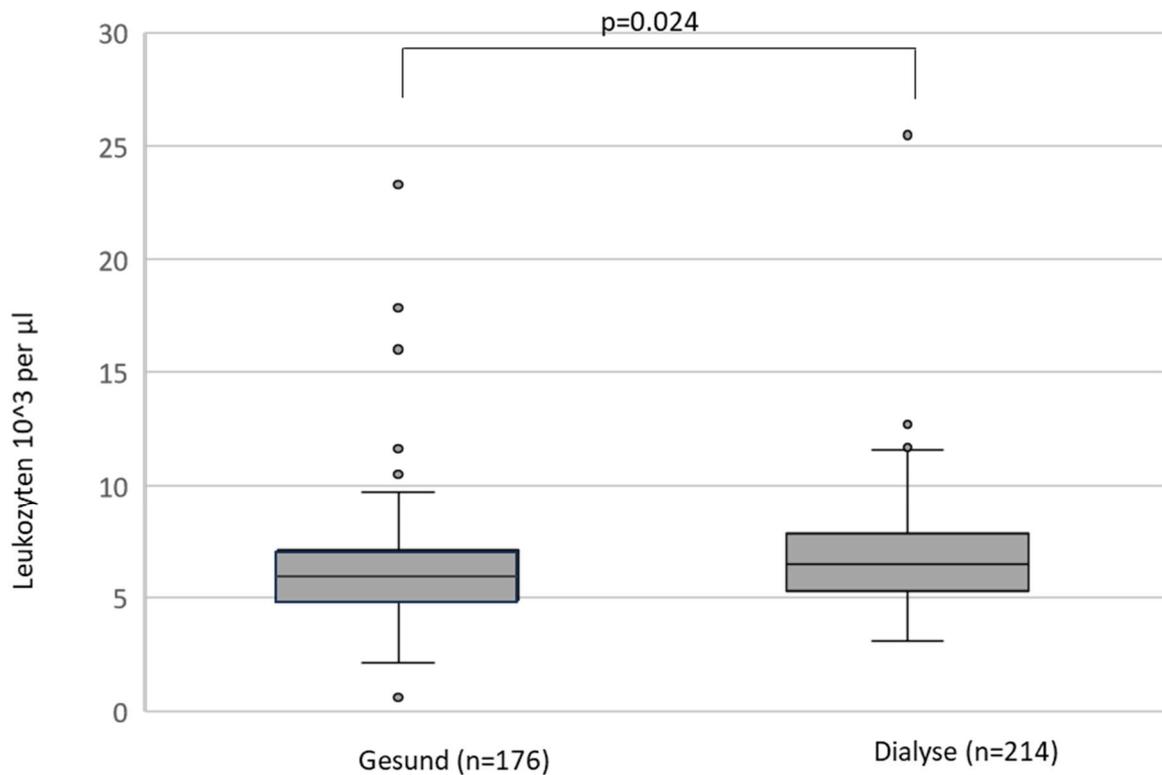


Abbildung 11: Leukozyten. Die horizontale Linie repräsentiert den Mittelwert (MW), die Box repräsentiert die Standardabweichung (SD). Die Whiskers geben das 95% Konfidenzintervall an. Verwendung des t-Tests für normal verteilte Daten.

2. Bedingt durch das Phänomen der renalen Anämie bei Dialysepatienten zeigte sich in dieser Kohorte auch der Hämoglobinwert erniedrigt mit $11,9 \pm 1,2$ g/dl (p-Wert $< 0,001$) im Vergleich zu den gesunden Probanden.

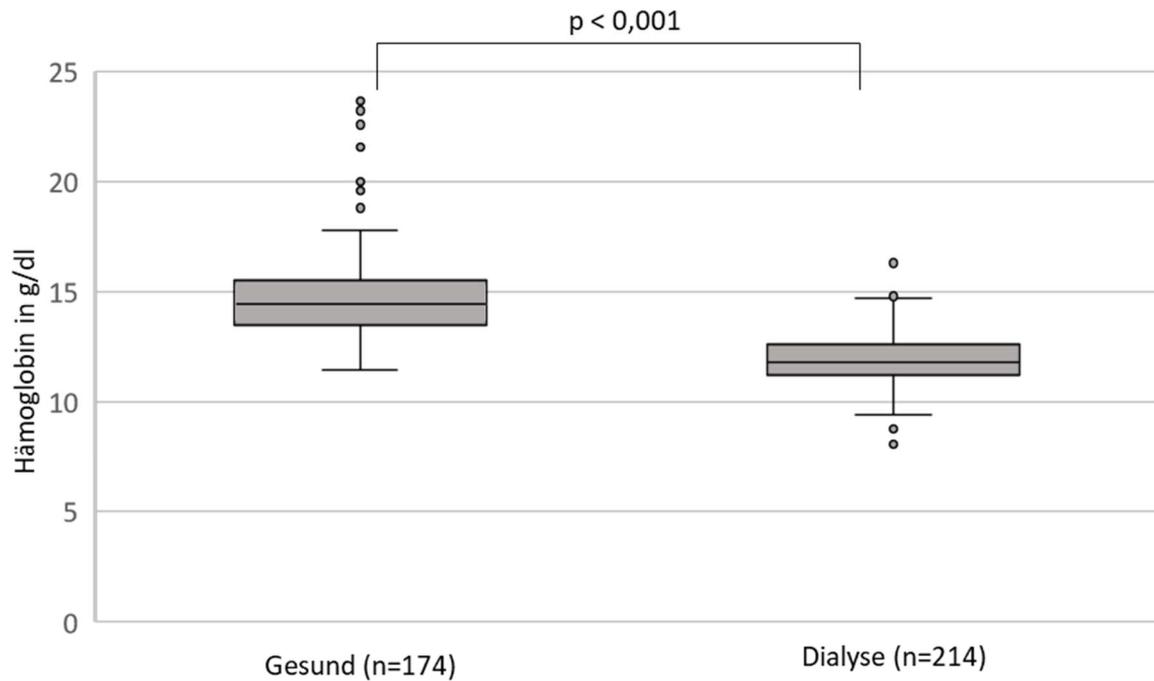


Abbildung 12: Hämoglobinwert. Die horizontale Linie repräsentiert den Mittelwert (MW), die Box repräsentiert die Standardabweichung (SD). Die Whiskers geben das 95% Konfidenzintervall an. Verwendung des t-Tests für normal verteilte Daten.

3. Auch beim Gesamtserumprotein ergab sich eine deutliche Differenz zwischen den Gruppen (6,7 +/- 0,6 g/dl Dialysepatienten und 7,1 +/- 0,4 g/dl gesunde Probanden, p-Wert < 0,001), was sich durch das Protein Energy Wasting der Dialysepatienten erklären lässt.

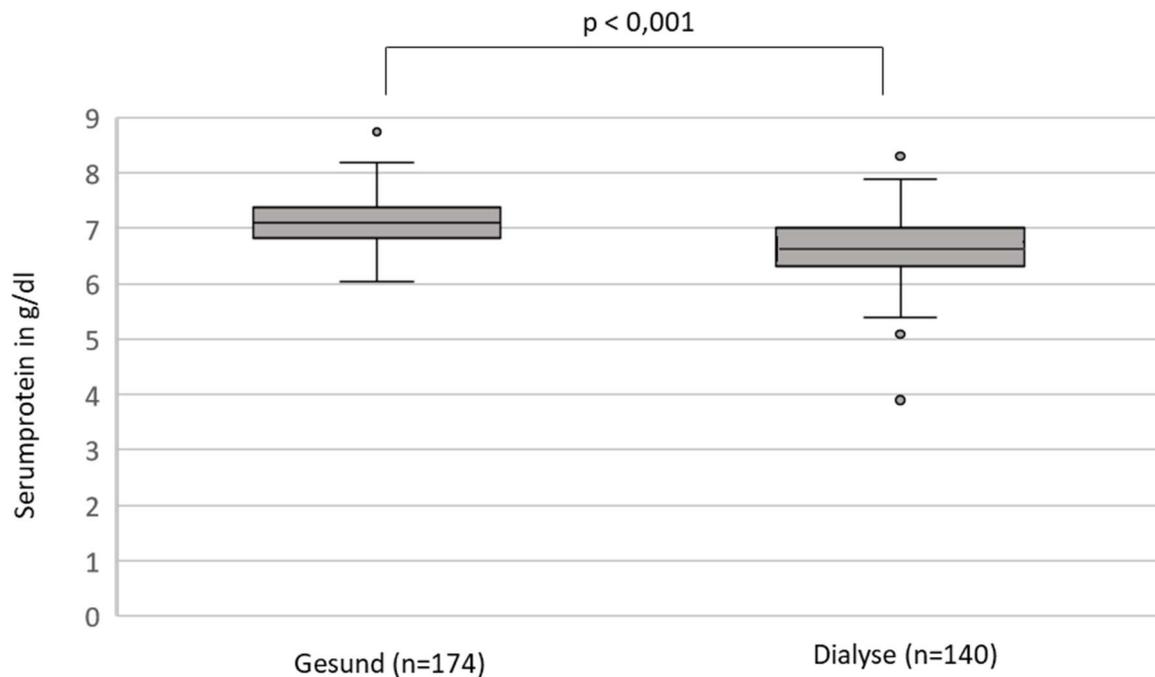


Abbildung 13: Gesamt-Serumprotein. Die horizontale Linie repräsentiert den Mittelwert (MW), die Box repräsentiert die Standardabweichung (SD). Die Whiskers geben das 95% Konfidenzintervall an. Verwendung des t-Tests für normal verteilte Daten.

4.1.4 Vergleich eingeschlossene versus ausgeschlossene Probanden

In der Kohorte der Dialysepatienten wurden 287 Patienten hinsichtlich der retinalen Mikrozirkulation untersucht, für 214 Patienten konnten vollständige Datensätze erhoben und diese Patienten in die vorliegende Studie eingeschlossen werden.

Wie unter 4.1.2 beschrieben, wurden im Kollektiv der gesunden Probanden 28 Teilnehmer wegen mangelnder Datenqualität bei der DVA Untersuchung aus der Studie ausgeschlossen. Diese Gruppe der ausgeschlossenen Probanden unterscheidet sich nicht signifikant von den eingeschlossenen Probanden, wie Tabelle 3 zeigt. Bei keinem der untersuchten Parameter hat sich ein statistisch signifikanter p-Wert ergeben. Ein selektionsbedingtes Bias ist daher sehr unwahrscheinlich.

| Gesunde Probanden | Eingeschlossen (n=192) * | Ausgeschlossen (n=28) * | p- Wert |
|--|-------------------------------------|------------------------------------|--------------------|
| Alter (MW±SD) | 65,6 ± 12,5 (n=192) | 66,8 ± 16,0 (n=28) | 0,668 |
| Geschlecht (männlich, %) | 80 (42%) (n=192) | 17 (61%) (n=28) | 0,058 |
| BMI (MW±SD) | 24,4 ± 3,6 (n=192) | 25,5 ± 4,7 (n=28) | 0,170 |
| Systolischer Blutdruck (MW±SD) | 132 ± 15 (n=183) | 130 ± 15 (n=23) | 0,560 |
| Diastolischer Blutdruck (MW±SD) | 85 ± 13 (n=183) | 83 ± 10 (n=23) | 0,558 |
| Arterieller Mitteldruck (MW±SD) | 106 ± 11 (n=183) | 105 ± 11 (n=23) | 0,645 |
| Nikotinabusus (in %) | 39 (20%) (n=192) | 3 (11%) (n=28) | 0,227 |
| Gesamtserumprotein (g/dl, MW±SD) | 7,1 ± 0,4 (n=174) | 7,1 ± 0,4 (n=19) | 0,908 |
| Serum Calcium (mmol/l, MW±SD) | 2,40 ± 0,10 (n=185) | 2,41 ± 0,08 (n=28) | 0,622 |
| Serum Phosphat (mmol/l, MW±SD) | 3,45 ± 0,48 (n=185) | 3,29 ± 0,44 (n=28) | 0,098 |
| Serum Kreatinin (mg/dl, MW±SD) | 0,90 ± 0,18 (n=185) | 0,93 ± 0,15 (n=28) | 0,493 |
| Harnstoff (mg/dl, MW±SD) | 16 ± 4 (n=185) | 17 ± 4 (n=28) | 0,082 |
| Hämoglobin (g/dl, MW±SD) | 14,8 ± 2,0 (n=174) | 15,0 ± 1,8 (n=28) | 0,666 |
| Leukozyten (10 ³ / µl, MW±SD) | 6,2 ± 2,5 (n=176) | 6,3 ± 1,3 (n=28) | 0,832 |
| hsCRP (mg/dl, median [IQR]) | 0,13 [0,06-0,26] (n=185) | 0,09 [0,04-0,26] (n=28) | 0,638 |
| Koronare Herzerkrankung in % | Keine | Keine | N/A |
| Diabetes mellitus in % | Keine | Keine | N/A |
| Vaskuläre Komorbidität in % | Keine | Keine | N/A |

Tabelle 3: Eingeschlossene versus ausgeschlossene Probanden. Angabe als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) für normal verteilte Variablen und als Median und Interquartilabstand (IQR) für nicht normal verteilte Variablen. Verwendung des t-Tests für normalverteilte Daten und des Mann-Whitney U-Tests für nicht normal verteilte Daten. *Erhobene Parameter teilweise nicht für alle Probanden/Patienten verfügbar, daher Angabe der Kollektivgröße einzeln je Parameter.

4.2 Vergleich Dialysekohorte und gesunde Probanden hinsichtlich DVA Parameter

4.2.1 Vergleich des Gefäßverhaltens unter Flickerlichtstimulation

In der DVA Analyse wurden die Parameter für das Gefäßverhalten unter Einfluss eines Flickerlichtstimulus erhoben: aMax für die Arteriole und vMax für die Venole. Diese beiden Parameter können als repräsentativ für das Gefäßverhalten angesehen werden. Die Auswertung zeigt, dass sich sowohl der erhobene Wert für die Arteriole als auch der erhobene Wert für die Venole zwischen den beiden Gruppen unterscheiden.

| Variable | Median gesunde Probanden [IQR] | Median Dialysepatienten [IQR] | p-Wert |
|-----------------|---------------------------------------|--------------------------------------|---------------|
| aMax | 2,33 [0,75-4,05] | 1,60 [0,30-3,30] | 0,009 |
| vMax | 3,66 [2,41-5,43] | 3,20 [1,95-5,10] | 0,053 |

Tabelle 4: Gefäßverhalten Gesamtkohorte. Angabe als Median und Interquartilabstand (IQR). Verwendung des Mann-Whitney U-Tests.

Vergleicht man das arterielle und das venöse Gefäßverhalten zwischen den beiden untersuchten Kohorten, gesunde Probanden und Dialysepatienten, zeigt sich, dass sich das Verhalten der untersuchten Arteriole deutlich und statistisch signifikant zwischen den beiden Gruppen unterscheidet. Dabei liegt der ermittelte Wert bei den Dialysepatienten unter dem erhobenen Wert der gesunden Probanden.

Das Verhalten der untersuchten Venole unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht statistisch signifikant. Obwohl eine Differenz zwischen beiden Gruppen erkennbar ist, ist dieser nicht ausreichend groß, um als statistisch relevant erachtet zu werden.

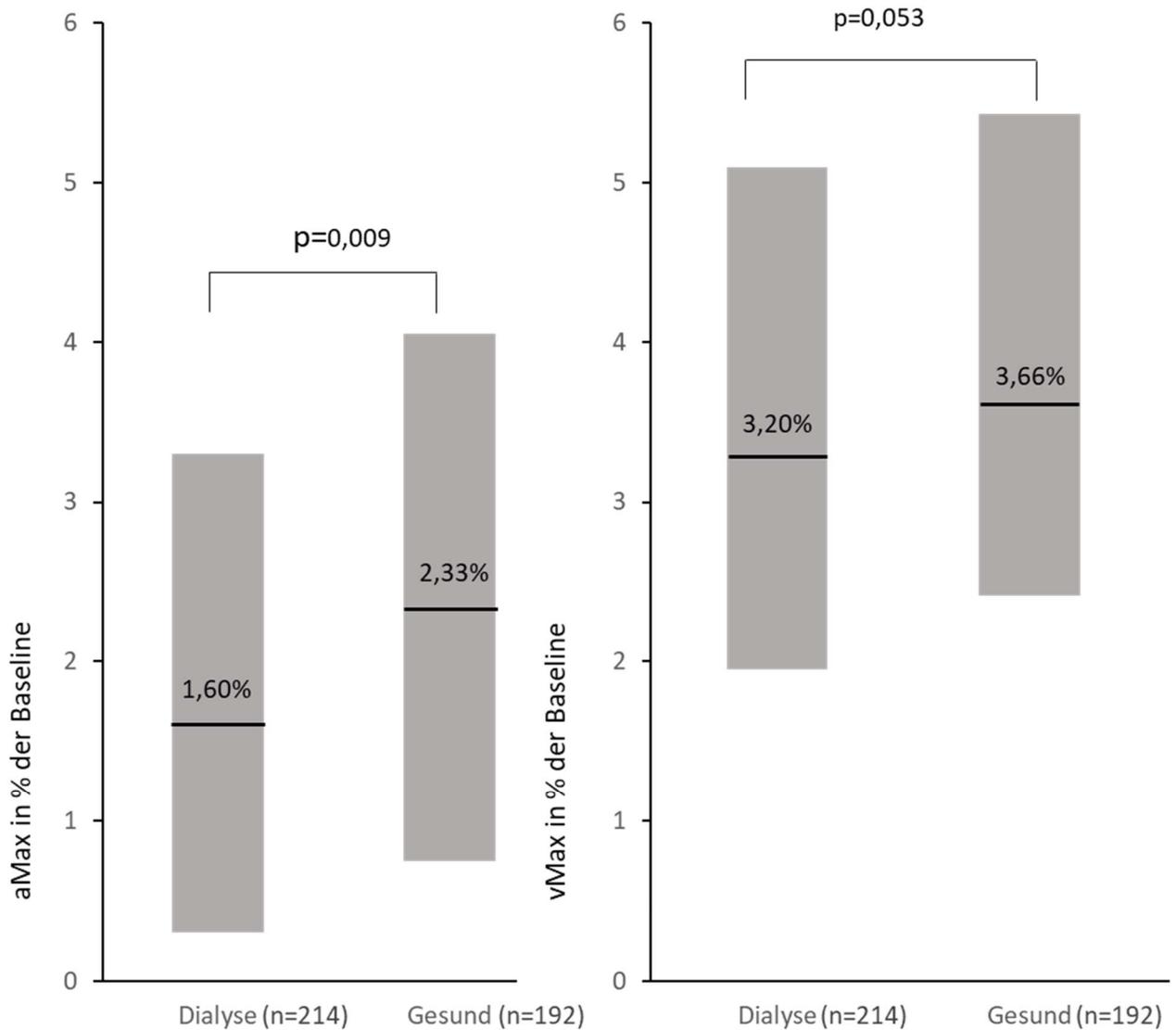
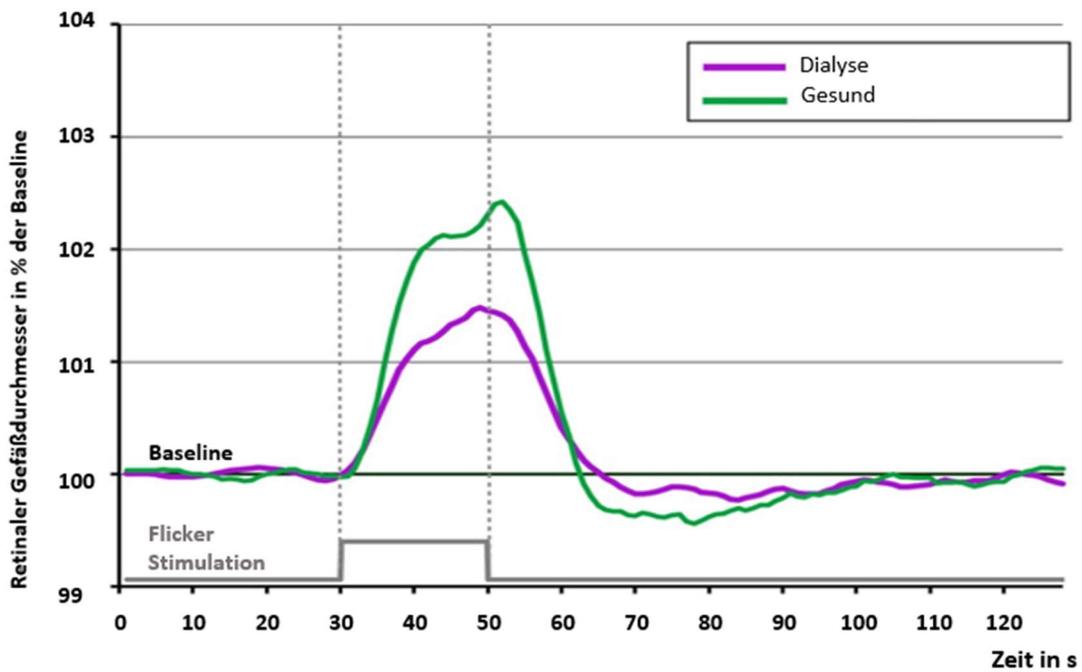


Abbildung 14: Gefäßverhalten Gesamtkohorte. Die Box repräsentiert den Interquartilabstand, die horizontale Linie den Median. Verwendung des Mann-Whitney U-Tests. Berechnung Prozent der Baseline: Die Maximalwerte der Gefäßdurchmesser -gemittelt über drei Flickerlichtzyklen- wurden geteilt durch den gemessenen Baseline-Durchmesser des jeweiligen Gefäßes. Diese ergeben dann die prozentuale Dilatation bezogen auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline.

In Bezug auf das Gefäßverhalten im Zeitverlauf lassen sich deutliche Unterschiede zwischen den Gruppen feststellen. Folgende graphische Darstellung zeigt das Gefäßverhalten der Venole und Arteriole unter Flickerlichtstimulation über den Zeitverlauf.

Arteriolen



Venolen

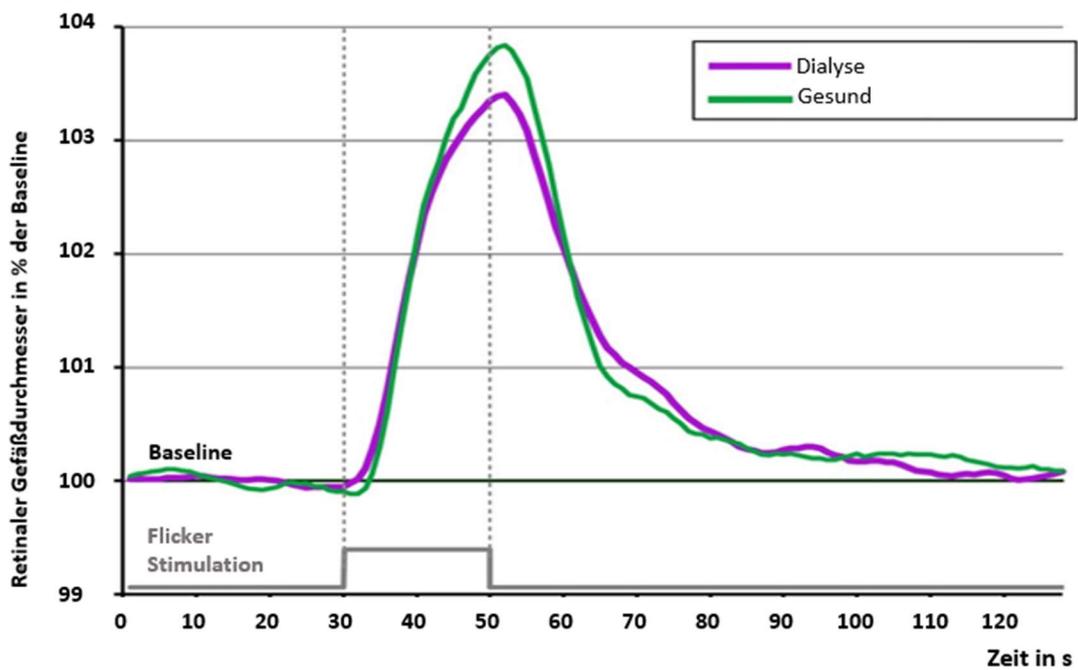


Abbildung 15: Gefäßverhalten im Zeitverlauf. [116]. In grün dargestellt die Zeit-Durchmesser-Kurve der gesunden Probanden, in violett der Dialysepatienten, jeweils in Prozent der Baseline (Berechnung: Maximalwerte der Gefäßdurchmesser -gemittelt über drei Flickerlichtzyklen- wurden geteilt durch den Baseline-Durchmesser des jeweiligen Gefäßes. Diese ergeben dann die prozentuale Dilatation bezogen

auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline). Die hellgraue Linie am unteren Rand des Panels zeigt das Zeitprofil der 20-sekündigen Flickerlichtstimulation an.

Auch hier ist eine getrennte Betrachtung der Arteriolen und der Venolen nötig. Für das Verhalten der Arteriole zeigt sich ein deutlicher Unterschied zwischen beiden Gruppen. Sowohl bei der Dialysegruppe als auch bei der gesunden Kontrollgruppe kommt es, ausgehend von einer Baseline mit einem Gefäßgrundtonus, zu einer Vasodilatation unter Flickerlichtstimulation. In der gesunden Kontrollgruppe steigt der Gefäßdurchmesser jedoch selbst nach Beendigung des Lichtreizes noch an, bis er kurz danach sein Maximum erreicht. In der Dialysegruppe hingegen wird der maximale Gefäßdurchmesser bereits vor Beendigung der 20-sekündigen Provokationsphase erreicht. Danach nimmt der Gefäßdurchmesser beider Gruppen wieder ab und es kommt zu einer postdilatatorischen Vasokonstriktion. Dabei erfolgt eine Gefäßverengung unter das Niveau der Baseline, die Gefäßdurchmesser nähern sich aber im Zeitverlauf wieder der Baseline an. Diese postdilatatorische Vasokonstriktion ist zunächst stärker ausgeprägt in der gesunden Kontrollgruppe bis im weiteren Zeitverlauf beide Gruppen wieder zur Baseline zurückkehren.

Das Verhalten der venösen Gefäße zeigt ebenfalls Unterschiede zwischen beiden Gruppen. Beide erreichen ihren maximalen Gefäßdurchmesser kurz nach Beendigung der Flickerstimulation, wobei die gesunde Kontrollgruppe eine stärkere Dilatation aufweist. Die Gefäßdurchmesser nehmen nach Sistieren des Stimulus wieder ab, bis sie sich der Baseline annähern. Eine Vasokonstriktion bis unter die Baseline findet hier jedoch nicht statt.

4.2.2 Assoziationen innerhalb der Kohorten

4.2.2.1 Dialysepatienten

Folgende Tabelle zeigt die erhobenen Assoziationen innerhalb der Kohorte der untersuchten Dialysepatienten mit dem arteriellen und venösen Gefäßverhalten.

| Dialysepatienten* | Rho aMax | p-Wert | Rho vMax | p-Wert |
|---------------------------------|---------------|--------------|---------------|------------------|
| Alter (n=214) | -0,124 | 0,071 | -0,201 | 0,003 |
| Geschlecht (männlich) (n=214) | 0,025 | 0,715 | -0,095 | 0,166 |
| BMI (n=214) | -0,083 | 0,229 | -0,060 | 0,384 |
| Systolischer Blutdruck (n=214) | 0,017 | 0,809 | 0,046 | 0,500 |
| Diastolischer Blutdruck (n=214) | 0,104 | 0,128 | 0,068 | 0,325 |
| Arterieller Mitteldruck (n=214) | 0,070 | 0,308 | 0,066 | 0,339 |
| Nikotinabusus (n=202) | 0,017 | 0,812 | 0,023 | 0,745 |
| Gesamtserumprotein (n=140) | -0,056 | 0,513 | 0,129 | 0,129 |
| Serum Calcium (n=214) | -0,024 | 0,724 | 0,041 | 0,553 |
| Serum Phosphat (n=214) | -0,105 | 0,127 | -0,007 | 0,921 |
| Serum Kreatinin (n=214) | 0,045 | 0,512 | 0,075 | 0,227 |
| Harnstoff (n=214) | -0,117 | 0,088 | 0,032 | 0,645 |
| Hämoglobin (n=214) | -0,023 | 0,743 | 0,066 | 0,340 |
| Leukozyten (n=214) | -0,015 | 0,822 | -0,156 | 0,023 |
| hsCRP (n=199) | -0,101 | 0,155 | -0,180 | 0,011 |
| Koronare Herzerkrankung (n=214) | -0,199 | 0,004 | -0,221 | 0,001 |
| Diabetes mellitus (n=214) | -0,142 | 0,038 | -0,108 | 0,116 |
| Vaskuläre Komorbidität (n=214) | -0,194 | 0,005 | -0,267 | <0,001 |

Tabelle 5: Assoziationen Dialysekohorte. Die Korrelationsanalyse wurde durchgeführt mit dem Korrelationskoeffizient nach Spearman (rho). *Erhobene Parameter teilweise nicht für alle Probanden/Patienten verfügbar, daher Angabe der Kollektivgröße einzeln je Parameter.

Zu erkennen ist ein Zusammenhang zwischen Alter und venösem Gefäßverhalten, dabei geht ein höheres Alter mit einer verminderten Gefäßdilataion einher (Rho vMax: -0,201, p-Wert: 0,003). Dies gilt nicht für das Verhalten der Arteriolen.

Des Weiteren gibt es einen klar erkennbaren Einfluss auf das Gefäßverhalten, wenn zusätzliche Komorbiditäten vorliegen. Dabei zeigt sich ein statistisch signifikanter Zusammenhang zwischen verminderter arterieller Dilatation und koronarer Gefäßerkrankung (Rho aMax: -0,199, p-Wert: 0,004), Diabetes mellitus (Rho aMax: -0,142, p-Wert: 0,038) und Gefäßerkrankungen (Rho aMax: -0,194, p-Wert: 0,005). Ein Zusammenhang zwischen reduzierter venöser Gefäßdilataion und koronarer Gefäßerkrankung (Rho vMax: -0,221,

p-Wert: 0,001) sowie vaskulären Komorbiditäten (Rho vMax -0,267, p-Wert = 0,001) konnte ebenfalls gezeigt werden.

Ferner wird deutlich, dass es eine Beziehung zwischen dem Vorliegen von Inflammationsparametern und dem Gefäßverhalten gibt. In der Kohorte der Dialysepatienten zeigt sich ein deutlicher Zusammenhang zwischen verminderter venöser Gefäßdilatation und Leukozytenzahl (Rho vMax: -0,156, p-Wert: 0,023) sowie CRP (Rho vMax: -0,180, p-Wert: 0,011).

4.2.2.2 Gesunde Probanden

Folgende Tabelle zeigt die erhobenen Assoziationen innerhalb der Kohorte der untersuchten gesunden Probanden mit dem arteriellen und venösen Gefäßverhalten.

| Gesunde Probanden* | Rho aMax | p-Wert | Rho vMax | p-Wert |
|---------------------------------|---------------|--------------|---------------|--------------|
| Alter (n=192) | -0,218 | 0,002 | -0,164 | 0,023 |
| Geschlecht (männlich) (n=192) | 0,019 | 0,793 | -0,122 | 0,091 |
| BMI (n=192) | -0,019 | 0,795 | 0,017 | 0,813 |
| Systolischer Blutdruck (n=183) | -0,080 | 0,271 | 0,062 | 0,393 |
| Diastolischer Blutdruck (n=183) | 0,020 | 0,783 | 0,115 | 0,115 |
| Arterieller Mitteldruck (n=183) | -0,030 | 0,684 | 0,113 | 0,119 |
| Nikotinabusus (n=192) | -0,050 | 0,900 | -0,029 | 0,691 |
| Gesamtserumprotein (n=174) | 0,014 | 0,853 | -0,064 | 0,400 |
| Serum Calcium (n=185) | 0,144 | 0,051 | 0,124 | 0,093 |
| Serum Phosphat (n=185) | 0,068 | 0,354 | 0,069 | 0,349 |
| Serum Kreatinin (n=185) | -0,013 | 0,858 | -0,123 | 0,096 |
| Harnstoff (n=185) | -0,092 | 0,215 | -0,187 | 0,011 |
| Hämoglobin (n=174) | 0,031 | 0,686 | -0,122 | 0,108 |
| Leukozyten (n=176) | -0,085 | 0,262 | 0,018 | 0,810 |
| hsCRP (n=185) | -0,217 | 0,003 | -0,003 | 0,970 |
| Koronare Herzerkrankung | N/A | N/A | N/A | N/A |
| Diabetes mellitus | N/A | N/A | N/A | N/A |
| Vaskuläre Komorbidität | N/A | N/A | N/A | N/A |

Tabelle 6: Assoziationen gesunde Probanden. Die Korrelationsanalyse wurde durchgeführt mit dem Korrelationskoeffizient nach Spearman (rho). * Erhobene Parameter teilweise nicht für alle Probanden/Patienten verfügbar, daher Angabe der Kollektivgröße einzeln je Parameter.

Auch bei den gesunden Probanden lässt sich ein Zusammenhang zwischen Alter und Gefäßverhalten erkennen (Rho aMax: -0,218, p-Wert: 0,002, Rho vMax: -0,164 p-Wert: 0,023).

Ein Einfluss der Komorbiditäten koronare Herzerkrankung, Diabetes mellitus und vaskulärer Erkrankungen ist bei den gesunden Probanden nicht darstellbar, da dies bei der Rekrutierung Ausschlusskriterien waren.

Ebenso wie bei den Dialysepatienten haben auch hier erhöhte Entzündungswerte einen Einfluss auf das Gefäßverhalten. In der Kohorte der gesunden Probanden konnte ein deutlicher Zusammenhang zwischen arteriellem Gefäßverhalten und CRP (Rho aMax -0,217, p-Wert: 0,003) gezeigt werden. Ein Einfluss der Leukozytenwerte auf die Gefäße konnte hier, im Gegensatz zur Kohorte der Dialysepatienten, nicht nachgewiesen werden.

4.3 Untersuchung einer ausgesuchten Matchingkohorte

Die beiden untersuchten Gruppen, gesunde Probanden (n=192) und Dialysepatienten (n= 214) ähneln sich zwar in ihrer Struktur, weisen aber dennoch statistisch signifikante Unterschiede in der Gruppenzusammensetzung bezüglich des Alters auf: Dialysepatienten 62,6 +/- 15,0 Jahre, gesunde Probanden 65,6 +/- 12,5 Jahre (p-Wert 0,030). In der Analyse zeigte sich zudem ein signifikanter Zusammenhang zwischen Alter und Gefäßverhalten in beiden untersuchten Kollektiven. Um diese beeinflussenden Effekte zu minimieren, wurde eine dedizierte ausgesuchte Matchingkohorte gebildet. Diese Matchingkohorte ist eine Teilmenge der Gesamtpopulation der Studie und wurde so gewählt, dass für jeden Dialysepatienten (n= 169) ein altersgleicher gesunder Proband (n=169) selektiert wurde. Dies ermöglicht eine vergleichende Analyse der beiden Kohorten ohne den störenden Einfluss einer inhomogenen Altersstruktur. Ein eins zu eins Matching bezüglich des Geschlechtes war aufgrund der Geschlechtsstruktur der Kohorte der gesunden Probanden nicht möglich. Bei Akquise der Studienprobanden zeigte sich, dass Männer ohne per Ausschlusskriterien definierte relevante Vorerkrankungen im benötigten Alter nicht in ausreichender Zahl rekrutiert werden konnten. Dies entspricht den Daten, die bei anderen Studien in Bezug auf Vorerkrankungen und Medikamenteneinnahme erhoben werden konnten.

4.3.1 Basisdemographie Matchingkohorte

Die beiden Matchingkohorten wurden hinsichtlich ihrer Zusammensetzung und Eigenschaften eingehend untersucht und miteinander verglichen, wobei sich folgende Ergebnisse zeigten:

| Parameter | Dialyse Matching Kohorte (n=169) | Gesunde Matching-Kohorte (n=169) | p-Wert |
|--|----------------------------------|----------------------------------|--------|
| Alter (MW ± SD) | 65,4 ± 13,1 | 65,4 ± 12,7 | 0,996 |
| Geschlecht (männlich, %) | 114 (68%) | 68 (40%) | <0,001 |
| BMI (MW ± SD) | 26,4 ± 5,4 | 24,5 ± 3,6 | <0,001 |
| Systolischer Blutdruck (MW ± SD) | 135 ± 22 | 132 ± 16 | 0,219 |
| Diastolischer Blutdruck (MW ± SD) | 74 ± 14 | 84 ± 10 | <0,001 |
| Arterieller Mitteldruck (MW ± SD) | 94 ± 15 | 106 ± 11 | <0,001 |
| Nikotinabusus (in %) | 34 (21%) | 35 (21%) | 0,881 |
| Gesamtserumprotein (g/dl, MW ±SD) | 6,6 ± 0,6 | 7,1 ± 0,4 | <0,001 |
| Serum Calcium (mmol/l, MW ±SD) | 2,27 ± 0,19 | 2,40 ± 0,11 | <0,001 |
| Serum Phosphat (mmol/l, MW ±SD) | 1,77 ± 0,47 | 3,47 ± 0,48 | <0,001 |
| Serum Kreatinin (mg/dl, MW ±SD) | 8,90 ± 2,64 | 0,90 ± 0,17 | <0,001 |
| Harnstoff (mg/dl, MW ± SD) | 63 ± 16 | 16 ± 4 | <0,001 |
| Hämoglobin (g/dl, mean ± SD) | 11,8 ± 1,2 | 14,8 ± 2,0 | <0,001 |
| Leukozyten (10 ³ per µl, MW ± SD) | 6,8 ± 2,4 | 6,2 ± 2,6 | 0,027 |
| hsCRP (mg/dl, Median [IQR]) | 0,39 [0,19-0,92] | 0,13 [0,06-0,26] | <0,001 |
| Koronare Herzerkrankung in % | 59 (35%) | Keine | N/A |
| Diabetes mellitus in % | 60 (36%) | Keine | N/A |
| Vaskuläre Komorbidität in % | 91 (54%) | Keine | N/A |

Tabelle 7: Basisdemographie Matchingkohorte. Angabe als Mittelwert (MW) und Standardabweichung (SD) für normal verteilte Variablen und als Median und Interquartilabstand (IQR) für nicht normal verteilte Variablen. Verwendung des t-Test für normal verteilte Daten und des Mann-Whitney U-Tests für nicht normal verteilte Daten.

Hierbei erfolgte wie unter 4.3 beschrieben, der Vergleich zwischen altersgemachten Subgruppen aus Dialysepatienten und gesunden Probanden. Es fand der Vergleich zwischen ausgesuchten 169 Dialysepatienten und entsprechend gematchten 169 gesunden Probanden statt.

4.3.2 Vergleich Gesamtkohorte und Matchingkohorte

Es zeigt sich, dass durch das Matching die bestehende Altersdifferenz zwischen den Gruppen statistisch nicht signifikant verschieden ist (p-Wert 0,996). Ebenso besteht kein signifikanter Unterschied in der Gruppenzusammensetzung hinsichtlich Nikotinabusus (p-Wert 0,881).

Die beiden Gruppen unterscheiden sich jedoch statistisch signifikant bezüglich Geschlecht (p-Wert < 0,001), BMI (p-Wert < 0,001), diastolischem Blutdruck (p-Wert < 0,001) und arteriellem Mitteldruck (p-Wert < 0,001). Der systolische Blutdruck unterscheidet sich zwischen den Gruppen nicht statistisch signifikant (p-Wert 0,219).

Hinsichtlich der Laborparameter differieren beide Gruppen bei jedem der erhobenen Werte Serum Protein, Serum Phosphat, Serum Kreatinin, Harnstoff, Hämoglobin und CRP statistisch signifikant mit einem p-Wert von $< 0,001$. Der Unterschied bei den Leukozyten ist ebenfalls signifikant mit einem p-Wert von $0,027$.

Die oben aufgeführten Differenzen waren entsprechend zu erwarten, da es sich hier um einen Vergleich der Kohorte der gesunden Probanden und der Kohorte der Dialysepatienten handelt.

4.3.3 Vergleich der Gefäßdurchmesser unter Flickerlichtstimulation

In der DVA Analyse wurden die Parameter für das Gefäßverhalten unter Einfluss eines Flickerlichtstimulus erhoben: aMax für die Arteriole und vMax für die Venole. Diese beiden Parameter können als repräsentativ für das Gefäßverhalten angesehen werden. Die Auswertung zeigt, dass sich sowohl der erhobene Wert für die Arteriole als auch der erhobene Wert für die Venole signifikant zwischen den beiden Gruppen unterscheiden.

| Variable | Median gesunde Probanden [IQR] | Median Dialysepatienten [IQR] | p-Wert |
|----------|--------------------------------|-------------------------------|--------|
| aMax | 2,21 [0,76-4,15] | 1,55 [0,30-3,30] | 0,023 |
| vMax | 3,79 [2,42-5,48] | 3,20 [1,90-5,05] | 0,019 |

Tabelle 8: Gefäßparameter Matchingkohorte. Angabe als Median und Interquartilabstand (IQR). Verwendung des Mann-Whitney U-Tests.

Betrachtet man nun das arterielle und das venöse Gefäßverhalten zwischen den beiden Matchinggruppen zeigt sich, dass sowohl das Verhalten der untersuchten Arteriole als auch das der untersuchten Venole deutlich zwischen den beiden Gruppen differiert. Dabei liegt der erhobene Mittelwert des Gefäßdurchmessers bei den Dialysepatienten unter den ermittelten Werten der gesunden Probanden.

Im Vergleich zwischen Gesamtkohorte und Matchingkohorte wird deutlich, dass sich bei Betrachtung der Matchingkohorte auch das venöse Gefäßverhalten statistisch signifikant zeigt (p-Wert $0,019$).

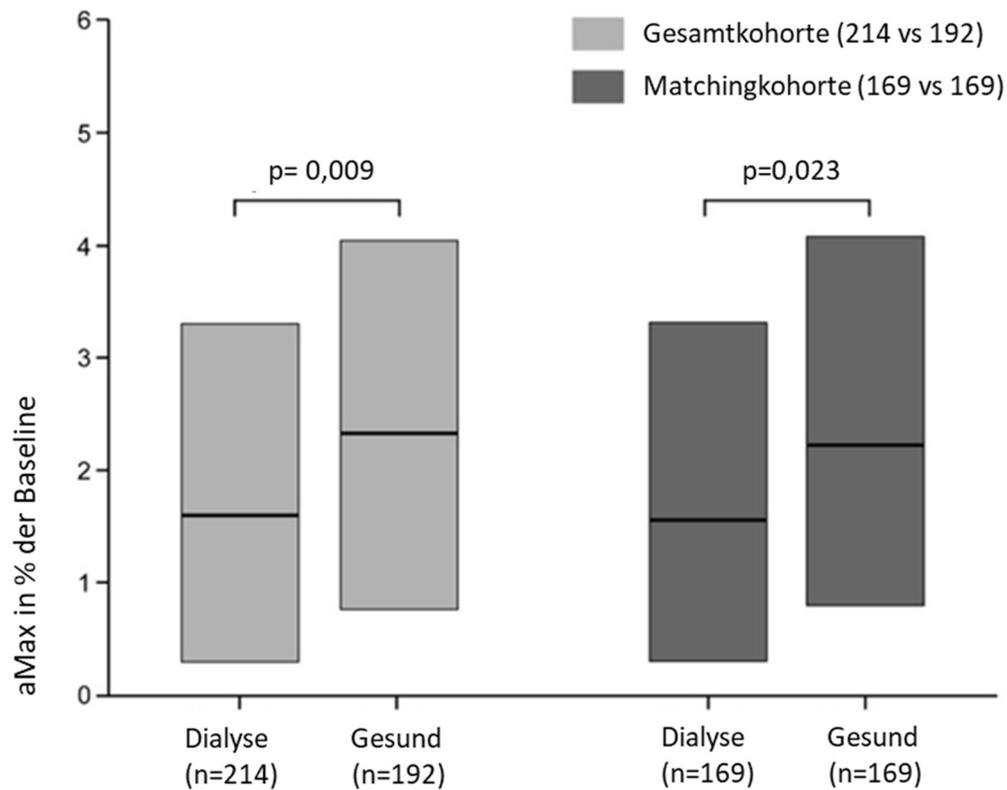


Abbildung 16a: Gefäßverhalten Arteriole Gesamtkohorte versus Matchingkohorte (Median und Interquartilabstand). Die Box repräsentiert den Interquartilabstand, die horizontale Linie repräsentiert den Median. Verwendung des Mann-Whitney U-Tests. Berechnung Prozent der Baseline: Die Maximalwerte der Gefäßdurchmesser -gemittelt über drei Flickerlichtzyklen- wurden geteilt durch den gemessenen Baseline-Durchmesser des jeweiligen Gefäßes. Diese ergeben dann die prozentuale Dilatation bezogen auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline.

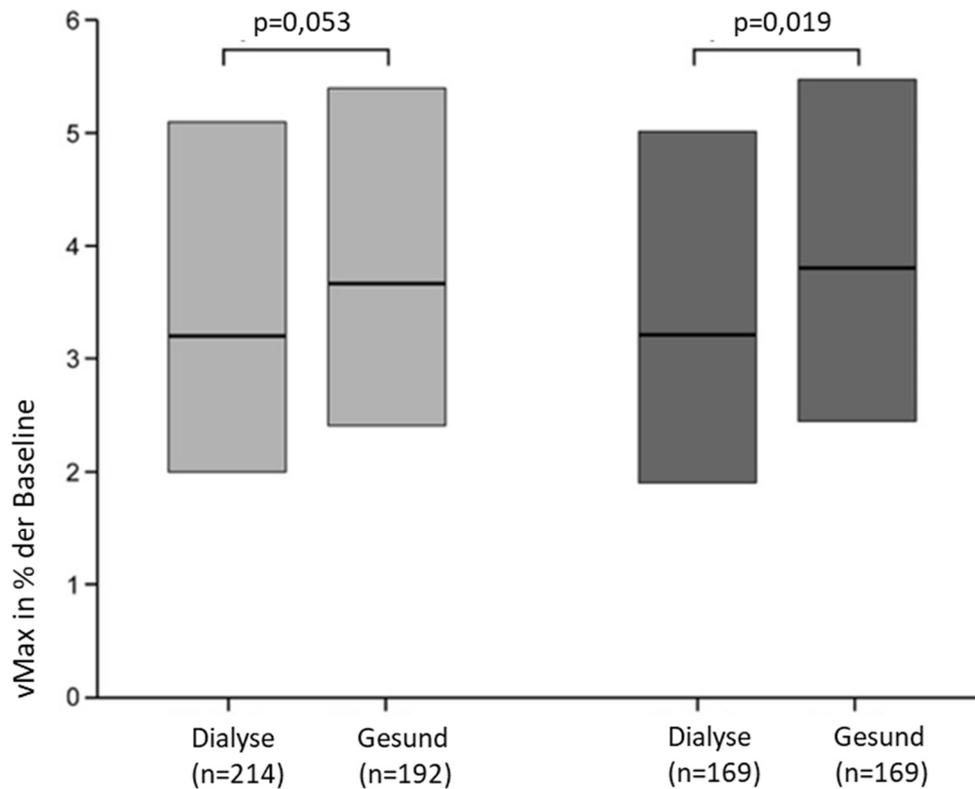


Abbildung 16b: Gefäßverhalten Venole Gesamtkohorte versus Matchingkohorte (Median und Interquartilabstand). Die Box repräsentiert den Interquartilabstand, die horizontale Linie repräsentiert den Median. Verwendung des Mann-Whitney U-Tests. Berechnung Prozent der Baseline: Die Maximalwerte der Gefäßdurchmesser -gemittelt über drei Flickerlichtzyklen- wurden geteilt durch den gemessenen Baseline-Durchmesser des jeweilige n Gefäßes. Diese ergeben dann die prozentuale Dilatation bezogen auf den gemessenen Ausgangswert, die Baseline.

5 Diskussion

Das Studienkollektiv bestand aus zwei Gruppen, den Dialysepatienten und den gesunden Probanden. Die Rekrutierung der Dialysepatienten erfolgte im Rahmen der ISAR Studie, die gesunden Probanden wurden mittels Anzeigenschaltung in Tageszeitungen rekrutiert. Beide Kohorten wurden mittels DVA Methode im Hinblick auf das retinale Gefäßverhalten unter Flickerlichtprovokation untersucht. Als Ergebnis zeigte sich im Vergleich zu den gesunden Probanden bei den Dialysepatienten eine signifikant verminderte Gefäßdilatation unter Einfluss eines Lichtreizes.

5.1 Veränderung der retinalen Mikrozirkulation

5.1.1 Verminderte Gefäßdilatation durch Alterungsprozess

Bereits seit Langem ist bekannt, dass es einen Zusammenhang zwischen steigendem Alter und dem Auftreten von Gefäßveränderungen gibt. Dabei beginnt die Gefäßalterung bereits vor Vollendung des 30. Lebensjahres [117]. Ein steigendes Lebensalter ist assoziiert mit Veränderungen an den Gefäßen der Makro- als auch der Mikrozirkulation. Es konnte gezeigt werden, dass Altern die Entstehung einer endothelialen Dysfunktion fördert und eine signifikante Erniedrigung der endothelabhängigen Vasodilatation verursacht [118, 119]. Der endothelialen Dysfunktion liegt eine verminderte Bioverfügbarkeit von NO zugrunde, welche verschiedene Ursachen haben kann: Verminderte eNOS Expression, reduzierte eNOS Aktivität, Substrat- oder Kofaktorenmangel oder ein beschleunigter Abbau von NO. Die Folge ist eine Verminderung der endothelvermittelten Vasodilatation. Obwohl die genauen Mechanismen dahinter noch nicht vollständig aufgeklärt worden sind, scheinen dabei vor allem altersbedingte Änderungen der eNOS Aktivität und ein beschleunigter NO Abbau eine entscheidende Rolle zu spielen [120]. Mit steigendem Lebensalter erhöht sich der oxidative Stress und die Konzentration freier Radikale durch Faktoren wie die kumulative Exposition gegenüber Umwelteinflüssen oder veränderte Ernährungsgewohnheiten [121]. Hier konnte bereits ein Zusammenhang zwischen erhöhtem oxidativem Stress und reduzierter NO Halbwertszeit aufgezeigt werden [122]. Die Folge ist eine mit steigendem Lebensalter zunehmend eingeschränkte endothelvermittelte Vasodilatation, welche bereits früh beginnt [121].

Auch in den vorliegenden Ergebnissen zeigt sich ein entsprechender Einfluss des Alters auf das Gefäßverhalten. Hierbei wiesen sowohl gesunde Probanden als auch Dialysepatienten mit steigendem Lebensalter eine verminderte Gefäßreagibilität unter Stimulation auf. Während sich hierbei jedoch das Alter bei den gesunden Probanden als relevanter Einflussfaktor auf die

venöse als auch auf die arterielle Gefäßdilatation zeigt, ergab sich bei den Dialysepatienten nur ein altersbedingter Einfluss auf das Verhalten der venösen Gefäße. Die im Rahmen der vorliegenden Arbeit erhobenen Daten zeigen jedoch keinen statistisch signifikanten Zusammenhang zwischen maximaler arterieller Gefäßdilatation und steigendem Lebensalter bei Dialysepatienten. Es konnte bereits gezeigt werden, dass das Vorliegen einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz über verschiedene Signalwege zu einer Verstärkung atherosklerotischer Prozesse führt [1]. Die daraus resultierende arterielle Versteifung betrifft dabei auch die untersuchten Arteriolen der Retina. Es ist davon auszugehen, dass der Faktor Dialysepflichtigkeit für den arteriellen Gefäßstatus eine derart massive Rolle spielt, dass der Einfluss des Faktors Alter abgeschwächt wird und sich somit kein statistisch signifikanter Nachweis einer verminderten arteriellen Gefäßantwort bei steigendem Lebensalter nachweisen lässt. Dieses Phänomen wurde bisher jedoch noch nicht im Rahmen einer wissenschaftlichen Arbeit untersucht, daher ist ein Vergleich mit anderen Arbeiten an dieser Stelle nicht möglich.

Ausgewählte Matchingkohorte

Wie unter 5.1.1 beschrieben, gibt es bekannte und nachgewiesene Alterseffekte, die Einfluss auf das Gefäßverhalten haben. Das der Studie zugrunde liegende Gesamtkollektiv weist allerdings leichte Unterschiede in der Altersstruktur der beiden Vergleichsgruppen auf. Das Alter der Dialysepatienten lag bei 62,6 +/- 15 Jahren, das der gesunden Probanden bei 65,4 +/- 12,5 Jahren, der p-Wert lag bei 0,030.

Die erstellte, ausgewählte Matchingkohorte wurde so zusammengestellt, dass für jeden Dialysepatienten ein bestmöglich altersgleicher gesunder Proband ausgewählt wurde. Somit konnte der leichte Unterschied in der Altersstruktur zwischen den Gruppen bereinigt werden: Dialysepatienten 65,4±13,1 Jahre, gesunde Probanden 65,4±12,7 Jahre, kein statistisch signifikanter Unterschied (p-Wert 0,996).

Die Auswertung ergab auch für die Matchingkohorte einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen den beiden Gruppen. Auf diese Weise konnte ausgeschlossen werden, dass der minimal bestehende Altersunterschied in den beiden Kollektiven der ursächliche Grund für das unterschiedliche Gefäßverhalten ist.

5.1.1.1 Unterschiede im Gefäßverhalten gesunder Probanden versus Dialysepatienten

In der vorliegenden Untersuchung konnte ein signifikanter Unterschied im Gefäßverhalten der Mikrozirkulation zwischen Dialysepatienten und gesunden Probanden nachgewiesen werden.

Es zeigte sich sowohl eine reduzierte arterielle als auch eine verminderte venöse Gefäßdilatation. Dieser Effekt konnte bereits von Nagel et al in einer Vergleichsstudie mit gesunden Probanden und hypertensiven Patienten nachgewiesen werden [114]. Pemp et al gelang dieser Nachweis ebenfalls für Patientengruppen mit Diabetes mellitus, arterieller Hypertonie und Hypercholesterinämie [123]. Während oben genannte Studien mit dem Dynamic Vessel Analyzer gearbeitet haben, gibt es auch die Möglichkeit einer statischen retinalen Gefäßanalyse mittels Fundusfotographie. Diese ermöglicht die Analyse der retinalen arteriellen und venösen Gefäßkaliber anhand digitaler retinaler Fotografien. Lim et al untersuchten mit Hilfe dieser Methode die retinale Gefäßarchitektur. Es konnte gezeigt werden, dass Veränderungen der retinalen Gefäße einhergehen mit Markern renaler Dysfunktion. Hierbei konnte ein Zusammenhang hergestellt werden zwischen schmaleren retinalen Arteriolen und einer niedrigeren eGFR sowie dem Auftreten einer Mikroalbuminurie [112]. Andere Arbeiten konnten nachweisen, dass kleinere retinale arterioläre Gefäßdurchmesser assoziiert sind mit einem erhöhten Risiko für die Entwicklung einer chronischen Niereninsuffizienz [81]. Die vorliegende Arbeit konnte nun mittels dynamischer Analyse der retinalen Gefäße zeigen, dass das Vorliegen einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz in direktem Zusammenhang steht mit einem veränderten Verhalten der retinalen Kapillargefäße.

5.1.1.2 Verminderte Gefäßreagibilität bei erhöhten Inflammationsmarkern

Eine Vielzahl von Faktoren führt bei Dialysepatienten zu einem chronischen Inflammationszustand. Dies sind unter anderem der Kontakt mit Fremdoberflächen, Veränderung auf zellulärer Ebene sowie die Auswirkungen der verminderten renalen Exkretionsleistung [28]. Dabei steht das Endothel, als wandbildende Struktur der Blutgefäße, in stetiger Interaktion mit Immunzellen und zirkulierenden Botenstoffen. Vielfach konnte bereits ein Zusammenhang aufgezeigt werden zwischen endothelialer Dysfunktion und chronischer Inflammation [124-126]. Inflammatorische Stimuli führen dabei zu einem anhaltenden Einwirken auf Endothelzellen, was langfristig zur Entwicklung einer endothelialen Dysfunktion führen kann [127]. Bezüglich des Einflusses des CRP Spiegels auf das Endothel und dessen Integrität und Funktion lassen sich sowohl Studien finden, die einen Einfluss belegen, als auch Arbeiten, die keinen Zusammenhang nachweisen konnten. Verschiedene Studien konnten einen Zusammenhang aufzeigen zwischen venösen retinalen Gefäßdurchmessern und CRP Spiegel. Die Untersuchung der retinalen Kapillargefäße erfolgte hierbei anhand digitaler Fundusfotografien [128, 129]. Bei dieser Art der statischen Gefäßanalyse kann jedoch nur der erfasste Ist-Status der Gefäße ermittelt werden, eine Aussage

zur Endothelfunktion im Sinne der Dilatationsfähigkeit und damit Reaktion auf einen Reiz, kann hiermit nicht getroffen werden. Dennoch lässt sich bereits vermuten, dass ein Zusammenhang zwischen retinalem venösem Gefäßkaliber und dem Vorliegen einer chronischen Inflammation besteht.

Die im Rahmen der ISAR Studie erhobenen Daten bei Dialysepatienten zeigen einen statistisch signifikanten Zusammenhang auf zwischen erhöhtem CRP Spiegel und der retinalen venösen Gefäßreagibilität. Diese zeigte sich bei der Untersuchung deutlich verringert im Vergleich zur gesunden Kontrollgruppe. Ebenso konnte die vorliegende Arbeit eine Korrelation zwischen erhöhten Leukozytenwerten und der venösen Gefäßreagibilität nachweisen. Ein Zusammenhang zwischen endothelialer Dysfunktion und erhöhten CRP- sowie Leukozytenwerten konnte bereits in Studien hergestellt werden [130, 131]. Sicher ist, dass das Vorliegen einer chronischen Inflammation langfristig zur Ausbildung einer systemischen endothelialen Dysfunktion beiträgt, die Folge sind mikro- und makrovaskuläre Komplikationen [132-134]. Um den genauen Beitrag der einzelnen Parameter auf den Einfluss zu bewerten, sind weiterführende Untersuchungen nötig.

5.1.2 Beeinträchtigung der Vasodilatation bei Dialysepatienten bei Komorbiditäten

Wie die vorliegende Studie zeigt gibt es bei Dialysepatienten im Vergleich zu gesunden Probanden einen belastbaren Einfluss auf das retinale Gefäßverhalten bei Vorliegen weiterer Grunderkrankungen wie Diabetes mellitus, koronarer Herzerkrankung und anderen vaskulären Erkrankungen.

Pathophysiologisch kommt es bei Vorliegen eines nicht oder unzureichend behandelten Diabetes mellitus zur nicht-enzymatischen Glykierung von Plasmaproteinen. In der weiteren Folge entwickelt sich die sogenannte diabetische Mikroangiopathie mit Schädigungen des Gefäßendothels und Ausbildung einer endothelialen Dysfunktion [135]. Marker einer endothelialen Dysfunktion waren in Studien erhöht bei Patienten mit Diabetes mellitus Typ I und Typ II im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe [136, 137]. Verschiedene Studien konnten zeigen, dass Patienten mit Prä-Diabetes und Diabetes eine reduzierte Vasodilatation unter Flickerlichtprovokation aufwiesen [98, 138, 139]. Diese Beeinträchtigung der retinalen Gefäßantwort konnte selbst bei Personen aufgezeigt werden, die noch keine diabetische Retinopathie entwickelt hatten [140]. Die vorliegende Arbeit lässt vermuten, dass es einen, wie oben beschriebenen, Zusammenhang zwischen reduzierter Gefäßantwort und gleichzeitigem Vorliegen von dialysepflichtiger Niereninsuffizienz und Diabetes mellitus gibt.

Ebenso konnte bereits ein Zusammenhang zwischen koronarer Herzerkrankung und retinaler Gefäßantwort unter Flickerlichtstimulation gezeigt werden. Pathologische Veränderungen der vaskulären Funktion und Struktur gehen oft der Diagnose einer koronaren Herzerkrankung voraus. Insbesondere die endotheliale Dysfunktion hat sich als Kennzeichen kardiovaskulärer Erkrankungen etabliert und wird daher auch als Frühmarker eines erhöhten kardiovaskulären Risikos erachtet. Patienten mit kompensierter Herzerkrankung zeigten dabei im Vergleich zu gesunden Probanden eine signifikant reduzierte Fähigkeit zur Vasodilatation unter Flickerlichtprovokation sowohl in den arteriellen als auch den venösen Gefäßen [141]. Die vorliegende Arbeit lässt eine Assoziation von koronarer Herzerkrankung und dialysepflichtiger Niereninsuffizienz vermuten. Patienten mit beiden Krankheitsbildern wiesen eine statistisch signifikant reduzierte retinale Gefäßantwort unter Flickerlichtprovokation auf. Nägele et al konnten diesen Effekt bereits nachweisen. Die im Rahmen der DVA Untersuchung ermittelte retinale Gefäßdilatation war bei Personen mit chronischer Herzinsuffizienz signifikant beeinträchtigt [141].

5.1.3 Veränderte Laborparameter bei Dialysepatienten

Die erhobenen Laborparameter unterscheiden sich allesamt statistisch signifikant zwischen den beiden Kohorten. Da es sich bei Dialysepatienten um einen Personenkreis mit chronischer Niereninsuffizienz handelt, war zu erwarten, dass hier die Nierenretentionsparameter im Vergleich zu den gesunden Probanden deutlich erhöht sind. Die durchgeführte Dialysebehandlung entfernt zwar über ein extrakorporales Verfahren nierenpflichtige Substanzen, kann dabei jedoch nur teilweise die physiologische Nierenleistung ersetzen. Erhöhte Werte bei Kreatinin und Harnstoff sind die Folge.

Bezüglich des Gesamt-Serumproteins unterscheiden sich die beiden Gruppen deutlich voneinander. Dabei fällt auf, dass die Dialysepatienten einen im Vergleich zu den gesunden Probanden deutlich erniedrigten mittleren Wert des Gesamt-Serumproteins aufweisen. Grund hierfür ist der Effekt des Protein-Energy-Wasting (PEW), ein Verlust von Körpereiwweißmasse und Energiereserve. Kidney Disease Wasting bezeichnet das Auftreten des Protein-Energy Wasting bei akuter und chronischer Niereninsuffizienz unabhängig von der Ursache und ist stark assoziiert mit erhöhter Mortalität bei chronischer Niereninsuffizienz [142]. Pathogenetisch können verschiedene Faktoren zur Malnutrition beitragen. Dabei spielt der Ernährungsstatus des Patienten vor Dialysebeginn eine entscheidende Rolle. In der weiteren Folge kommt es häufig zur inadäquaten Protein- und Energiezufuhr bei Dialysepatienten.

Urämie kann zu veränderter Geschmacks- und Geruchsempfindung und damit zur Appetitminderung führen. Zusätzlich verschlechtern Phosphatbinder die Nährstoffresorption. Ferner kommt es zu einer Verstärkung des Proteinkatabolismus bei Vorliegen einer Azidose. Auch bei der Dialyse selbst kommt es zu einem Verlust von Aminosäuren von bis zu 6 bis 8g/Tag im Rahmen der Hämodialyse. Ebenso trägt das Vorliegen einer Inflammation und erhöhte Spiegel von TNF-alpha und Interleukin-6 zum PEW bei [143, 144]. Dabei stellt das PEW einen starken Prädiktor der Mortalität bei Dialysepatienten dar, der Ernährungszustand der Dialysepatienten sollte daher in das Behandlungskonzept einbezogen werden [145].

Auch der mittlere gemessene Hämoglobinwert ist bei den Dialysepatienten deutlich erniedrigt. Dies erklärt sich durch die renal bedingte Anämie bei Dialysepatienten, eine bekannte Nebenerscheinung einer chronischen Niereninsuffizienz. Betroffen sind nahezu alle Patienten mit CKD Grad 5 [146]. Die renale Anämie ist normochrom, normozytär und hypoproliferativ. Die Hauptursache der erniedrigten Erythrozytenproduktion ist ein Mangel an endogenem Erythropoetin (EPO), dem Hauptfaktor der Stimulation der Erythropoese [147]. EPO reguliert das Überleben, die Proliferation und die Differenzierung der Erythrozyten und wird vor allem von Fibroblasten des renalen Kortex hervorgebracht, in geringen Mengen auch in anderen Organen wie der Leber [148]. Darüber hinaus tragen jedoch noch andere Faktoren zu Entstehung und Aufrechterhaltung einer renalen Anämie bei chronischer Niereninsuffizienz bei. Diese sind urämisch induzierte Inhibitoren der Erythropoese, eine verkürzte Überlebenszeit der Erythrozyten sowie eine gestörte Homöostase des Eisenhaushaltes [146]. Das Vorliegen einer chronischen Anämie bedeutet eine Verminderung der Sauerstofftransportkapazität und stellt damit einen unabhängigen Risikofaktor für die Entwicklung und das Fortschreiten kardiovaskulärer Erkrankungen dar [149].

Ferner ist die erhobene Anzahl der Leukozyten der Dialysepatienten signifikant höher als bei den gesunden Probanden. Dies liegt am bekannten Effekt der chronischen Inflammation bei Dialysepatienten. Bei gesunden Personen stellt Inflammation eine physiologische Reaktion auf einen schädlichen Reiz dar. Bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz tragen verschiedene Faktoren zur Entwicklung einer chronischen Inflammationsreaktion bei. Dies sind unter anderem Kontakt mit Fremdoberflächen, oxidativer Stress, Hypoxie, Volumenüberladung sowie Urämietoxine [28]. Studien konnten bereits Hinweise geben auf einen Zusammenhang zwischen kardiovaskulärem Risiko und dem Vorliegen einer chronischer Inflammation [33]. Dabei sind die genauen Mechanismen des Zusammenspiels noch nicht vollständig geklärt

worden. Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigen jedoch, dass viele Dialysepatienten eine akute Phase Reaktion aufweisen, die in enger Verbindung steht mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko. Ein Zusammenhang zwischen Leukozytenzahlen und Mortalität bei Patienten mit ESRD wurde bereits vermutet. Dabei stellen auch in der Gesamtbevölkerung höhere absolute Leukozytenzahlen einen unabhängigen prädiktiven Faktor für koronare Herzerkrankungen und Mortalität dar [150]. Dies konnte ebenfalls nachgewiesen werden für Dialysepatienten und zeigt, dass erhöhte absolute Leukozytenzahlen einen Hinweis auf ein erhöhtes kardiovaskuläres Risiko darstellen [151]. Reddan et al konnten belegen, dass bei Dialysepatienten ein erhöhtes Mortalitätsrisiko einhergeht mit erhöhten Zahlen an Neutrophilen Granulozyten und erniedrigten Zahlen an Lymphozyten, analog zu Ergebnissen, die bei Patienten mit kardiovaskulären Erkrankungen gefunden wurden [152].

5.2 DVA als Untersuchungsmethode der Mikrozirkulation

5.2.1 Datengewinnung

5.2.1.1 Übertragbarkeit

Die Messungen mit dem DVA Gerät erfolgen zu Beginn der Untersuchung anhand von Einzelgefäßen. Es wird jeweils eine Venole und eine Arteriole selektiert und deren Verhalten unter Stimulation über den Zeitverlauf hinweg untersucht. Dabei wird von einem singulären Gefäß, z.B. Arteriole, auf das Verhalten des Gefäßsystems, das arterielle Kapillarnetz der Retina, geschlossen. Eine validere und spezifischere Aussage würde sich jedoch ergeben, würden alle funduskopisch sichtbaren Gefäße mit in die Analyse einbezogen. Nur so kann das Kapillarsystem der Retina umfassend beurteilt werden. Die Auswahl von repräsentativen Einzelgefäßen wird dabei immer weniger Aussagekraft haben, als die Analyse des gesamten Gefäßsystems, die DVA Ergebnisse können somit lediglich als Näherungswert dienen.

5.2.1.2 Rekrutierung

Bei der Rekrutierung der gesunden Probanden gab es wie unter Kapitel 3.1. beschrieben, fest definierte Ein- bzw. Ausschlusskriterien. Insbesondere wurde darauf geachtet, dass die gesunden Probanden keine Komorbiditäten aufwiesen. Dabei galten Diabetes mellitus, arterielle Hypertonie, Hypercholesterinämie, Erkrankungen des Gefäßsystems sowie ein stattgehabter Apoplex oder Myokardinfarkt als Ausschlusskriterien. Nicht auszuschließen ist jedoch, dass sich die ausgewählten Studienteilnehmer entweder bereits in einer Frühphase einer der oben genannten Erkrankungen befanden oder aber bereits eine manifeste Komorbidität aufwiesen, die bislang lediglich noch nicht diagnostiziert wurde. Um diese Unwägbarkeiten

auszuschließen, wären weitere Analysen bzw. Voruntersuchungen der Probanden nötig gewesen. Konkret hätte zum Ausschluss eines Prädiabetes ein HbA1c Wert erhoben werden können. Zur Sicherung einer Normotension wären Langzeit-Blutdruckmessungen oder Blutdruck-Tagebücher nötig gewesen. Um unerkannte Gefäßerkrankungen auszuschließen, hätten beispielsweise Doppler Untersuchungen der Gefäße dienen können. Dies bedeutet jedoch einen erheblichen Aufwand, daher wurde darauf im Rahmen der Studie verzichtet.

5.2.1.3 Datenqualität abhängig von Patientencompliance

Bei der Datengewinnung hat sich gezeigt, dass die Untersuchung ein gewisses Maß an Patientencompliance benötigt. Im Laufe der Studie zeigte sich, dass einige Probanden mit unterschiedlichen Anforderungen Schwierigkeiten hatten. Um ein durchgängiges Signal zu erhalten, muss der Proband während der gesamten Untersuchungsdauer einen definierten Punkt fixieren. Damit wird verhindert, dass sich das Auge bewegt und der Fokusbereich auf der Retina aus dem Erfassungsbereich wandert. Einige Probanden hatten Probleme mit verstärktem Tränenfluss und reflektorisch vermehrtem Blinzeln und damit gehäufte Signalunterbrechung. Im abgedunkelten Untersuchungsraum hatten einige Probanden Schwierigkeiten, wach zu bleiben und die Augen offen zu halten. Diese Personen mussten vermehrt durch Kommandos und Ansagen an das Offenhalten der Augen erinnert werden. Ein Refixieren des Fokuspunktes war nach Augenöffnen nicht immer sofort gewährleistet, längere Signalunterbrechungen waren die Folge. Einige Probanden konnten nur mit Mühe ihr Auge ausreichend weit öffnen, um die Pupille vollständig darstellen zu können und Wimpern aus dem Sichtbereich zu halten. Auch die notwendige Ausleuchtung des Augenhintergrundes empfanden viele Probanden als unangenehm und störend. Besonders ältere Probanden hatten Schwierigkeiten mit dem kontinuierlichen Offenhalten des Auges und der stetigen Fixierung des Fokuspunktes.

5.2.2 Einfache klinische Anwendbarkeit

Die Untersuchungsmethode DVA bietet die einmalige Gelegenheit, das Kapillarsystem des Körpers in vivo und unter veränderten Bedingungen wie dem Einfluss von Lichtreizen zu beobachten. Der ausgesendete Lichtreiz löst dabei einen Impuls auf der Retina aus, woraufhin die retinale Signalkaskade der Impulsverarbeitung in Gang gesetzt wird und schließlich in der Aktion der Signaltransduktion endet. Diese neuronale Aktivität führt zu einem erhöhten Sauerstoff- und Nährstoffbedarf der Zellen im Vergleich zu deren Ruhezustand. Um diesen Mehrbedarf abzudecken, kommt es zu einer Steigerung des Blutflusses im aktivierten Areal, welcher durch eine Dilatation der Kapillargefäße ermöglicht wird. Die DVA Methode bietet

somit die einzigartige Möglichkeit, in Echtzeit eine Gewebsperforationsänderung als Reaktion auf einen externen Reiz zu untersuchen.

Andere Ansätze zur Untersuchung der Mikrozirkulation sind die Kapillarmikroskopie und die Laser-Doppler Flowmetrie. Diese unterliegen jedoch Limitationen in Bezug auf die Betrachtung einzelner Gefäße. Sie können lediglich die Kapillardichte und relative Veränderungen des Kapillarnetzes erfassen [85]. Nur die DVA Methode ermöglicht die exakte Vermessung des Gefäßdiameters der einzelnen Kapillare. Dabei bietet die Beobachtung des Gefäßverhaltens in Echtzeit die Gelegenheit, die tatsächliche Veränderung des Gefäßes unter Reizeinfluss zu evaluieren. Dabei gilt es jedoch, all jene Faktoren mit zu berücksichtigen, die ihrerseits Einfluss auf das Gefäßverhalten nehmen können, wie beispielsweise Medikamenteneinnahme oder Nikotinkonsum. Zur Beurteilung der Gefäßsituation eines Patienten sind die Messwerte der DVA jedoch allein nicht ausreichend aussagekräftig. So sollten über die DVA Werte hinaus Parameter wie Blutdruck oder Pulswellengeschwindigkeit zur Beurteilung hinzugezogen werden, da nur die Zusammenschau aus unterschiedlichen Patientenwerten eine umfassende Beurteilung der Gesamtsituation ermöglicht.

Die DVA Methode ist eine bereits in vielen Studien etablierte, aber noch recht junge Untersuchungsmethode, die bisher noch keine breite Anwendung im klinischen Alltag gefunden hat. Daher gibt es bis dato noch keine Referenzwerte für einzelne Patientenpopulationen, wie unterschiedliche Altersgruppen, Raucher, Hypertoniker oder andere denkbare Subgruppierungen, die eine Einordnung der gewonnenen Daten im Vergleich zu einem entsprechenden Normwert ermöglichen würden. Somit kann zwar im Rahmen von Studien der Vergleich von Kohorten stattfinden, nicht aber die Beurteilung eines einzelnen beim Patienten erhobenen Wertes. Zur Erstellung eines individuellen Risikoprofils sind daher normative Daten für unterschiedliche Patientenkonstellationen nötig. Darüber hinaus werden softwarebasierte, untersucherunabhängige standardisierte Untersuchungs-, Mess- und Auswertungsprotokolle benötigt, die idealerweise automatisiert anwendbar sind.

Die vorliegende Studie hat gezeigt, dass die DVA Methode auf die Mitarbeit des Patienten angewiesen ist. Anders als bei rein passiv anwendbaren Untersuchungen, wie der Blutdruckmessung über eine Oberarmmanschette, bei der der Patient lediglich ruhig sitzen muss, sind die Anforderungen an die Patientencompliance bei der DVA Messung vielfältiger. Um ein gutes Untersuchungsergebnis und eine damit eine gute Datenqualität erzielen zu können, müssen die Patienten über die gesamte Untersuchungsdauer von 5 Minuten hinweg

folgende Fähigkeiten beweisen: Ausreichend langes Durchhaltevermögen, Akzeptanz der hellen Beleuchtung des Auges, Fixieren eines Bezugspunktes, ausreichendes Öffnen des Auges, Beibehalten der Sitzposition. Im Verlauf der Studie hat sich gezeigt, dass dies vor allem für ältere Patienten oft schwierig und anstrengend ist. Dies lässt sich auch an der Anzahl der ausgeschlossenen Probanden erkennen, bei denen keine ausreichende Datenqualität bei der DVA Untersuchung erzielt werden konnte. Bei den gesunden Probanden waren dies 12,7%, bei den Dialysepatienten 25,4% der Studienteilnehmer. Zusammenfassend kann gesagt werden, dass die DVA Methode für den klinischen Einsatz praktikabel ist, da sie einfach zu erlernen und durchzuführen ist und eine nicht-invasive Beurteilung des Kapillarsystems ermöglicht. Die Methode ist bereits etabliert und wurde bisher schon in einer Vielzahl an Studien eingesetzt. Dennoch bedarf es eines größeren Datenpools, um die Aussagekraft der gewonnenen Werte besser einordnen zu können. Aktuell ist damit auch der prädiktive Wert der gewonnenen Daten noch nicht eindeutig geklärt. Dazu sind weitere Untersuchungen mit größeren Patientenzahlen nötig. Zukünftig hat die DVA Untersuchung jedoch das Potenzial, sich zu einem wichtigen Prognosetool zu entwickeln, wie auch die Ergebnisse der vorliegenden Studie vermuten lassen. Hierbei könnte die DVA Methode einen Beitrag bei der Früherkennung mikrozirkulatorischer Schädigungen leisten und somit einen Hinweis liefern, die individuelle Nierenfunktion genauer zu untersuchen.

5.3 Limitationen

5.3.1 Rekrutierung der Probanden

Im Rahmen der Rekrutierung der gesunden Probanden zeigten sich Schwierigkeiten, ausreichend viele Männer ohne relevante Vorerkrankungen für die Studie zu gewinnen. Dies entspricht der Prävalenz von Komorbiditäten bei Männern mit steigendem Lebensalter. Laut Robert Koch Institut betrug im Jahr 2009 die Prävalenz für Herz-Kreislaufkrankungen in der Gruppe ab 75 Jahre bei den Männern 40,0%, bei den Frauen hingegen nur 35,1% [153]. In anderen Studien, die retinale Beobachtungen mittels DVA Untersuchung durchgeführt haben, konnte kein Unterschied im Gefäßverhalten zwischen den Geschlechtern nachgewiesen werden [101, 154]. Aus diesem Grund wurde entschieden, ein Mismatch bezüglich Geschlechtsverteilung zwischen Dialyse- und Kontrollgruppe zuzulassen und mehr gesunde, weibliche Probanden in die Kontrollgruppe aufzunehmen.

5.3.2 Reversibilität der mikrozirkulatorischen Veränderungen nicht zu erwarten

Es ist nicht auszuschließen, dass es sich bei den nachgewiesenen Veränderungen der retinalen Mikrozirkulation um ein temporäres, reversibles Phänomen handelt. Dem Wissen der Verfasserin nach gibt es bislang keine Studien mit längeren Beobachtungszeiträumen bzw. Verlaufsbeobachtungen. Allerdings ist davon auszugehen, dass bei Patienten mit dialysespflichtiger Niereninsuffizienz keine Erholung der Nierenfunktion stattfinden wird und somit der auslösende Trigger für die endotheliale Dysfunktion, die chronische Inflammation, weiterhin Bestand haben wird. Zur Betrachtung der Reversibilität der mikrozirkulatorischen Veränderungen wäre eine Studie nötig, die einen Vergleich bei Patienten vor und nach Nierentransplantation zieht. Auch hierzu gibt es nach aktuellem Kenntnisstand bislang keine Veröffentlichungen. Es darf jedoch angenommen werden, dass eine Schädigung des Kapillarendothels an der Retina, wie auch an anderen Kapillaren der Mikrozirkulation des Körpers, dauerhaft und irreversibel ist. Es ist des Weiteren nicht auszuschließen, dass die beobachteten Veränderungen der Mikrozirkulation ein auf die Retina beschränktes Phänomen sind. Da bei dialysepflichtigen Patienten die chronische Entzündungsreaktion jedoch eine systemische Reaktion darstellt, darf angenommen werden, dass die Auswirkungen auf die Mikrozirkulation ebenfalls ubiquitär vorhanden sind. Hinweise darauf geben Vorarbeiten, die Veränderungen an den Koronargefäßen bei Dialysepatienten feststellen konnten [155, 156].

5.3.3 Vergleichbarkeit

Die Vergleichbarkeit zu anderen Studien, die mit dem Dynamic Vessel Analyzer als Untersuchungsmethode gearbeitet haben, ist nur bedingt möglich. Dies liegt vor allem darin begründet, dass die einzelnen Studien mit verschiedenen Untersuchungsprotokollen arbeiten. Im Rahmen der Maastricht Studie [135] beispielsweise wurden Messungen anhand nur eines Flickerzyklus vorgenommen. Beobachtet und ausgewertet wurden hier ausschließlich arterielle Gefäße. Andere Studien arbeiteten hingegen mit mehreren Zyklen, allerdings bei unterschiedlicher Provokationsdauer und mit unterschiedlich langen Erholungsphasen [95, 104]. Das in der vorliegenden Arbeit vorgenommene Untersuchungsprotokoll mit insgesamt drei Flickerzyklen bietet eine größere Datenbasis und liefert damit genauere Ergebnisse als Messungen mit nur einem Provokationszyklus. Die Ergebnisse zeigen auch die Wichtigkeit der Beobachtung der venösen Kapillargefäße auf. Eine Vergleichbarkeit der Studien ist, wie oben geschildert, damit nur eingeschränkt möglich. Für weiterführende Studien wäre die Entwicklung eines Standard-Untersuchungsprotokolls ein wichtiger Schritt, welches eine spätere Vergleichbarkeit der Ergebnisse gewährleisten würde.

6 Zusammenfassung

Die chronische Niereninsuffizienz zeigt weltweit steigende Inzidenzen und Prävalenzen. Abgesehen von einer Nierentransplantation stellt im Stadium terminaler Niereninsuffizienz die Dialyse die einzige Möglichkeit dar, die Filter- und Exkretionsleistung der Niere wenigstens teilweise zu ersetzen. Die Hämodialyse als extrakorporales Nierenersatzverfahren ist vergesellschaftet mit einem erhöhten Risiko kardiovaskulärer Ereignisse und einer signifikant höheren Mortalitätsrate [116]. Erste vaskuläre Komplikationen lassen sich dabei bereits in einem Frühstadium im Gefäßsystem der Mikrozirkulation feststellen.

Anlass der vorliegenden Studie war die Untersuchung des Einflusses einer eingeschränkten Nierenfunktion auf die Gefäße der Mikrozirkulation der Retina. Hierbei wurde ein Kollektiv gesunder Probanden und im Rahmen der ISAR Studie ein Kollektiv von Dialysepatienten untersucht. Die retinalen Kapillargefäße bieten dabei die einzigartige Möglichkeit der in vivo Beobachtung des Gefäßverhaltens unter Reizeinfluss. Die Provokation mit Flickerlicht führt durch gesteigerte neuronale Aktivität zu einem erhöhten metabolischen Bedarf. Über neurovaskuläre Kopplung kommt es konsekutiv zur endothelvermittelten Vasodilatation. Das Vorliegen einer endothelialen Dysfunktion hingegen beeinträchtigt die endothelvermittelte Vasodilatation. Deren Entwicklung wird durch diverse Einflussfaktoren begünstigt, darunter steigendes Lebensalter, Hyperglykämie sowie das Vorliegen einer chronischen Inflammation, wie sie bei Dialysepatienten seit Langem bekannt ist. Eine endotheliale Dysfunktion ist assoziiert mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität und wichtiger Faktor bei der Entstehung und dem Fortschreiten kardialer sowie renaler Krankheiten. Gleiches gilt für atherosklerotische Prozesse, die durch das Vorliegen einer dialysepflichtigen Niereninsuffizienz noch befeuert werden. Die Beurteilung des Verhaltens der retinalen Kapillargefäße unter Lichtprovokation ermöglicht so die Beurteilung früher mikrozirkulatorischer Veränderungen des Körpers.

Im Rahmen der Studie wurden die Datensätze von insgesamt 192 gesunden Probanden und 214 Dialysepatienten in Untersuchungen durch die Abteilung für Nephrologie am Klinikum Rechts der Isar gewonnen. Die retinalen Gefäße wurden mittels Dynamic Vessel Analyzer (DVA, Imedos Systems, Jena, Deutschland) durchgeführt. Ermittelt wurde die maximale arterielle sowie die maximale venöse Gefäßdilatation als Marker der Gefäßantwort auf einen externen Lichtreiz.

Die vorliegende Arbeit konnte eine signifikant reduzierte Gefäßreagibilität arterieller und venöser Gefäße bei dialysepflichtigen Patienten feststellen im Vergleich zu gleichaltrigen gesunden Probanden. Hierbei zeigte sich im Vergleich zwischen einer nach Alter möglichst gleich strukturierten Kohorte von Dialysepatienten und gesunden Probanden sowohl eine signifikant reduzierte arterielle als auch venöse Gefäßantwort auf einen Lichtstimulus. Als relevanter Einflussfaktor der Gefäßdilatation konnte dabei das Probandenalter identifiziert werden. Alterungsprozesse führen zur verminderten NO Verfügbarkeit, einem der maßgeblichen Faktoren der endothelvermittelten Vasodilatation, und fördern so die Ausbildung einer endothelialen Dysfunktion. Die Folge ist eine verminderte Dilatationsfähigkeit der Gefäße bei gestiegenem metabolischem Bedarf, wie beispielsweise bei Verarbeitung eines eintreffenden Lichtreizes.

Zudem konnte gezeigt werden, dass im Vergleich zum gesunden Probandenkollektiv aufgrund der unter Dialyse vorliegenden chronischen Inflammation Dialysepatienten erhöhte CRP- und Leukozytenwerte aufweisen. Diese sind assoziiert mit einer verminderten arteriellen und venösen Gefäßantwort auf einen Lichtstimulus. Erhöhte Inflammationswerte führen langfristig zur Ausbildung einer endothelialen Dysfunktion, welche sich auf die Reagibilität der retinalen Kapillargefäße auswirkt.

Vorarbeiten haben bereits den Nachweis eines Zusammenhangs zwischen verminderter retinaler Gefäßantwort und der Manifestation von Diabetes mellitus sowie einer koronaren Herzerkrankung erbracht. Die vorliegende Arbeit gibt starke Hinweise darauf, dass das Vorliegen einer entsprechenden Komorbidität einen Einfluss auf die retinale Gefäßantwort bei Dialysepatienten hat.

Die DVA Methode erlaubt als einzige nicht-invasive Untersuchungsmethode in vivo Einblicke in die Verhältnisse der Mikrozirkulation. Wie im Rahmen der vorliegenden Arbeit gezeigt werden konnte, bietet die Untersuchung der retinalen Kapillargefäße mittels Dynamic Vessel Analyse wertvolle und aussagekräftige Daten zum Status der Mikrozirkulation des Körpers. Aktuell ist die dynamische retinale Gefäßanalyse nicht Bestandteil von Routineuntersuchungen, eignet sich jedoch exzellent für den klinischen Einsatz, da sie einfach zu erlernen und anzuwenden ist. Sie könnte als Methode der nichtinvasiven Früherkennung einer endothelialen Dysfunktion und eines erhöhten kardiovaskulären Risikos bei Dialysepatienten dienen und sich zu einem wichtigen klinischen Prognosetool entwickeln.

7 Literaturverzeichnis

1. Schiffrin, E.L., M.L. Lipman, and J.F. Mann, Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation*, 2007. 116(1): p. 85-97.
2. Frei, U., Schober-Halstenberg, H.-J., QuaSi-Niere: Nierenersatztherapie in Deutschland. Bericht 2006/2007. 2008: Berlin. p. 1-64.
3. Rosner, M., E. Abdel-Rahman, and M.E. Williams, Geriatric nephrology: responding to a growing challenge. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010. 5(5): p. 936-42.
4. Group, K.D.I.G.O.K.C.W., KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease., in *Kidney Int Suppl*. 2013. p. 1-150
5. Levey, A.S., et al., National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Ann Intern Med*, 2003. 139(2): p. 137-47.
6. Chawla, L.S. and P.L. Kimmel, Acute kidney injury and chronic kidney disease: an integrated clinical syndrome. *Kidney Int*, 2012. 82(5): p. 516-24.
7. Rosenberg, M., Overview of the management of chronic kidney disease in adults, in *UpToDate*. 2014.
8. Nephrologie, D.G.f., Dialysestandard, I.Z.m.d.V.D.N.e.V.s.d.G.f.p.N. (GPN), Editor. 2016. p. 16-17.
9. Kidney Disease: Improving GlobalOutcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for theEvaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney inter., Suppl*. 2013;3: 1–150. 3(1).
10. Kuhlmann, U., Walb D., Böhler, J., Luft, F., *Nephrologie. Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren*. Vol. 5. überarbeitete und erweiterte Auflage. 2008, Stuttgart, New York: Thieme. 547-581.
11. Ravani, P., et al., Temporal risk profile for infectious and noninfectious complications of hemodialysis access. *J Am Soc Nephrol*, 2013. 24(10): p. 1668-77.
12. Fluck, R. and M. Kumwenda, Renal Association Clinical Practice Guideline on vascular access for haemodialysis. *Nephron Clin Pract*, 2011. 118 Suppl 1: p. c225-40.
13. Lacson, E., Jr., et al., Change in vascular access and hospitalization risk in long-term hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010. 5(11): p. 1996-2003.
14. Pisoni, R.L., et al., Facility hemodialysis vascular access use and mortality in countries participating in DOPPS: an instrumental variable analysis. *Am J Kidney Dis*, 2009. 53(3): p. 475-91.
15. Allon, M., et al., Effect of change in vascular access on patient mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 2006. 47(3): p. 469-77.
16. Drey, N., et al., A population-based study of the incidence and outcomes of diagnosed chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis*, 2003. 42(4): p. 677-84.
17. Gansevoort, R.T., et al., Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet*, 2013. 382(9889): p. 339-52.
18. Fox, C.S., et al., Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without diabetes: a meta-analysis. *Lancet*, 2012. 380(9854): p. 1662-73.
19. Mahmoodi, B.K., et al., Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without hypertension: a meta-analysis. *Lancet*, 2012. 380(9854): p. 1649-61.
20. Go, A.S., et al., Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*, 2004. 351(13): p. 1296-305.
21. Matsushita, K., et al., Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*, 2010. 375(9731): p. 2073-81.

22. van der Velde, M., et al., Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int*, 2011. 79(12): p. 1341-52.
23. Wattanakit, K., et al., Kidney function and risk of peripheral arterial disease: results from the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) Study. *J Am Soc Nephrol*, 2007. 18(2): p. 629-36.
24. Alonso, A., et al., Chronic kidney disease is associated with the incidence of atrial fibrillation: the Atherosclerosis Risk in Communities (ARIC) study. *Circulation*, 2011. 123(25): p. 2946-53.
25. Wattanakit, K., et al., Chronic kidney disease increases risk for venous thromboembolism. *J Am Soc Nephrol*, 2008. 19(1): p. 135-40.
26. Carrero, J.J. and P. Stenvinkel, Inflammation in end-stage renal disease--what have we learned in 10 years? *Semin Dial*, 2010. 23(5): p. 498-509.
27. Gupta, J., et al., Association between albuminuria, kidney function, and inflammatory biomarker profile in CKD in CRIC. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2012. 7(12): p. 1938-46.
28. Cobo, G., B. Lindholm, and P. Stenvinkel, Chronic inflammation in end-stage renal disease and dialysis. *Nephrol Dial Transplant*, 2018. 33(suppl_3): p. iii35-iii40.
29. Tonelli, M., et al., Biomarkers of inflammation and progression of chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2005. 68(1): p. 237-45.
30. Carlsson, A.C., et al., Soluble Tumor Necrosis Factor Receptor 1 Is Associated with Glomerular Filtration Rate Progression and Incidence of Chronic Kidney Disease in Two Community-Based Cohorts of Elderly Individuals. *Cardiorenal Med*, 2015. 5(4): p. 278-88.
31. Hiramoto, J.S., et al., Inflammation and coagulation markers and kidney function decline: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Kidney Dis*, 2012. 60(2): p. 225-32.
32. Amdur, R.L., et al., Inflammation and Progression of CKD: The CRIC Study. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2016. 11(9): p. 1546-56.
33. Zimmermann, J., et al., Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 1999. 55(2): p. 648-58.
34. Okyay, G.U., et al., Novel inflammatory marker in dialysis patients: YKL-40. *Ther Apher Dial*, 2013. 17(2): p. 193-201.
35. Lorenz, G., et al., Mortality prediction in stable hemodialysis patients is refined by YKL-40, a 40-kDa glycoprotein associated with inflammation. *Kidney Int*, 2018. 93(1): p. 221-230.
36. Libby, P., P.M. Ridker, and G.K. Hansson, Inflammation in atherosclerosis: from pathophysiology to practice. *J Am Coll Cardiol*, 2009. 54(23): p. 2129-38.
37. Osterud, B. and E. Bjorklid, Role of monocytes in atherogenesis. *Physiol Rev*, 2003. 83(4): p. 1069-112.
38. Ross, R., Atherosclerosis--an inflammatory disease. *N Engl J Med*, 1999. 340(2): p. 115-26.
39. Gimbrone, M.A., Jr., Vascular endothelium: an integrator of pathophysiologic stimuli in atherosclerosis. *Am J Cardiol*, 1995. 75(6): p. 67b-70b.
40. Davignon, J. and P. Ganz, Role of endothelial dysfunction in atherosclerosis. *Circulation*, 2004. 109(23 Suppl 1): p. Iii27-32.
41. Brown, M.S. and J.L. Goldstein, Lipoprotein metabolism in the macrophage: implications for cholesterol deposition in atherosclerosis. *Annu Rev Biochem*, 1983. 52: p. 223-61.
42. Hashizume, M. and M. Mihara, Atherogenic effects of TNF-alpha and IL-6 via up-regulation of scavenger receptors. *Cytokine*, 2012. 58(3): p. 424-30.
43. Stary, H.C., et al., A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. *Circulation*, 1995. 92(5): p. 1355-74.
44. Ross, R. and J.A. Glomset, Atherosclerosis and the arterial smooth muscle cell: Proliferation of smooth muscle is a key event in the genesis of the lesions of atherosclerosis. *Science*, 1973. 180(4093): p. 1332-9.
45. Zoungas, S. and R.P. Asmar, Arterial stiffness and cardiovascular outcome. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2007. 34(7): p. 647-51.

46. Palombo, C. and M. Kozakova, Arterial stiffness, atherosclerosis and cardiovascular risk: Pathophysiologic mechanisms and emerging clinical indications. *Vascul Pharmacol*, 2016. 77: p. 1-7.
47. Jaminon, A., et al., The Role of Vascular Smooth Muscle Cells in Arterial Remodeling: Focus on Calcification-Related Processes. *Int J Mol Sci*, 2019. 20(22).
48. Jain, S., et al., "Inflammation and arterial stiffness in humans". *Atherosclerosis*, 2014. 237(2): p. 381-90.
49. Mäki-Petäjä, K. and I. Wilkinson, Inflammation and large arteries: Potential mechanisms for inflammation-induced arterial stiffness. *Artery Research*, 2012. 6: p. 59–64.
50. Guerin, A.P., et al., Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2000. 15(7): p. 1014-21.
51. O'Rourke, M.F. and M.E. Safar, Relationship between aortic stiffening and microvascular disease in brain and kidney: cause and logic of therapy. *Hypertension*, 2005. 46(1): p. 200-4.
52. Triantafyllou, A., et al., Association between retinal vessel caliber and arterial stiffness in a population comprised of normotensive to early-stage hypertensive individuals. *Am J Hypertens*, 2014. 27(12): p. 1472-8.
53. Laurent, S., M. Briet, and P. Boutouyrie, Large and small artery cross-talk and recent morbidity-mortality trials in hypertension. *Hypertension*, 2009. 54(2): p. 388-92.
54. Cheung, N., et al., Arterial compliance and retinal vascular caliber in cerebrovascular disease. *Ann Neurol*, 2007. 62(6): p. 618-24.
55. Liao, D., et al., Relationship between carotid artery stiffness and retinal arteriolar narrowing in healthy middle-aged persons. *Stroke*, 2004. 35(4): p. 837-42.
56. Aissopou, E.K., et al., Ambulatory Aortic Stiffness Is Associated With Narrow Retinal Arteriolar Caliber in Hypertensives: The SAFAR Study. *Am J Hypertens*, 2016. 29(5): p. 626-33.
57. Verdant, C. and D. De Backer, How monitoring of the microcirculation may help us at the bedside. *Curr Opin Crit Care*, 2005. 11(3): p. 240-4.
58. Ince, C., The microcirculation is the motor of sepsis. *Crit Care*, 2005. 9 Suppl 4(Suppl 4): p. S13-9.
59. McHedlishvili, G. and N. Maeda, Blood flow structure related to red cell flow: determinant of blood fluidity in narrow microvessels. *Jpn J Physiol*, 2001. 51(1): p. 19-30.
60. Elbers, P.W. and C. Ince, Mechanisms of critical illness--classifying microcirculatory flow abnormalities in distributive shock. *Crit Care*, 2006. 10(4): p. 221.
61. Lüllmann-Rauch, R., Taschenlehrbuch Histologie. Vol. 2. komplett überarbeitete Auflage. 2006, Stuttgart: Georg Thieme Verlag.
62. Segal, S.S., Regulation of blood flow in the microcirculation. *Microcirculation*, 2005. 12(1): p. 33-45.
63. de Wit, C., B. Hoepfl, and S.E. Wolfle, Endothelial mediators and communication through vascular gap junctions. *Biol Chem*, 2006. 387(1): p. 3-9.
64. Christ, G.J., et al., Gap Junctions in Vascular Tissues. *Circulation Research*, 1996. 79(4): p. 631-646.
65. Vallance, P., J. Collier, and S. Moncada, Effects of endothelium-derived nitric oxide on peripheral arteriolar tone in man. *Lancet*, 1989. 2(8670): p. 997-1000.
66. Ellis, C.G., J. Jagger, and M. Sharpe, The microcirculation as a functional system. *Crit Care*, 2005. 9 Suppl 4: p. S3-8.
67. Furchgott, R.F. and P.M. Vanhoutte, Endothelium-derived relaxing and contracting factors. *Faseb j*, 1989. 3(9): p. 2007-18.
68. Vallet, B., Endothelial cell dysfunction and abnormal tissue perfusion. *Crit Care Med*, 2002. 30(5 Suppl): p. S229-34.
69. Lerman, A. and J.C. Burnett, Jr., Intact and altered endothelium in regulation of vasomotion. *Circulation*, 1992. 86(6 Suppl): p. Iii12-19.
70. Fleming, I. and R. Busse, Molecular mechanisms involved in the regulation of the endothelial nitric oxide synthase. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol*, 2003. 284(1): p. R1-12.

71. Gimbrone, M.A., Jr. and G. García-Cardeña, Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circ Res*, 2016. 118(4): p. 620-36.
72. Stamler, J.S., D.J. Singel, and J. Loscalzo, Biochemistry of nitric oxide and its redox-activated forms. *Science*, 1992. 258(5090): p. 1898-902.
73. Sorensen, K.E., et al., Impairment of endothelium-dependent dilation is an early event in children with familial hypercholesterolemia and is related to the lipoprotein(a) level. *J Clin Invest*, 1994. 93(1): p. 50-5.
74. Gokce, N., et al., Risk stratification for postoperative cardiovascular events via noninvasive assessment of endothelial function: a prospective study. *Circulation*, 2002. 105(13): p. 1567-72.
75. Bonetti, P.O., L.O. Lerman, and A. Lerman, Endothelial dysfunction: a marker of atherosclerotic risk. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 2003. 23(2): p. 168-75.
76. Forgione, M.A., J.A. Leopold, and J. Loscalzo, Roles of endothelial dysfunction in coronary artery disease. *Curr Opin Cardiol*, 2000. 15(6): p. 409-15.
77. Cai, H. and D.G. Harrison, Endothelial dysfunction in cardiovascular diseases: the role of oxidant stress. *Circ Res*, 2000. 87(10): p. 840-4.
78. Verma, S., et al., A self-fulfilling prophecy: C-reactive protein attenuates nitric oxide production and inhibits angiogenesis. *Circulation*, 2002. 106(8): p. 913-9.
79. Hadi, H.A., C.S. Carr, and J. Al Suwaidi, Endothelial dysfunction: cardiovascular risk factors, therapy, and outcome. *Vasc Health Risk Manag*, 2005. 1(3): p. 183-98.
80. Shimokawa, H., Primary endothelial dysfunction: atherosclerosis. *J Mol Cell Cardiol*, 1999. 31(1): p. 23-37.
81. Yau, J.W., et al., Retinal arteriolar narrowing and subsequent development of CKD Stage 3: the Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis (MESA). *Am J Kidney Dis*, 2011. 58(1): p. 39-46.
82. Liew, G., et al., Fractal analysis of retinal microvasculature and coronary heart disease mortality. *Eur Heart J*, 2011. 32(4): p. 422-9.
83. Wong, T.Y., et al., Retinal microvascular abnormalities and incident stroke: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Lancet*, 2001. 358(9288): p. 1134-40.
84. Krentz, A.J., G. Clough, and C.D. Byrne, Vascular disease in the metabolic syndrome: do we need to target the microcirculation to treat large vessel disease? *J Vasc Res*, 2009. 46(6): p. 515-26.
85. Houben, A., R.J.H. Martens, and C.D.A. Stehouwer, Assessing Microvascular Function in Humans from a Chronic Disease Perspective. *J Am Soc Nephrol*, 2017. 28(12): p. 3461-3472.
86. Martinez-Ferre, A. and S. Martinez, Molecular regionalization of the diencephalon. *Front Neurosci*, 2012. 6: p. 73.
87. Moll K.J., M.M., GK1 Kurzlehrbuch Anatomie. 17. Auflage ed. Kopf und Hals, Arterien und Venen. 2002, München: Urban&Fischer.
88. Maidowsky, W., Anatomie des Auges. 4. Auflage ed. Blutversorgung, die arterielle Versorgung des Auges. 1994, Pforzheim: Verlag neues Optikerjournal Bode GmbH.
89. Patton, N., et al., Retinal vascular image analysis as a potential screening tool for cerebrovascular disease: a rationale based on homology between cerebral and retinal microvasculatures. *J Anat*, 2005. 206(4): p. 319-48.
90. Cioffi, G.A., Granstam, E., Als, A., Adlers's Physiology of the eye. 10th Edition ed. *Ocular Circulation*. 2003, Mosby, Missouri: Kaufman, P.L., Als, A.
91. Gaehtgens, P., Flow of blood through narrow capillaries: rheological mechanisms determining capillary hematocrit and apparent viscosity. *Biorheology*, 1980. 17(1-2): p. 183-9.
92. Matthias Sachsenwenger, K.B., Duale Reihe Augenheilkunde, ed. v.ü.u.e. Auflage. Vol. 2. 2003: Georg Thieme Verlag.
93. Laties, A.M., Central retinal artery innervation. Absence of adrenergic innervation to the intraocular branches. *Arch Ophthalmol*, 1967. 77(3): p. 405-9.
94. Lipecz, A., et al., Age-related impairment of neurovascular coupling responses: a dynamic vessel analysis (DVA)-based approach to measure decreased flicker light stimulus-induced retinal arteriolar dilation in healthy older adults. *Geroscience*, 2019. 41(3): p. 341-349.

95. Polak, K., L. Schmetterer, and C.E. Riva, Influence of flicker frequency on flicker-induced changes of retinal vessel diameter. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2002. 43(8): p. 2721-6.
96. Dorner, G.T., et al., Nitric oxide regulates retinal vascular tone in humans. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2003. 285(2): p. H631-6.
97. Riva, C.E., E. Logean, and B. Falsini, Visually evoked hemodynamical response and assessment of neurovascular coupling in the optic nerve and retina. *Prog Retin Eye Res*, 2005. 24(2): p. 183-215.
98. Mandecka, A., et al., Abnormal retinal autoregulation is detected by provoked stimulation with flicker light in well-controlled patients with type 1 diabetes without retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009. 86(1): p. 51-5.
99. Deanfield, J.E., J.P. Halcox, and T.J. Rabelink, Endothelial function and dysfunction: testing and clinical relevance. *Circulation*, 2007. 115(10): p. 1285-95.
100. Nagel, E., et al., [Variance of retinal vessel diameter response to flicker light. A methodical clinical study]. *Ophthalmologie*, 2006. 103(2): p. 114-9.
101. Seshadri, S., A. Ekart, and D. Gherghel, Ageing effect on flicker-induced diameter changes in retinal microvessels of healthy individuals. *Acta Ophthalmol*, 2016. 94(1): p. e35-42.
102. Michelson, G., A. Patzelt, and J. Harazny, Flickering light increases retinal blood flow. *Retina*, 2002. 22(3): p. 336-43.
103. Polak, K., et al., Evaluation of the Zeiss retinal vessel analyser. *Br J Ophthalmol*, 2000. 84(11): p. 1285-90.
104. Nguyen, T.T., et al., Reproducibility of the retinal vascular response to flicker light in Asians. *Curr Eye Res*, 2009. 34(12): p. 1082-8.
105. J, M.S., et al., Trabeculectomy Improves Vessel Response Measured by Dynamic Vessel Analysis (DVA) in Glaucoma Patients. *The open ophthalmology journal*, 2014. 8: p. 75-81.
106. Schmaderer, C., et al., Rationale and study design of the prospective, longitudinal, observational cohort study "rISk strATification in end-stage renal disease" (ISAR) study. *BMC Nephrol*, 2016. 17(1): p. 161.
107. Garhofer, G., et al., Use of the retinal vessel analyzer in ocular blood flow research. *Acta Ophthalmol*, 2010. 88(7): p. 717-22.
108. Seifertl, B.U. and W. Vilser, Retinal Vessel Analyzer (RVA)--design and function. *Biomed Tech (Berl)*, 2002. 47 Suppl 1 Pt 2: p. 678-81.
109. Murray, C.D., The Physiological Principle of Minimum Work: I. The Vascular System and the Cost of Blood Volume. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1926. 12(3): p. 207-14.
110. Kotliar, K.E., et al., Retinal vessel reaction in response to chromatic flickering light. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*, 2004. 242(5): p. 377-92.
111. Riva, C.E., B. Falsini, and E. Logean, Flicker-evoked responses of human optic nerve head blood flow: luminance versus chromatic modulation. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2001. 42(3): p. 756-62.
112. Lim, L.S., et al., Structural changes in the retinal microvasculature and renal function. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2013. 54(4): p. 2970-6.
113. Mandecka, A., et al., Influence of flickering light on the retinal vessels in diabetic patients. *Diabetes Care*, 2007. 30(12): p. 3048-52.
114. Nagel, E., W. Vilser, and I. Lanzl, Age, blood pressure, and vessel diameter as factors influencing the arterial retinal flicker response. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2004. 45(5): p. 1486-92.
115. Noonan, J.E., et al., Flicker-induced retinal arteriole dilation is reduced by ambient lighting. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2014. 55(9): p. 5476-81.
116. Günthner, R., et al., Impaired Retinal Vessel Dilation Predicts Mortality in End-Stage Renal Disease. *Circ Res*, 2019.
117. Roy, C.S., The Elastic Properties of the Arterial Wall. *J Physiol*, 1881. 3(2): p. 125-59.
118. Castelli, W.P., et al., Cardiovascular risk factors in the elderly. *Am J Cardiol*, 1989. 63(16): p. 12h-19h.
119. Weinsaft, J.W. and J.M. Edelberg, Aging-associated changes in vascular activity: a potential link to geriatric cardiovascular disease. *Am J Geriatr Cardiol*, 2001. 10(6): p. 348-54.

120. Smith, A.R. and T.M. Hagen, Vascular endothelial dysfunction in aging: loss of Akt-dependent endothelial nitric oxide synthase phosphorylation and partial restoration by (R)-alpha-lipoic acid. *Biochem Soc Trans*, 2003. 31(Pt 6): p. 1447-9.
121. Gerhard, M., et al., Aging progressively impairs endothelium-dependent vasodilation in forearm resistance vessels of humans. *Hypertension*, 1996. 27(4): p. 849-53.
122. Gryglewski, R.J., R.M. Palmer, and S. Moncada, Superoxide anion is involved in the breakdown of endothelium-derived vascular relaxing factor. *Nature*, 1986. 320(6061): p. 454-6.
123. Pemp, B., et al., Correlation of flicker-induced and flow-mediated vasodilatation in patients with endothelial dysfunction and healthy volunteers. *Diabetes Care*, 2009. 32(8): p. 1536-41.
124. Nelson, C.L., et al., Systemic and vascular inflammation is elevated in early IgA and type 1 diabetic nephropathies and relates to vascular disease risk factors and renal function. *Nephrol Dial Transplant*, 2005. 20(11): p. 2420-6.
125. Baker, N.L., et al., Association Between Inflammatory Markers and Progression to Kidney Dysfunction: Examining Different Assessment Windows in Patients With Type 1 Diabetes. *Diabetes Care*, 2018. 41(1): p. 128-135.
126. Schram, M.T., et al., Vascular risk factors and markers of endothelial function as determinants of inflammatory markers in type 1 diabetes: the EURODIAB Prospective Complications Study. *Diabetes Care*, 2003. 26(7): p. 2165-73.
127. Cho, J.G., et al., Endothelial to Mesenchymal Transition Represents a Key Link in the Interaction between Inflammation and Endothelial Dysfunction. *Frontiers in Immunology*, 2018. 9(294).
128. Tan, G.S., et al., C-Reactive Protein and Retinal Vascular Caliber: The Singapore Malay Eye Study. *Investigative Ophthalmology & Visual Science*, 2009. 50(13): p. 101-101.
129. Yim-Lui Cheung, C., et al., C-Reactive Protein and Retinal Microvascular Caliber in a Multiethnic Asian Population. *American Journal of Epidemiology*, 2009. 171(2): p. 206-213.
130. Atmaca, Y., et al., The association of elevated white blood cell count and C-reactive protein with endothelial dysfunction in cardiac syndrome X. *Acta Cardiol*, 2008. 63(6): p. 723-8.
131. Lavi, S., et al., Smoking is associated with epicardial coronary endothelial dysfunction and elevated white blood cell count in patients with chest pain and early coronary artery disease. *Circulation*, 2007. 115(20): p. 2621-7.
132. Skrivarhaug, T., et al., Low risk of overt nephropathy after 24 yr of childhood-onset type 1 diabetes mellitus (T1DM) in Norway. *Pediatr Diabetes*, 2006. 7(5): p. 239-46.
133. Hayaishi-Okano, R., et al., Elevated C-reactive protein associates with early-stage carotid atherosclerosis in young subjects with type 1 diabetes. *Diabetes Care*, 2002. 25(8): p. 1432-8.
134. Stehouwer, C.D., et al., Increased urinary albumin excretion, endothelial dysfunction, and chronic low-grade inflammation in type 2 diabetes: progressive, interrelated, and independently associated with risk of death. *Diabetes*, 2002. 51(4): p. 1157-65.
135. Sørensen, B.M., et al., Prediabetes and Type 2 Diabetes Are Associated With Generalized Microvascular Dysfunction: The Maastricht Study. *Circulation*, 2016. 134(18): p. 1339-1352.
136. De Mattia, G., et al., Endothelial dysfunction and oxidative stress in type 1 and type 2 diabetic patients without clinical macrovascular complications. *Diabetes Res Clin Pract*, 2008. 79(2): p. 337-42.
137. Targher, G., et al., Increased plasma markers of inflammation and endothelial dysfunction and their association with microvascular complications in Type 1 diabetic patients without clinically manifest macroangiopathy. *Diabet Med*, 2005. 22(8): p. 999-1004.
138. Lim, M., et al., Systemic associations of dynamic retinal vessel analysis: a review of current literature. *Microcirculation*, 2013. 20(3): p. 257-68.
139. Garhöfer, G., et al., Reduced response of retinal vessel diameters to flicker stimulation in patients with diabetes. *Br J Ophthalmol*, 2004. 88(7): p. 887-91.
140. Nguyen, T.T., et al., Correlation of light-flicker-induced retinal vasodilation and retinal vascular caliber measurements in diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*, 2009. 50(12): p. 5609-13.

141. Nägele, M.P., et al., Retinal microvascular dysfunction in heart failure. *Eur Heart J*, 2018. 39(1): p. 47-56.
142. Obi, Y., et al., Latest consensus and update on protein-energy wasting in chronic kidney disease. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, 2015. 18(3): p. 254-62.
143. Stenvinkel, P., O. Heimbürger, and B. Lindholm, Wasting, but not malnutrition, predicts cardiovascular mortality in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant*, 2004. 19(9): p. 2181-3.
144. Jadeja, Y.P. and V. Kher, Protein energy wasting in chronic kidney disease: An update with focus on nutritional interventions to improve outcomes. *Indian J Endocrinol Metab*, 2012. 16(2): p. 246-51.
145. Kopple, J.D., McCollum Award Lecture, 1996: protein-energy malnutrition in maintenance dialysis patients. *Am J Clin Nutr*, 1997. 65(5): p. 1544-57.
146. Babitt, J.L. and H.Y. Lin, Mechanisms of anemia in CKD. *J Am Soc Nephrol*, 2012. 23(10): p. 1631-4.
147. Mimura, I., T. Tanaka, and M. Nangaku, How the Target Hemoglobin of Renal Anemia Should Be. *Nephron*, 2015. 131(3): p. 202-9.
148. Jelkmann, W., Regulation of erythropoietin production. *J Physiol*, 2011. 589(Pt 6): p. 1251-8.
149. Vlagopoulos, P.T., et al., Anemia as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality in diabetes: the impact of chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(11): p. 3403-10.
150. Johnson, D.W., et al., Elevated white cell count at commencement of peritoneal dialysis predicts overall and cardiac mortality. *Kidney Int*, 2005. 67(2): p. 738-43.
151. Hsu, C.W., et al., White blood cell count predicts all-cause, cardiovascular disease-cause and infection-cause one-year mortality of maintenance hemodialysis patients. *Ther Apher Dial*, 2010. 14(6): p. 552-9.
152. Reddan, D.N., et al., White blood cells as a novel mortality predictor in haemodialysis patients. *Nephrology Dialysis Transplantation*, 2003. 18(6): p. 1167-1173.
153. Koch-Institut, R., *Gesundheit in Deutschland. Gesundheitsberichterstattung des Bundes. 2015, Gemeinsam gertagen von RKI und Destatis: Berlin.* p. 412-417.
154. Schiel, R., et al., Retinal vessel response to flicker light in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and overweight or obesity. *Diabetes Res Clin Pract*, 2009. 83(3): p. 358-64.
155. Yokoyama, K., [Evaluation of coronary artery calcification in ESRD patients]. *Clin Calcium*, 2004. 14(6): p. 109-15.
156. Goodman, W.G., et al., Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med*, 2000. 342(20): p. 1478-83.

8 Abbildungsverzeichnis

- Abbildung 1: Ursachen Niereninsuffizienz
- Abbildung 2: Kardiovaskuläre Events und GFR
- Abbildung 3: DVA Arbeitsplatz
- Abbildung 4 Messprinzip des DVA
- Abbildung 5: Augenhintergrund und Markierung A (Arteriole) und V (Venole)
- Abbildung 6: Messsignal Flickeruntersuchung
- Abbildung 7: Beispielhafte Darstellung des arteriölen Gefäßverhaltens
- Abbildung 8: Beispielhafte Darstellung des venölen Gefäßverhaltens
- Abbildung 9: Studienteilnehmer Dialysepatienten
- Abbildung 10: Studienteilnehmer gesunde Probanden
- Abbildung 11: Leukozyten
- Abbildung 12: Hämoglobinwert
- Abbildung 13: Gesamt-Serumprotein
- Abbildung 14: Gefäßverhalten Gesamtkohorte (Median und Interquartilabstand)
- Abbildung 15: Gefäßverhalten im Zeitverlauf
- Abbildung 16a: Gefäßverhalten Arteriole Gesamtkohorte versus Matchingkohorte (Median und Interquartilabstand)
- Abbildung 16b: Gefäßverhalten Venole Gesamtkohorte versus Matchingkohorte (Median und Interquartilabstand)

9 Tabellenverzeichnis

- Tabelle 1: Qualitätsbewertung dynamische Gefäßuntersuchung
- Tabelle 2: Basisdemographie Dialysekollektiv und Probandenkollektiv
- Tabelle 3: Eingeschlossene versus ausgeschlossene Probanden
- Tabelle 4: Gefäßparameter Gesamtkohorte
- Tabelle 5: Assoziationen Dialysekohorte
- Tabelle 6: Assoziationen gesunde Probanden
- Tabelle 7: Basisdemographie Matchingkohorte
- Tabelle 8: Gefäßparameter Matchingkohorte