Universitätsklinik Ulm
Zentrum für Chirurgie
Klinik für Allgemein- und Viszeralchirurgie
Ärztliche Direktorin: Prof. Dr. Henne-Bruns

Das Verhalten der antioxidativen Kapazität des Blutserums in Abhängigkeit von der Nierenfunktion

Dissertation zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt durch
STEFFEN GAUß
aus Sindelfingen
2009

Amtierender Dekan:	Prof. Dr. Klaus-Michael Debatin
1. Berichterstatter:	PD Dr. Jens Mayer
2. Berichterstatter:	Prof. Dr. Frieder Keller
Tag der Promotion:	25.06.2010

Meinen Eltern

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis

1 Einleitung 1

1.1 Begriffsabgrenzungen 1
1.1.1 Oxidativer Stress 1
1.1.2 Bildung freier Radikale 3
1.1.3 Antioxidantien – Schutzsystem gegen OS 7
1.1.4 Lipidperoxidation 9
1.2 Biochemische Marker 11
1.2.1 Phospholipase A2 (PLA2) 11
1.2.2 Totale reduktive Kapazität (TORC) 13
1.2.3 HNE (4-Hydroxy-Nonenal) & MDA (Malondialdehyd) 14
1.2.4 TBARS (Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen) 16
1.2.5 Kreatinin 17
1.2.6 Hämoglobin 18
1.2.7 Kalium 18
1.3 Co-Variate 19
1.3.1 Nikotin 19
1.3.2 Alkohol 19
1.4 Zielsetzung 19

2 Material und Methoden 21

2.1 Patienten 21
2.2 Messung der freien, totalen Reduktions-Kapazität (TORC) 22
2.3 Nachweis von Malondialdehyd (MDA) / Thiobarbiturat-reaktive Substanzen (TBARs) 22
2.4 Nachweis der Phospholipase A2 (PLA2) 23
2.5 Bestimmung der HNE-modifizierten Proteine (HNE-mod. Prot.) 24

3 Ergebnisse 25

3.1 Kreatinin 25
3.2 Hämoglobin 27

3.3 Kalium ... 29
3.4 TORC ... 32
3.5 Alkohol ... 34
3.6 Nikotin ... 36

4 Diskussion ... 38

4.1 Ergebnisse ... 38
4.1.1 Kreatinin ... 38
4.1.2 Hämoglobin ... 40
4.1.3 Störgrößen ... 41
4.2 Co-Variate ... 42
4.2.1 Alkohol ... 42
4.2.2 Nikotin ... 43
4.3 Schlussfolgerungen ... 45

5 Zusammenfassung ... 46

Literaturverzeichnis ... 48

Abbildungsverzeichnis ... 58

Lebenslauf ... 60

Danksagungen ... 62

Abkürzungsverzeichnis

AA	Arachidonsäure (5-,8-,12-,15-Eicosantetraensäure)
Abb.	Abbildung
AO	Antioxidanz(ien)
ATPC	Arachidonyl-Thio-Phosphatidylcholin, Phosphatidylcholin-Derivat
Crea	Kreatinin
CPM	Fluoreszenzfarbstoff
CRP	C-reaktives Protein
CO	Cyclooxygenase
Cu^{2+}	zweiwertiges Kupfer-Ion
DAG	Diacylglycerol
DNS	Desoxyribonucleinsäure, genetisches Erbgut
ELISA	Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay
ETGA	EnzyChrom^{TM} Triglyceride Assay Kit
Fe^{2+}/ Fe^{3+}	zwei- / dreiwertiges Eisen-Ion
fR	freie Radikale
Hb	Hämoglobin
HEPES	4-(2-hydroxyethyl)-1-Piperazinethanesulfonidsäure, Puffer
HNE	4-Hydroxy-Nonenal
IP_3	Inositoltriphosphat
K+	Kalium-Ion
KHK	Koronare Herzkrankheit
l	Liter
LO	Lipooxygenase
LT	Leukotrien
M_1G	Pyrimido-[1,2]purin-10[3H]-on
MDA	Malondialdehyd
ml	Milliliter
NF	Nierenfunktion
NFS	Nierenfunktionsstufe
Ng	Nanogramm
nm	Nanometer (Wellenlänge des Lichts)
OS	oxidativer Stress

PAF	platelet activating factor
PAF-HL	platelet-activating factor Acethydrolase
PG	Prostaglandin
PUFAs	Polyunsaturated Fatty Acids
PLA_2	Phospholipase A2
RNS	Ribonucleinsäure
ROS	reactive oxygen species
SW	Signifikanzwert
TBARS	Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen
TBA	Thiobarbital
TORC	freie, totale Reduktiv-Kapazität
Vit. C	Vitamin C, Ascorbinsäure
Vit. E	Vitamin E, Alphatocopherol
µM	Mikromol

1 Einleitung

Oxidativer Stress wurde beschrieben als eine Dysbalance zwischen Pro-Oxidantien und Antioxidantien [23; 52]. Der Stress ist die schädliche Einwirkung (oxidativer Stress) oxidierender Substanzen (sog. Pro-Oxidantien, so genannte radikalische Sauerstoffspezies (=ROS)) auf biologische Gewebe, in unserem Fall den menschlichen Körper (DNS, Proteine, Lipide, Kohlenhydrate) [71].

Untersuchungen über Wechselwirkungen von Sauerstoffradikalen und deren Gegenspielern, den Antioxidantien, zeigen, dass im Organismus ein Schutz gegen oxidative Einflüsse vorhanden ist [66].
Eine Supplementierung mit Antioxidantien verringert den oxidativen Stress in Ruhe und bei Belastung. Durch nutritive Aufnahme von Antioxidantien kann zum Beispiel der oxidative Schutz des Organismus verbessert werden und eine schnellere Regeneration von Gewebeschäden, die durch Sauerstoffradikale entstehen, erreicht werden [70].
Eines der menschlichen Organe, die Niere, stellt die Filtrationsanlage des Körpers für wasserlösliche, harnpflichtige Stoffe dar, und ist weiter Stellgröße für die Zusammensetzung und Qualität des Blutes.
Die Einflussgröße aller Organe, aber speziell der Niere auf das Vorhandensein von Antioxidantien ist essentiell. Sie sind beteiligt an Verbrauch und Bereitstellung antioxidativer Substanzen. Auch die in unserer Studie untersuchte Nierenfunktion nimmt Einfluss auf die antioxidative Kapazität des Blutserums. Eine Objektivierung wird möglich durch Betrachtung verschiedene Marker, die stellvertretend für oxidative Prozesse im Organismus sind.

1.1 Begriffsabgrenzungen

1.1.1 Oxidativer Stress

Oxidativer Stress bezeichnet eine Verschiebung des Gleichgewichts zwischen oxidativen Prozessen und antioxidativen Schutzmechanismen zugunsten der

oxidativen, also eine schädliche Einflussnahme von oxidativen Stoffen auf biologische Moleküle bis hin zur Beeinträchtigung ganzer Gewebe.
Erhöhter oxidativer Stress gilt als ein kausaler Faktor für viele Krankheiten, so zum Beispiel Herz-Kreislauf-Erkrankungen (KHK, Arteriosklerose) [71], Erkrankungen der Atemwege [49] oder anderer Organe [75], sowie diverse neurodegenerative Erkrankungen (Morbus Parkinson und Morbus Alzheimer) [55] und die Alterung von Geweben.

Solcher Stress wird einerseits durch nicht beeinflussbare Größen hervorgerufen, beispielsweise durch Einflüsse von Umweltverschmutzung (Abgase, Ozon und Giftstoffe in Luft und Wasser), Kontakt mit krebserregenden oder infektiösen Substanzen (Asbest,…), körperlicher und psychischer Stress [15] (posttraumatisch,…) oder der allgemeinen radioaktiven Hintergrundstrahlung. Andererseits sind aber hauptsächlich veränderbare Parameter, meist sog. Lifestyle-Parameter dafür verantwortlich: Rauchen [75], übermäßiger Konsum von Alkohol, exzessives Sonnenbaden, die Nutzung von hormonellen Verhütungsmitteln oder Medikamentenkonsum im Allgemeinen. Auch das Zusammenspiel der einzelnen Faktoren untereinander trägt dazu bei.
Diese Einflüsse führen zu einer gesteigerten Genese von freien Sauerstoffradikalen, welche den oxidativen Stress auslösen [53].
Genauer gesagt entstehen dabei reaktive Sauerstoffspezies (reactive oxygen species = ROS), oft auch verallgemeinert als Sauerstoffradikale bezeichnet, welche durch die Auslösung einer Kettenreaktion biologische Gewebe in oxidativen Stress versetzen können. Ausgehend von der Einwirkung des freien Radikals auf ein weiteres Molekül wird dieses durch die radikalische Anbindung so verändert, dass es fortan „austauschsweise“ radikalischen Charakter besitzt. Es kommt zu einer Kettenreaktion, die viele hundert Reaktionsschritte von einem Molekül zum nächsten durchläuft, bevor sie endet. Die einzelnen Schritte führen zu irreversiblen Veränderungen nahezu aller Zellbestandteile: an Erbgut (Basenhydroxylation, „nicking“ am Kohlenhydrat-Phosphat-Rückgrad, „cross-linkage“ zwischen Strängen, DNA-Strangbruch), von intra- und extrezellulären Proteinen (Oxidation der Sulfhydrylgruppe), bei Kohlenhydraten (Polysaccharidepolymerisation) und Lipiden (Lipoperoxidation).

Drastisch verstärkt werden kann dieser Vorgang zum Beispiel bei übermäßiger körperlichen Belastung [30]: Aufgrund des erhöhten Sauerstoffumsatzes im Gewebe kommt es vermehrt zu einer damit korrelierenden verbundenen Produktion freier Sauerstoffradikale. Weitestgehend lässt sich die Korrelation beider Prozesse auf eine physiologisch stattfindende, unter Belastung jedoch drastisch ansteigende mitochondriale Dysfunktion zurückführen [60].
Hält ein solcher Zustand über längere Zeit an, oder besteht ein Mangel an antioxidativen Stoffen, so kommt es zur Imbalance zwischen vermehrt auftretenden Radikalen und den verminderten antioxidativ-antiradikalischen Schutzmaßnahmen [7].

1.1.2 Bildung freier Radikale

Freie Radikale wurden 1950 durch Denham Harman, dem Begründer der Alterungstheorie aufgrund radikalischer Einflüsse, in Nebraska beschrieben. Sie wurden als „Atome oder Molekül mit einem oder mehreren ungepaarten Elektronen in der äußeren Hülle“ beschrieben, einer offenen Konfiguration der äußeren Valenzelektronenschale. Dieses zusätzliche Elektron verleiht dem Molekül eine im Verhältnis zum energetischen Grundzustand deutlich höhere Reaktivität und dadurch ein Potential für Kettenreaktionen in denen beinahe alle Biomoleküle verändert und in ihrer Funktionalität beeinträchtigt werden können [31]. Jedoch strebt das entstandene Radikal wieder in sein energetisches Ausgangsniveau zurück und verhält sich sehr instabil - es versucht ein Elektron mit entgegengesetztem Spin [4] zu erreichen. Das geschieht mit oder ohne Anwesenheit geeigneten Substrats.

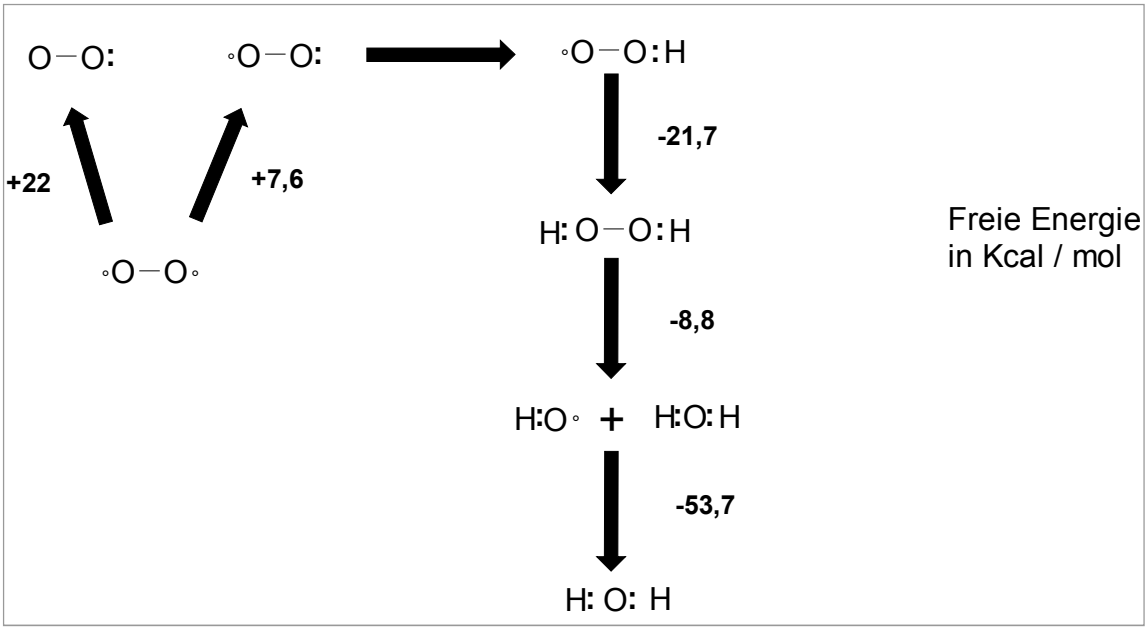

Abbildung 1: Radikalische Energiedifferenz der Sauerstoff-Wasserstoffverbindungen in Kilokalorie/Mol

O: Sauerstoff
H: Wasserstoff

Einerseits gehören hierzu die reaktiven Sauerstoffspezies, die „ROS“ [54]: Das mäßig reaktive Superoxid-Radikal O_2^-, der Singulett-Sauerstoff 1 O_2^-, sowie das hochreaktive Hydroxyl-Radikal OH^-.
Andererseits zählen die nicht radikalischen Sauerstoffderivate Wasserstoffperoxid H_2O_2, Ozon O_3 und hypochlorige Säure HOCl ebenso zu dieser Molekülgruppe [24].

In der Atmungskette wird Sauerstoff dabei zu Wasser reduziert:

$$O_2 + 4\ H+ + 4\ e^- \rightarrow 2\ H_2O \qquad [Rkt.\ 1]$$

Die Reduktion mit einem einfachen Elektronentransfer liefert hierbei das Superoxid-Radikal (siehe [Rkt. 2]), welches durch erneute einfache Reduktion zu Wasserstoffperoxid umgewandelt wird (siehe [Rkt. 3]).

$$O_2 + 1\ e^- \rightarrow O_2^{\bullet -} \qquad [Rkt.\ 2]$$

$$O_2^{\bullet -} + 2\ H+ + 1\ e- \rightarrow H_2O_2 \qquad [Rkt.\ 3]$$

Das Hydroxyl-Radikal bildet sich entweder unter Beteiligung von katalytisch wirksamen Eisen- oder Kupferionen aus Wasserstoffperoxid in der Fenton-Reaktion (siehe [Rkt. 4]), oder direkt aus dem Superoxid-Radikal durch die Haber-Weiß-Reaktion (siehe [Rkt. 5])

$$Me\ (III) + O_2^{\bullet -} \quad \leftrightarrow \quad Me\ (II) + O_2$$

$$Me\ (II) + H_2O_2 \quad \rightarrow \quad Me\ (III) + {}^{\bullet}OH + OH- \qquad [Rkt.\ 4]$$

$$O_2^{\bullet -} + H_2O_2 \quad \rightarrow \quad O_2 + {}^{\bullet}OH + OH^- \qquad [Rkt.\ 5]$$

Die Haber-Weiß-Reaktion gilt als Summe der $O_2^{\bullet -}$-vermittelten Me (III) -Reduktion und der Fenton-Gleichung; Bildung von Hydroxyl-Radikalen im Ergebnis der Fenton- bzw. der Haber-Weiß-Reaktion

ROS werden unter physiologischen Bedingungen während des normalen Zellstoffwechsels erzeugt [22; 24]. Die Bildung findet hierbei in einigen Stoffwechselprozessen zwangsläufig statt: Dazu gehören der Prozess der mitochondrialen Atmungskette (ca. 3% der verstoffwechselten O_2-Moleküle werden zu O_2^- umgesetzt [6; 31; 69], davon gelangen 2-4% ins Zytosol), sowie diverse Detoxifikationsprozesse über das Zytochrom P 450-System der Mitochondrien, der Abbau von Purinen mittels Xanthinoxidase [25; 44] und die Arachidonsäurekaskade, in der die Enzyme Cyclooxygenase und Lipooxygenase eine zentrale Rolle spielen.
Auch im Anschluss von Phagozytose von Leukozyten, insbesondere von neutrophilen Granulozyten [55] und Makrophagen, werden Radikale gebildet [45].

Radikalische Reaktionen laufen wie Kettenreaktionen (Domino-Effekt) über mehr als hundert Kettengliedern ab, bis es zur Beendigung der Reaktion unter Bildung von Di- bzw. Polymeren über Sauerstoffbrückenbildung kommt.

1. Ketteninitiation $L\text{-}H + Radikal^{\bullet} \rightarrow Radikal\text{-}H + L^{\bullet}$

2. Kettenpropaganda: $L^{\bullet} + O_2 \rightarrow L\text{-}O\text{-}O^{\bullet} + L\text{-}H \rightarrow L\text{-}O\text{-}O\text{-}H + L^{\bullet}$

3. Kettentermination: $L^{\bullet} + L^{\bullet} \rightarrow L\text{-}L$

‚L' steht für Ligand bzw. Substrat, welches gleichermaßen mit Sauerstoff (O) als auch mit einem Radikal Verbindungen eingehen kann. Die radikalische Verbindung wird mit einem freien Elektron $^{\bullet}$ gekennzeichnet.

Kommt es nicht zur Termination der Kette läuft sie als circulus vitiosus weiter. Es folgt die Schädigung des Erbgutes (Bruchstellen/Mutationen von DNS und RNS); Denaturation und Funktionsverlust von Proteinen und Enzymen (vor allem bei Aminosäuren mit S-Atomen wie Tryptophan, Thyrosin und Phenylalanin); Lipidperoxidation und die Veränderung von Kohlenhydraten.

Durch diese Vorgänge werden Zellbestandteile derart in Mitleidenschaft gezogen, dass dies für viele Zellen den Untergang bedeutet. Vermehrter Zelltod in einem Zellverband heißt wiederum Gewebsdegeneration, gleich zu setzten mit Qualitäts- oder Funktionsverlust und Alterung.
Besonders gravierend kann die radikalische Reaktion in Form einer tumoröse Entartung des Gewebes aufgrund oxidativer Veränderungen an DNA und RNA und den daraus resultierenden Veränderungen auftreten, wie z.B. Auslöschung von Erbgut, Verlust von biologischen Informationen oder der genetischen Regulation (Aktivierung von Pro-Onkogenen, etc.) [51].

1.1.3 Antioxidantien – Schutzsystem gegen OS

Die Entwicklung von Radikalfänger-Systemen (Antioxidantien, Scavenger) ist in der Entwicklungsgeschichte eng mit der Anpassung des Lebens an neue Entwicklungsschritte in einer neuen Umweltsituation verknüpft.
Besonders zur Zeit der „Landnahme“ ging der schützende Einfluss des Mediums Wasser für das sich weiterentwickelnde Leben verloren. Belastende Umwelteinflüsse nahmen in ihrer Anzahl zu, wozu auch die schädlichen Eigenschaften des Sauerstoffs in deutlichem Maße gerechnet wurden. So war die Erhaltung des Lebens in dieser Phase der Evolution nur durch die Bereitstellung und Perfektionierung besonderer (antioxidativer) Schutzsysteme möglich.
Antioxidantien sind Stoffe zum Schutz der Zellbestandteile (Kohlenhydrate, Proteine, Lipide und Nukleinsäuren). Sie sind Reduktionsmittel, d.h. sie werden selbst von Sauerstoffradikalen oxidiert [66].
Die antioxidative Wirkung beruht teils auf kompetitiver Entlastung, da durch die Bindung der hochreagiblen ROS andere Proteine vor Oxidation geschützt werden [24].

Lewin und Popov stellten die 4 Kriterien zur Kategorisierung der antioxidativen Schutzmechanismen dar:

Compartimentation:	Geichzusetzten mit einer räumlichen Trennung von möglicherweise gefährlichen, jedoch lebenswichtigen Substanzen (Eisen usw.), sowie zelluläre und gewebsspezifische Aufteilung der Antioxidantien um unkontrollierte Prozesse zu unterbinden
Detoxification:	Enzymatische und nichtenzymatische Maßnahmen zur Entgiftung pro-oxidativer Substanzen (Radikale, Peroxide)
Repair:	Wobei Reparaturmechanismen für Zellbestandteile und des Erbgutes eingefasst sind
Utilization:	Verbrauch der beteiligten schützenden Antioxidantien

Die Einteilung erfolgt in 2 Gruppen [21; 10], wobei enzymatische Antioxidantien, wie die Superoxyddysmutase, die Glutathionperoxidase sowie die Katalase, die von den nicht-enzymatischen unterschieden werden.
Diese sind zum Beispiel Vitamin C und E [48], Harnsäure, Albumin, CRP und Flavonoide, das reduzierte Glutathion und viele weitere Naturstoffe. Darüber hinaus können bestimmte synthetische Stoffe und Medikamente antioxidativ [3] wirksam sein. Substitution wird vor allem in kurativer [58] und bei schädlicher Medikation in protektiver [40] Zielsetzung diskutiert.
Zweiwertige Übergangsmetallionen (Fe^{2+}, Cu^{2+}) tragen schon in geringen Konzentrationen zur massiven Steigerung der Wirkung von ROS bei durch die verstärkte Bildung von Hydroxylradikalen.
Transferrin und Coeruloplasmin hingegen wirken antioxidativ:
Einerseits durch ihre Ferro-Oxidase-Aktivität des Coeruloplasmin, welches Fe^{2+} zu Fe^{3+} oxidiert. Dieses kann dann andererseits an Ferritin gebunden werden [15].
Grundsätzlich bleibt noch zu erwähnen, dass eine gesunde Ernährung [8] und Ausdauersport [38; 20] in Maßen helfen, die antioxidative Kapazität von Blut und Geweben zu stärken, ohne dabei selbst oxidativen Stress zu erzeugen.

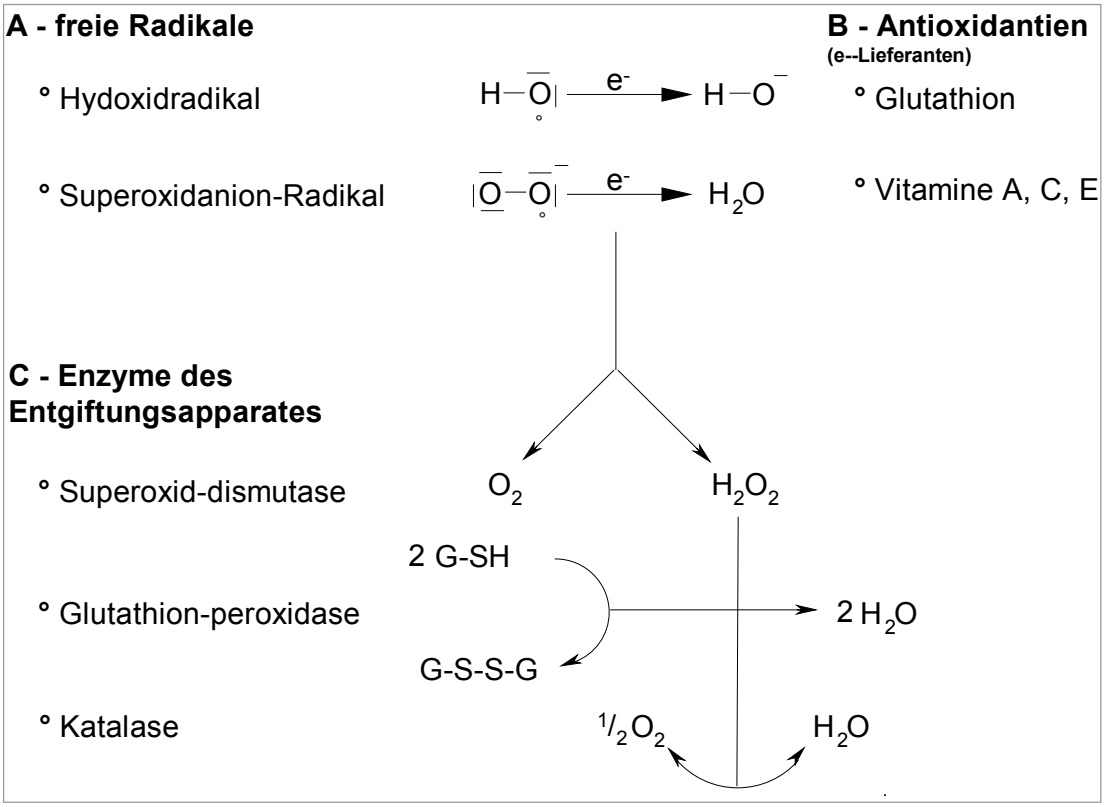

Abbildung 2: Wirkung von Radikalen auf Antioxidantient und Enzyme

O: Sauerstoff
H: Wasserstoff
G: Glutathion
S: Schwefel
e^-: Elektron

1.1.4 Lipidperoxidation

Die mögliche Bedeutung der Lipoperoxidation in der Biologie als Zerstörungsprozess von Zellmembranen war erstmals in Arbeiten von Tappel 1962 vermutet worden. Spätere Forschungen zeigten, dass die Lipoperoxidation einen grundlegenden Mechanismus für die Toxizität vieler Chemikalien darstellt. Heute ist bekannt, dass die Bildung freier Radikale in Geweben und Zellen die Reaktion der Lipidperoxidation auslöst, was maßgeblich durch die Werke von Halliwell und Slater in den neunziger Jahren belegt wurden.
Lipidperoxidation gilt per Definition als die unspezifische Oxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren (PUFAs) in den Phospholipiden der verschiedenen Membransysteme der betroffenen Zelle.

Durch die autokatalytische, radikalische Einwirkung kommt es zu einer verminderten Fluidität und gesteigerter Rigidität sowie zu einer gestörten Barrierefunktion der biologischen Membran.
Das wiederum führt zu einer unselektiv erhöhten Permeabilität für Ionen, wodurch es zu einem Abfall des Membranpotentials kommt, sowie letztlich größeren Defekten der Membran und Freisetzung intrazellulärer Bestandteile.

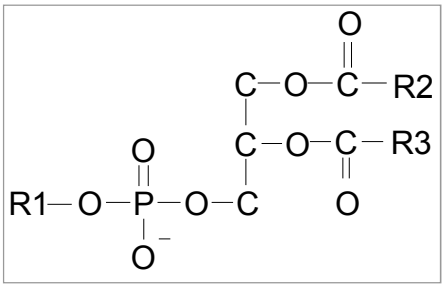

Abbildung 3: Phospholipid mit Restgruppen R1 bis R3: Phosphatgruppe, Glycerol und hydrophobe Fettsäureschwänze R2 und R3

O: Sauerstoff
C: Kohlenstoff
P: Phosphat
R: molekularer Rest beliebiger Nummerierung, hier 1 bis 3

1.2 Biochemische Marker

1.2.1 Phospholipase A2 (PLA2)

Oxidativer Stress kann sich im Organismus durch eine entzündliche Reaktion äußern: dabei spielt die PLA_2 eine zentrale Rolle in der Bereitstellung von Entzündungsmediatoren, welche bei einer solchen Reaktion unabdingbar sind.
Die PLA_2 wurde ursprünglich als Inhaltstoff des Kobragiftes erforscht und als ein 13.800 ± 500 Dalton schweres Molekül beschrieben. Ungeachtet ihrer Bedeutung in Schlangen- und Insektengift, welche unter anderem kardio- und neurotoxische Wirkung besitzen, wurden bisher 20 Isoenzyme [47] der PLA_2-Superfamilie in Säugerzellen identifiziert:
Die Phospholipasen stellen eine sehr große und vielfältige Enzymgruppe dar. Angefangen bei Synthese und Erneuerung von Membranen bis hin zur Bildung wichtiger Signalmoleküle haben sie viele biologische Funktionen, die allesamt auf der hydrolytischen Spaltung von Glyzerophospholipiden beruhen.
Diese wird hinsichtlich der proteolytischen Position im Substrat – den Phospholipiden – in 4 Klassen eingeteilt:

Phospholipase A_1 bzw. A_2: Sie sind Karbonsäureesterasen, ihr Ansatzpunkt sind die C-1 bzw. C-2 Position → Sie setzen die jeweilige Fettsäure aus dem intakten Glyzerophospholipid frei.

Phospholipase B: Diese Gruppe kann sowohl an Position C-1 als auch an Position C-2 die Fettsäure auslösen.

Phospholipase C: Eine Phosphodiesterase, sie spaltet zwischen der Glycerin- und der Phosphatgruppe (C-3 Position) und setzt aus Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphat Inositoltriphosphat (IP3) und Diacylglycerin (DAG) frei, zwei für die zellulär Signaltransduktion sehr wichtige second messenger.

Phospholipase D: Ebenfalls eine Phosphodiesterase mit enzymatischer Spaltstelle an der C-3 Postition. Durch die Aktivität werden Phosphatidsäure und eine freie alkoholische Kopfgruppe aus dem Glycerophosphat freigesetzt.

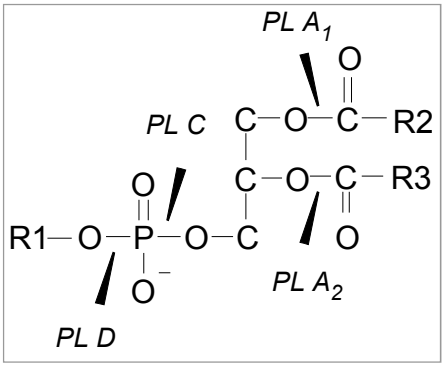

Abbildung 4: Phospholipid mit zugehörigen Spaltorten der verschiedenen Phospholipasen

O:	Sauerstoff
C:	Kohlenstoff
P:	Phosphat
R:	molekularer Rest beliebiger Nummerierung, hier 1 bis 3
PL A_1:	Phospholipase A1
PL A_2:	Phospholipase A2
PL C:	Phospholipase C
PL D:	Phospholipase D

Die Phospholipasen A2 bilden aufgrund der isoformen Unterschiede eine Superfamilie. Sie steuert die zelluläre Lipidhomoeostase. Durch ihre enzymatische Aktivität werden freie Fettsäuren und Lysophospholipiden aus Doppelschicht-Membranen, Mizellen und Lipoproteinpartikeln hydrolysiert; außerdem wird bei pathologischen Prozessen durch sie auch Arachidonsäure (AA) freigesetzt, welche selbst Substrat für die Herstellung bioaktiver Substanzen ist: Lipooxygenasen (LO), Cyclooxygenasen (CO) sowie die Cytrochrom $P\text{-}_{450}$-Epoxygenase stellen aus der AA Leukotriene (LT) und Prostaglandine (PG) her, welche vorwiegend als Entzündungsmediatoren wirken [65].
Weiter werden noch Lysophospholipide freigesetzt, welche ebenfalls als Vorläufermolekül bereitstehen. Aus ihnen wird ein Gerinnungsmediator hergestellt, der auf die Funktion der Blutplättchen einwirkt - platelet activating factor (PAF).
Ein Nebenprodukt der Freisetzung von AA aus Phospholipiden ist die Bildung freier Radikale. Ihre toxische Wirkung dient an vielen Stellen des Körpers primär der Abwehr von Fremdsubstanzen, so zum Beispiel bei Mastzellen und Makrophagen im Kampf gegen Bakterien. Im Übermaß jedoch wirken sich auch hier die Radikale in Form von oxidativem Stress aus.

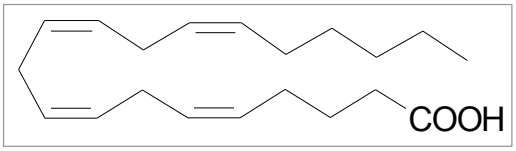

Abbildung 5: Arachidonsäure (C20H32O2); 304,48 g/mol

O: Sauerstoff
C: Kohlenstoff
H: Wasserstoff

Funktionell lässt sich dies in 2 Kategorien einteilen:

1) Lipolytische Funktion in Verdauungssäften des Pankreas, Tiergiften oder Bakteriziden und der Lipolyse an Zellmembranen
2) Erzeugung der oben angeführten Signalmoleküle aus der AA, welche in dieser Untersuchung als Meßkriterium verwendet wird

In der Superfamilie unterscheidet hinsichtlich der biochemischen Eigenschaften in 4 Untergruppen: der sekretorische PLA_2 (s- PLA_2), der zytosolische PLA_2 (c- PLA_2), der Ca^{2+}-unabhängige PLA_2 (i- PLA_2), sowie der platelet-activating factor Acethydrolase (PAF-HL). Die PAF-HL nimmt jedoch eine Außenseiterstellung ein, da sie nicht Phospholipiden, sondern ausschließlich PAF und oxidierte Phospholipide als Substrat dienen.

Die s- PLA_2 (in dieser Untersuchung gemessen) wird in intrazellulären Vesikeln gespeichert, oder durch Stimulation der Zelle exprimiert und anschließend exozytiert / sekretiert während die i- PLA_2 und die c- PLA_2 ausschließlich im Zytosol vorkommen. Die inaktive c- PLA_2 befindet sich im Zellplasma und wandert nach Aktivierung zu den verschiedenen Membrankompartimenten.
Die i- PLA_2 liegt ebenfalls inaktiv, jedoch sowohl zytosolisch als auch als Teil verschiedener Membranen vor.

1.2.2 Totale reduktive Kapazität (TORC)

Die totale reduktive Kapazität des Blutes stellt die verbleibende antioxidative Kapazität des Serums dar [43]. Es setzt sich aus der Summe aller noch im Blut verbliebenen Stoffe zusammen, die antioxidative Wirkungen haben.

Das sind einerseits humorale Bestandteile, wie zum Beispiel Vitamin C und E, Harnsäure. Andererseits gibt es geeignete Enzymsysteme, diese werden in dieser Arbeit in Punkt 2.3 erklärt.
Mit der Bestimmung von TORC wird die verbleibende Fähigkeit des Blutserums, die ROS-Bildung bzw. den Einfluss gegen reaktive Sauerstoffspezies (ROS) in einem in-vitro-System zu hemmen. Die Messung ist ein Screening-Verfahren, welches die Summe der Einzelaktivitäten (Detoxifikation, etc) aller in diesem biologischen Milieu vorliegenden Antioxidantien widerspiegelt.
Klinische Anwendungsmöglichkeiten findet TORC als alternative traumatologische Einteilung polytraumatischer Patienten hinsichtlich der Überlebenswahrscheinlichkeit [43]. Hier wird das Niveau von TORC im Blut als Prognosemarker für Überleben oder tödlichen Verlauf beschrieben, welcher unabhängig von üblichen Schweregradeinteilungen gemessen werden kann.

1.2.3 HNE (4-Hydroxy-Nonenal) & MDA (Malondialdehyd)

Kommt es zur Interaktion reaktiver Sauerstoffspezies mit den Fettsäuren, entstehen Lipidperoxide, Hydroperoxide und zyklische Peroxide. Sie sind instabile Verbindungen, welche nach kurzer Zeit in ihre Unterprodukte zerfallen.
Bei der Oxidation sind verschiedene, mehrfach ungesättigte Fettsäuren (sog. PUFAs) betroffen, zum Beispiel die Linol-Säure [18:2], die Linolen-Säure [18:3], und die Arachidonsäure [AA, 20:4] aus der sich die Unterprodukte. 4-Hydroxy-Nonenal (HNE) und Malondialdehyd (MDA) durch Zerfall ergeben.

HNE ist eines der Hauptprodukte bei der Lipoperoxidation mehrfach ungesättigter Fettsäuren, wie Linolen- und Arachidonsäure. HNE reagiert schnell mit Thiol- und Aminogruppen bei physiologischen pH-Werten [63], was es wohl zu einer der gefährlichsten Substanzen im Zuge der Lipoperoxidation macht.
Zytotoxische, hepatotoxische und mutagene Eigenschaften werden diskutiert.

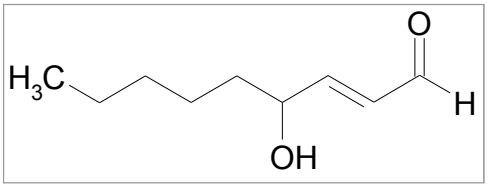

Abbildung 6: 4-hydroxy-2-trans-Nonenal ($C_9H_{16}O_2$)

O: Sauerstoff
C: Kohlenstoff
H: Wasserstoff

Ein weiteres sekundäres Lipoperoxidationsprodukt ist MDA. Es dient in der Biodoppelmembran als Quervernetzungsagens von Lipiden und Proteinen wirksames Molekül. Es hat eine hohe Affinität zu primären Aminogruppen von Proteinen und Phospholipiden.
Es kann mit DNA reagieren und zu fehlerhaften Transkriptionen und damit zu veränderten Genprodukten führen oder die Funktion intrazellulärer Proteine stören. Hier entfaltet MDA seine zytotoxische Wirkung.

Physiologischerweise wird MDA in der Arachidonsäure-Kaskade gebildet:
AA wird enzymatisch durch die Cyclooxygenase zu PG-G_2 katalysiert.
Durch das Enzym Prostaglandinhydroperoxidase wird PG- G_2 zu PG-H_2, welches durch enzymatische Konversion zu TX-A_2 (Thromboxansynthase) zu MDA und HHT (hydroxy-5,8,10-heptadecatrienoinsäure) umgebaut wird.
Bei der enzymatischen Entstehung wird MDA äquimolar mit HHT und TX-A_2 gebildet. Ausgangsmolekül können außer PG-H_2 auch noch PG-H_1 und PG- G_2 sein. Bei oxidativem Stress, also der Einwirkung freier Radikale auf PUFAs, entsteht MDA aus Lipiden als Ergebnis der Degeneration von Ölen, Fetten und lipidhaltigen Biomolekülen (Membranen und Lipoproteinen).

Es spiegelt etwa 1% der Lipoperoxidation in vivo und in vitro [56] wider. Unter physiologischen Bedingungen MDA eine mäßig reaktive Substanz und sowohl als Säure als auch als Base reagibel.

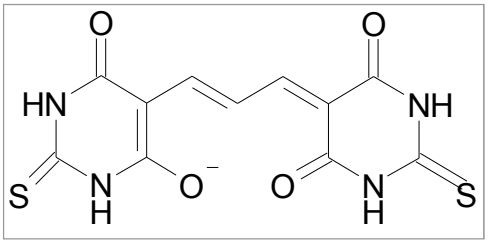

Abbildung 7: Malondialdehyd ($C_{12}H_9N_4O_4$)

O: Sauerstoff
S: Schwefel
H: Wasserstoff
N: Stickstoff

1.2.4 TBARS (Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen)

TBARS ist eine der Techniken zur Bestimmung von MDA im Blutserum als Quantifizierung des Oxidativen Stresses. Das anwesende MDA wird dabei in einer chemischen Reaktion mit TBA (=Thiobarbital) „verbraucht“, es verbinden sich 2 Moleküle TBA mit einem MDA-Molekül unter Einfluss von Hitze und saurem Milieu.
Das entstandene Reaktionsprodukt (MDA-TBA-Molekül) lässt sich anhand seines roten Fluoreszenzlichtes bei 553 nm bzw. anhand seiner Absorption bei 532 nm detektieren [21].
Im Jahr 1958 wurde erstmals in Versuchen mit Fischöl gemessen, dass 98% des mit dem TBA reagierenden MDAs nicht ursprünglich Teil des Fischöls waren, sondern nachträglich durch Lipoperoxidation entstanden. Zurückzuführen war das auf die Erhitzung der Säurephase des TBA-Ansatzes [78].

Der allgemein bekannte Mangel an Selektivität dieser Messung beruht auf der Tatsache, dass sich noch weitere Verbindungen außer MDA durch chemische Reaktion mit TBA Produkte bilden, die dann ebenso bei derselben Wellenlänge absorbieren, wie MDA. Dadurch entstand der Name TBARS, gleichbedeutend mit Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen.

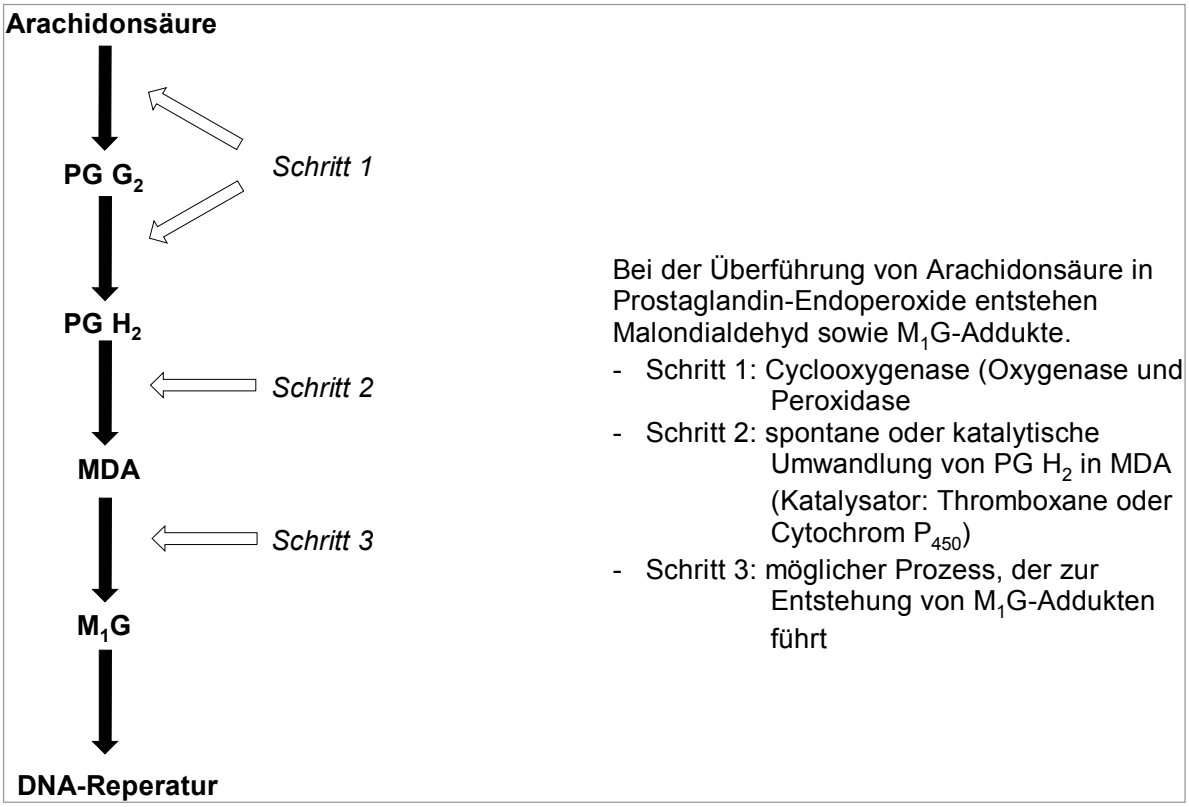

Abbildung 8: Abbauweg der Arachidonsäure, Entstehung von Malondialdehyd (MDA)

PG G_2:	Prostaglandin G2
PG H_2:	Prostaglandin H2
MDA:	Malondialdehyd
M_1G:	pyrimido-[1,2\]purin-10[3H]-on

1.2.5 Kreatinin

Kreatinin ist ein harnpflichtiger Stoff, welchen die Niere im Urin ausscheidet.

Da das Kreatinin vom Tubulussystem der Niere nicht resorbiert und nur in sehr geringem Maße sezerniert wird, wird es als Marker für die Nierenfunktion herangezogen.

Um das Patientenkollektiv zu unterteilen, wurde Kreatinin als verlässlicher Faktor gemessen. Über die Kreatininwerte wurden Gruppen definiert, den Nierenfunktionsstufen (siehe Material und Methoden).

1.2.6 Hämoglobin

Hämoglobin (Hb), der rote Blutfarbstoff. korreliert mit der inkretorischen Aktivität der Niere. Die Niere produziert Erythropoetin (EPO), einen humoralen Faktor, der die Bildung roter Blutzellen im Knochenmark stimuliert (Erythropoese).
Das Hämoglobin eignet sich nur eingeschränkt (parallel zu Kreatinin) als Maßstab zur Gruppeneinteilung, weil Dialysepatienten mit verringerter inkretorischer Nierenaktivität Erythropoetin bis zu einem Ziel-Hb von 10-11 mg/dl erhalten. Darunter verändern sich die Hb-Werte in den Gruppen ungleichermaßen, d.h. lediglich bei terminaler Niereninsuffizienz (Nierenfunktionsstufe V) wird eine medikamentöse Anhebung des Hämoglobinwertes vollzogen.
Trotz des Ungleichgewichts des relativen Hb-Wertes unter dem Einfluss von EPO soll in Relation des Markers Hämoglobin die Veränderungen der antioxidativen Kapazität in den Gruppen untersucht werden.

1.2.7 Kalium

Es ist sehr wichtig, da es starken Einfluss auf Funktion speziell von Herz- und Skelettmuskulatur hat. Je nach (Rest-)Funktion des Ausscheidungsapparats, dem tubulären System, wird seitens der Nieren der Kaliumgehalt im Normbereich gehalten. Ist deren Funktion vermindert, kann es zur Hyperkaliämie kommen.
Bezogen auf die durchgeführte Messung dient das Kalium als weiterer Maßstab zur Einteilung beim Vergleich der unterschiedlichen Nierenfunktionsstufen.
Leider ist auch hier die Aussagekraft des Kaliums beeinflussbar und daher nicht absolut: die Veränderung des Kaliumwertes kann ebenfalls durch äußere Faktoren (z.B. vermehrte Aufnahme durch Nahrung oder Medikamente, vermehrte medikamentöse Ausscheidung, besonders bei zunehmend nierenkranken Patienten bzw. Dialyse bei Niereninsuffizienten) begründbar sein.

1.3 Co-Variate

1.3.1 Nikotin

Nikotin soll als Co-Variate als mögliche Einflussgröße auf oxidativen Stress untersucht werden. Es ist aus anderen Versuchen als ein Faktor mit Einfluss auf oxidativen Stress bekannt: Bildung von ROS und Aktivierung von Transkriptionsfaktoren wurden in verschiedenen Studien nachgewiesen [5; 42]. Außerdem wurden degenerative Erkrankungen wie Parodontose [34] als Ergebnis des durch Nikotin erhöhten oxidativen Stresses signifikant häufiger nachgewiesen. Gemessen wurden in dieser Untersuchung die Marker MDA und TORC, um den oxidativen Stress zu verifizieren [72].

1.3.2 Alkohol

Alkohol ist wie Nikotin eine Co-Variate dieser Untersuchung. Auch bei Alkohol wurden schon in anderen Versuchen der positive Einfluss auf die Entstehung oxidativen Stresses im gesunde Probanden [1], aber auch als protektiver Faktor gegenüber anderen Einflussgrößen, wie zum Beispiel bei neurodegerativen Substanzen [57], nachgewiesen. Welches die Rolle des Alkohols in der gegenwärtigen Studie ist soll wie folgend untersucht werden.

1.4 Zielsetzung

In der vorliegenden Studie möchten wir folgenden Hypothesen prüfen:

1) Es besteht ein negativer Zusammenhang zwischen der oxidativen Kapazität des Blutes und der Nierenfunktionsstufe (NFS I-IV)
2) Die oxydative Kapazität des Blutes ist bei Dialysepatienten (NFS V) signifikant niederer als bei Nierenfunktionsstufe IV

Um den Einfluss der Nierenfunktion zu beurteilen wird das Patientenkollektiv in Gruppen eingeteilt. Die Funktionalität des Organs „Niere“ wird in Funktionsstufen I – IV und der Stufe V für Nierenersatztherapie eingeteilt, die sich am routinemäßig gemessenen Kreatinin im Serum orientieren.
Das Kollektiv setzt sich aus 379 Patienten zusammen(s. Material und Methoden / Patienten).
Untersucht wurden die Parameter zur Beurteilung der Nierenfunktion (Crea, K^+, Hb), Parameter des oxidativen Status (TORC, TBARS und MDA, HNE und PLA_2)
Des Weiteren wurden Nikotin- und Alkoholkonsum als Co-Variate bestimmt.

2 Material und Methoden

2.1 Patienten

Das Patientenkollektiv setzt sich aus 379 Patienten im Alter zwischen 17 und 95 Jahren zusammen. Den Patienten wurde im Rahmen der Studie „Insulin-like growth factor system components in hyperparathyreoidism and renal osteodystrophia“ im Zeitraum 2000 -2002 Blutproben im Uniklinikum Ulm entnommen. Die Proben aus venösem Blut wurden neben dem ursprünglichen Studienprotokoll (Jehle et al. 2000) zusätzlich auf die oben genannten Parameter hin untersucht. Die Entnahme der Blutproben wurde routinemäßig im nüchternen Zustand unter Verwendung von Lithium-Heparin-Monovetten durchgeführt.
Die Gruppierung der Patienten erfolgte über eine Einteilung durch die im Blut gemessene Kreatininkonzentration. Eine geschlechtspezifische Unterscheidung wurde in keiner der Gruppen vollzogen. Es ergaben sich vier Gruppen ohne bzw. mit Nierenfunktionseinschränkung (NFS I-IV) sowie eine Gruppe mit terminaler Niereninsuffizienz (NFS V):

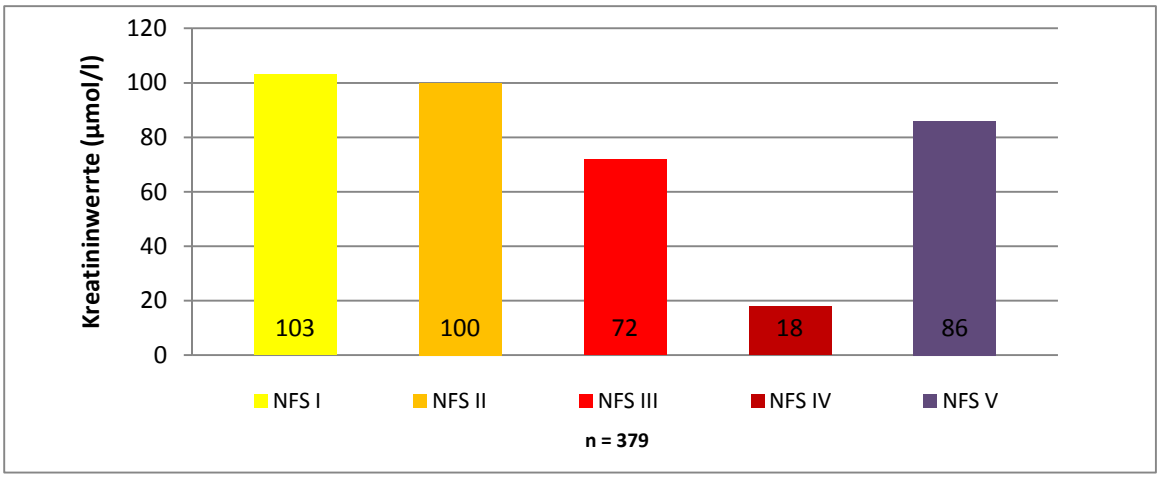

Abbildung 9: Patienteneinteilung in Gruppen nach Nierenfunktionsstufen, gemessen an Kreatinin

µmol/l:	Mikromol pro Liter	
NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
n:		Patientenanzahl

2.2 Messung der freien, totalen Reduktions-Kapazität (TORC)

Prinzip: Der Assay basiert auf dem Phosphatidylcholin-Derivat (Arachidonyl-Thio-Phosphatidylcholin = ATPC), einer langkettigen, mehrfach ungesättigten Fettsäure, welche an einer bestimmten Position des Moleküls mit einer reaktiven SH-Gruppe markiert ist. Dieses Substrat wird dem Assay-Puffer (HEPES mit pH = 7,4) zu titriert und in Dunkelheit bei Raumtemperatur 60 Minuten inkubiert. Anschließend werden Kalibrationsreihen absteigender Konzentration (160 – 5 ng/ml) mit Serumproben des Patientenkollektivs und Standard (Bienengift-PLA_2) gefertigt und neuerlich für 60 Minuten inkubiert.
Die SH-Gruppe des Substrates dient der Phospholipase als Substrat für die Umsetzung mit freien reduktiven Stoffen in der zu untersuchenden Probe.
Bei der Reaktion mit den Agentien wird die erwähnte Thiol-Gruppe aus dem Molekül durch die PLA_2 abgespalten und verbindet sich ihrerseits bei Zugabe eines spezifischen Fluoreszenzfarbstoffes (CPM) nach kurzer Inkubation mit diesem zu einem fluoreszierenden Addukt.
Das Substrat für sich allein verfügt über keine Fluoreszenzeigenschaft, allein als Addukte. Daher kann man die gemessene Fluoreszenz zum quantitativen Nachweis nutzen, da die Intensität der Fluoreszenz der Konzentration in einem bestimmten (bemessenen) Bereich proportional ist. Dabei ist die Fluoreszenz proportional zu TORC.
Gemessen wird die Fluoreszenz bei Exzitation bei 390 nm und Emission bei 460 nm. Aus den gemessenen Werten ergibt sich eine Kalibrationsgerade (ng/ml). Der Normwert von TORC liegt bei über 100 ng/ml, Werte darunter gelten als pathologisch.

2.3 Nachweis von Malondialdehyd (MDA) / Thiobarbiturat-reaktive Substanzen (TBARs)

Wenn ROS mit Membranlipiden reagieren ist MDA ein unspezifischer Indikator für den entstandenen Schaden. Durch seine Anwesenheit lässt sich zwar nicht die Lokalisation dieser Schädigung feststellen, man kann jedoch auf Dauer und Intensität rückschließen.

Prinzip: Der Thiobarbiturat-Test (TBA) basiert auf der Komplexbildung zweier Moleküle TBA mit einem Molekül MDA unter dem Einfluss von Hitze im sauren Milieu [22].
Unter der Einwirkung von Säure bei Raumtemperatur (hier $^1/_6$ N H_2SO_4 und 10%-ige Wolframatophosphorsäure für 5 Minuten) werden die Lipide durch Serumproteine präzipitiert, wodurch andere TBA-reaktive Substanzen nicht lipoperoxidischer Herkunft aus der Probe nach Zentrifugation (10 Minuten bei 1250 g und 18°C) ausgezogen werden können.
Um die Komplexbildung anzuregen wird das Probenmaterial zusammen mit TBA erhitzt (95°C im Ölbad für 30 Minuten), anschließend wird die Reaktion durch abkühlen gestoppt. Die Komplexbildung mit TBA ist für MDA nicht spezifisch, die entstandenen roten TBA-MDA-Komplexe werden mittels Butanol extrahiert.
Mit Hilfe eines Fluostar-Spektrophotometers (Exzitation bei 515 nm; Emission bei 590 nm) werden die Absorption bei einer Wellenlänge von 532 nm und die Fluoreszenz des TBA-MDA-Komplexes bei 553 nm gemessen.
Aus den Ergebnissen ergibt sich eine Eichgerade, aus der sich die Konzentration in μM ermitteln lässt.

2.4 Nachweis der Phospholipase A2 (PLA2)

Die Phospholipase A2 wird im gleichen Versuchsaufbau wie MDA und TORC gemessen.
In dieser Versuchsreihe wird lediglich anstelle von Substrat ETGA-Puffer ein titriert. Der restliche Versuchsaufbau entspricht dem vorigen.
Die Werte für die PLA_2 ergeben sich ebenfalls über die gemessene Eichgerade in ng/ml. Die PLA_2-Konzentration in der Probe ergibt sich durch Subtraktion der TORC -Werte von den Kalzium-Werten des verwendeten Puffers.

2.5 Bestimmung der HNE-modifizierten Proteine (HNE-mod. Prot.)

Reagieren mehrfach ungesättigte Fettsäuren (PUFAs = polyunsaturated fatty acids) der Zellmembran mit Sauerstoffradikalen, dann entsteht 4-Hydroxy-Nonenal (HNE) [59]. HNE reagiert seinerseits mit den vorhandenen Proteinen der Zellmembran, diffundiert in die wässrige Phase des Zytosols und geht dort neuerlich Verbindungen mit Proteinen ein.

Zum Nachweis solch veränderter Proteine eignet sich vorzugsweise ein indirekter ELISA-Test:
Zum Nachweis des Antigens (HNE-modifizierte Proteine) wird dieses in einem ersten Schritt an eine Kunststoffplatte gebunden. Anschließend werden erst ein spezifischer Antikörper und dann ein zusätzlicher zweiter peroxidasekonjugierter Anti-Antikörper an das Antigen angelagert.
Der so entstandene Komplex wird mittels einer enzymatischen Reaktion angefärbt und photometrisch ausgewertet.
Das geschieht durch Messung der optischen Dichte bei 450 nm.

3 Ergebnisse

3.1 Kreatinin

Dargestellt sind die mittleren Kreatininwerte in den Gruppen I bis IV:

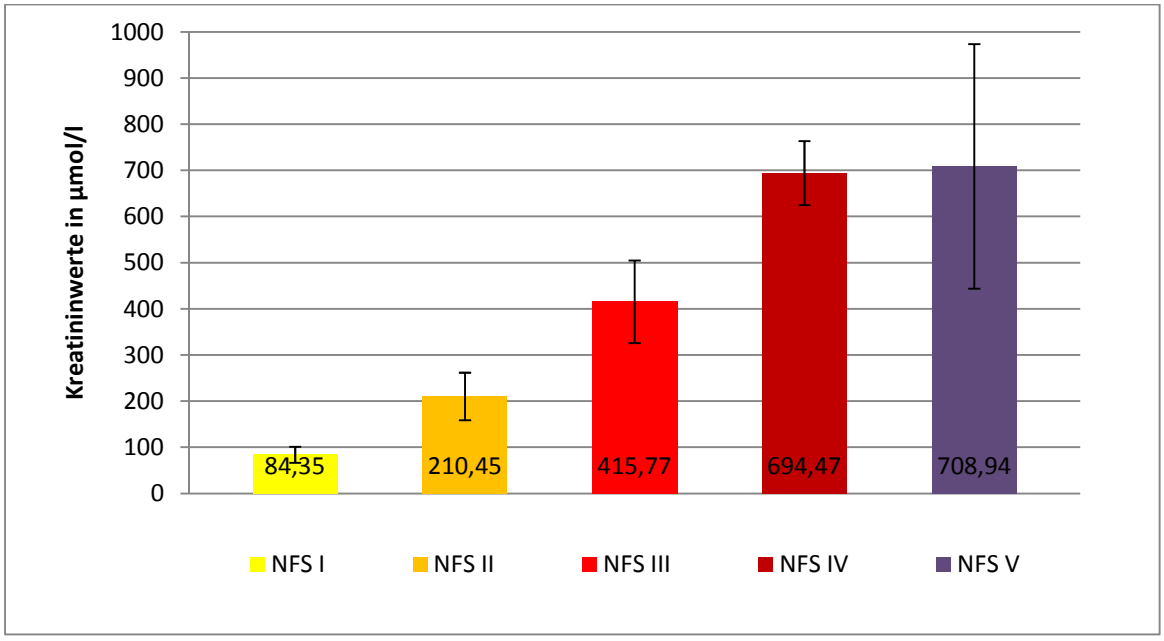

Abbildung 10: Mittelwert mit Standardabweichung des Kreatinins in den Nierenfunktionsstufen

µmol/l:	Mikromol pro Liter	
NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)

Man kann den signifikanten Anstieg des Kreatinins mit abnehmender Funktion der Niere deutlich erkennen.

Betrachtet man die Werte der untersuchten Marker, so zeigt sich eine Signifikanz von TORC + PLA_2; HNE und MDA im Vergleich der Gruppen I-IV gegenüber Gruppe V.
Bei Betrachtung der TORC-Werte sind Gruppe I, III und VI signifikant höher als die der Gruppe V (p-Wert für Gruppe I = 4,86 e $^{-9}$; Gruppe III = 0,008; Gruppe IV = 0,005; als Ausreißer gilt die Gruppe II).

Stellt man die Gesamtheit der Gruppen I-IV der Gruppe V gegenüber, so zeigen sich signifikant höhere Werte (p-Wert 0,01), also höhere oxidative Kapazität der Gruppen ohne terminale Niereninsuffizienz.

Werte für PL A2 steigt mit zunehmendem Kreatininwert der Gruppen I-III gegenüber V an, es fällt der Gruppe VI ein lediglich tendenzieller, nicht signifikanter Wert zu (p-Werte: der Gruppe I 2,11 E -8; Gruppe II 1,17 E-8; Gruppe III 0,04; Gruppe IV 0,47). Beim Vergleich der Werte für PLA2 der Summe der Gruppen I-IV gegenüber V zeigt sich ein singifikant niederer p-Wert (4,88 e-8), entsprechend signifikant niedereren Entzündungswerten bei erhaltener Nierenfunktion.
Die Gegenüberstellung der Gesamtheit der Werte für HNE und MDA der Gruppe I-IV und V zeigt ebenfalls einen p-Wert von 0,047 und 3,22 e^{-11} im Sinne signifikant höherer Entzündungswerte.

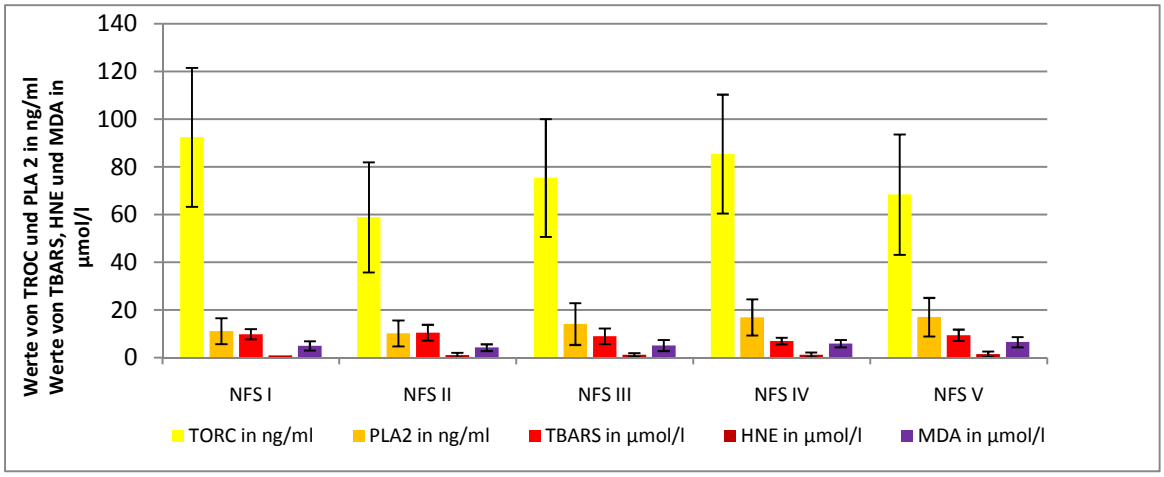

Abbildung 11: Vergleich der gemessenen Mittelwerte mit Standardabweichungen der biochemischen Marker in den Nierenfunktionsstufen

NFS I: Nierenfunktionsstufe I (Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II: Nierenfunktionsstufe II (Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III: Nierenfunktionsstufe III (Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV: Nierenfunktionsstufe IV (Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V: Nierenfunktionsstufe V (unter Dialysebehandlung)
TORC in ng/ml: freie, totale Reduktivkapazität in Nanogramm pro Milliliter
PLA 2 in ng/ml: Phospholipase A2 in Nanogramm pro Milliliter
TBARS in µmol/l: Thiobarbitursäure reaktive Substanzen in Mikromol pro Liter
HNE in µmol/l: 4-Hydroxynonenal in Mikromol pro Liter
MDA in µmol/l: Malondialdehyd in Mikromol pro Liter

3.2 Hämoglobin

Unter der Annahme, dass sich bei zunehmender Niereninsuffizienz bis hin zum Nierenversagen und damit notwendiger Nierenersatztherapie auch das mittlere Hämoglobin im Blut im Sinne einer renalen Anämie der Patienten reduziert, wurde der rote Blutfarbstoff gemessen:
Die Werte verhielten sich ähnlich denen des Kreatinins:
Während sich eine Abnahme des mittleren Hämoglobins von Gruppe I bis IV zu verzeichnen war, besserte sich das Hämoglobin in Gruppe V auf einen Wert zwischen denen der Gruppen III und IV – dies ist auf die Gabe von EPO bei Patienten mit terminalen Niereninsuffizienz zurückzuführen.

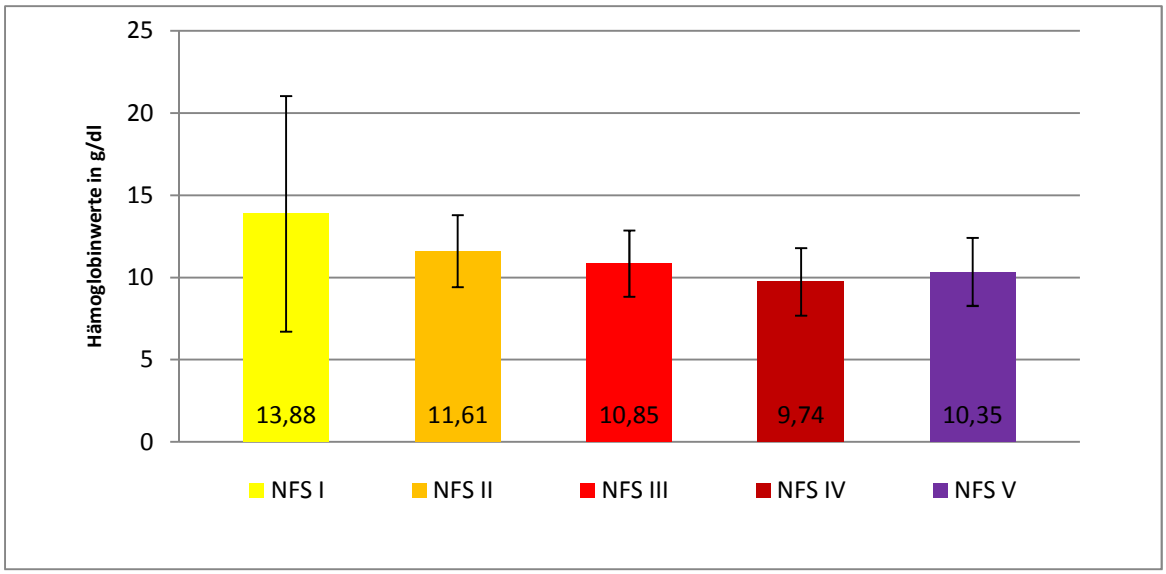

Abbildung 12: Mittelwert mit Standardabweichung des Hämoglobins in den Nierenfunktionsstufen

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
g/dl:	Gramm pro Deziliter	

Im Vergleich des Hämoglobins zwischen bezüglich der nierengesunden, teilweise niereninsuffizienten Patienten und terminal niereninsuffizienten Patienten unter Dialysebehandlung zeigte sich ein signifikanter Unterschied (p-Wert = 3,556E-06)

1. Es zeigte sich ein mittleres Hb von 11,68 ± 2,33 g/dl in den Gruppen I-IV
2. bei terminal niereninsuffizienten Patienten ergab die Messung 10,35 ± 2,07 g/dl

Dabei zeigten sich die Werte von TBARS und TORC + PLA_2 tendenziell fallend: TBARs sanken von 9,76 ± 3,13 bei Patienten ohne Nierenersatztherapie auf 9,50 ± 2,42 unter Dialysebehandlung (p-Wert: 0,24), also nur tendenzielle Minderung der reaktiven Substanzen gegen Oxidantien wie MDA o.ä. TORC reduzierte sich von 74,08 ± 28,90 auf 68,49 ± 25,12 unter Dialysebehandlung (p-Wert: 0,06). hier somit eine signifikante Reduktion der antioxidativen Kapazität. Von Signifikanz war die Steigerung der PLA_2 von 12,02 ng/ml ± 6,92 auf 17,04 ng/ml ± 7,89 im selben Vergleich von Gruppen I-IV zu V (p-Wert: 5E-07). HNE stieg tendenziell von 1,18 ± 0,91 bei Patienten der Gruppen I-IV auf 1,31 ± 0,99 (p-Wert: <0,21); stärker ausgeprägt geschah dies bei MDA von 4,88 ± 1,87 auf 6,56 ± 2,11 bei Nierenersatztherapie (p-Wert <0,01), also signifikante Erhöhung des oxidativen Stress.

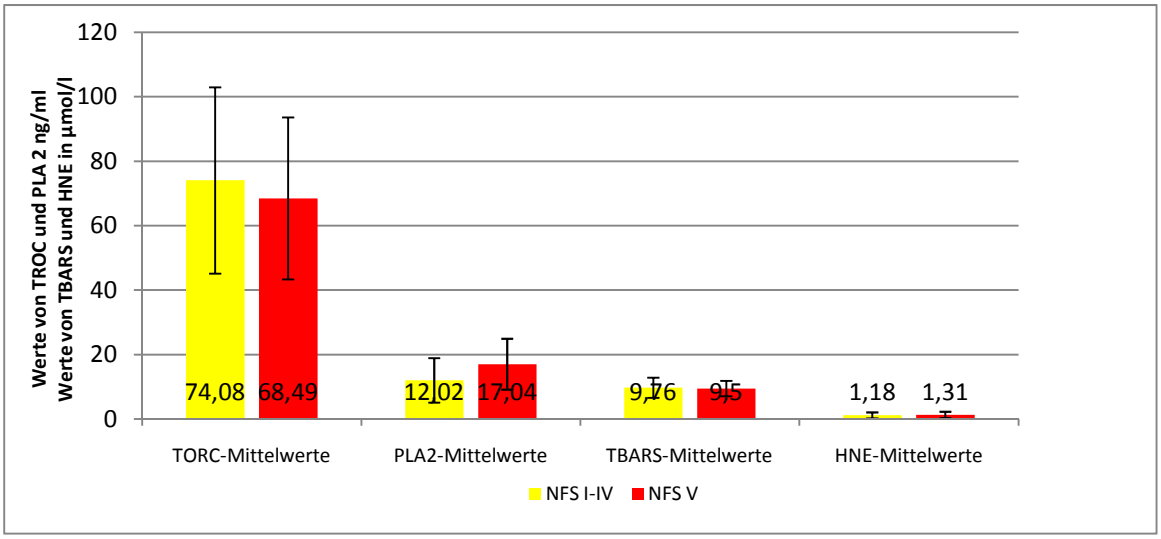

Abbildung 13: Mittelwert und Standardabweichung der biochemischen Marker in den Nierenfunktionsstufe I-IV gegenüber V, orientiert am Hämoglobin

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
TORC in ng/ml:	freie, totale Reduktivkapazität in Nanogramm pro Milliliter	
PLA 2 in ng/ml:	Phospholipase A2 in Nanogramm pro Milliliter	
TBARS in µmol/l:	Thiobarbitursäure reaktive Substanzen in Mikromol pro Liter	
HNE in µmol/l:	4-Hydroxynonenal in Mikromol pro Liter	

3.3 Kalium

Kalium ist ein Blutsalz, dessen Ausscheidung durch die Niere beeinflusst wird. Daher zeigt sich - wie angenommen - dass bei abnehmender Nierenleistung die Kaliumwerte im Blut der Patienten ansteigen.

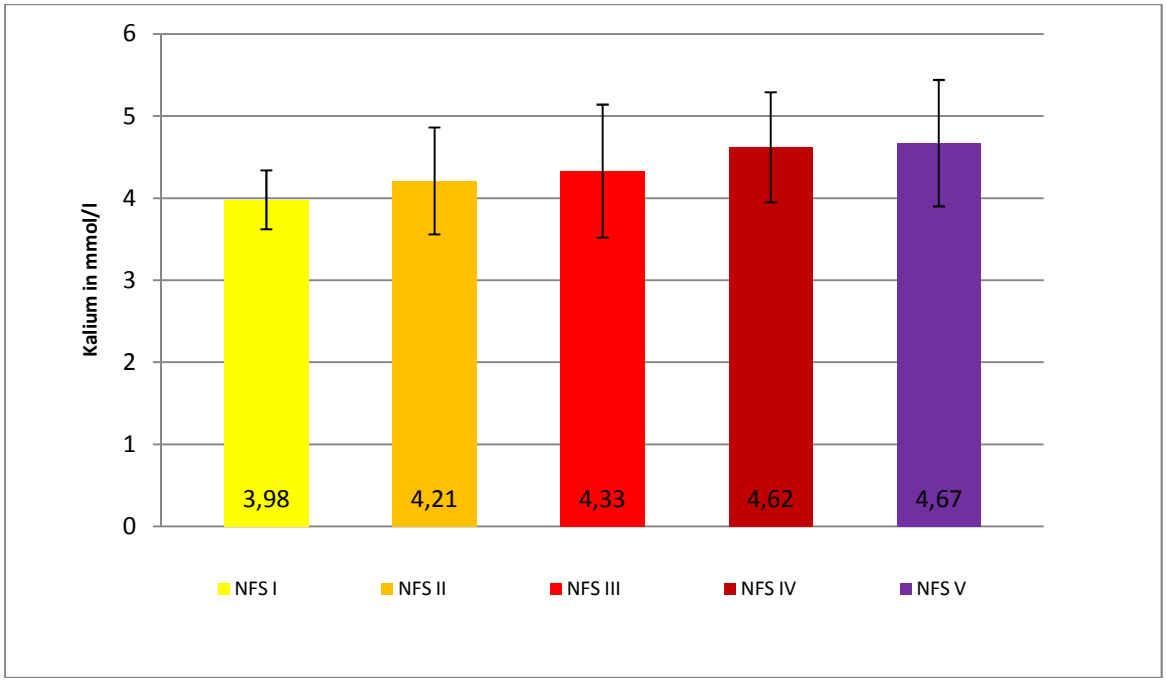

Abbildung 14: Mittelwert und Standardabweichung von Kalium in den Nierenfunktionsstufen

mmol/l:	Millimol pro Liter	
NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)

Im Vergleich des Kaliums zwischen den Patienten der Gruppen I-IV und denen unter Dialysebehandlung zeigte sich ein nahe beieinander liegendes mittleres Kalium:

I-IV: Kalium von 4,18 ± 0,64 mmol/l, bei Gruppe V von 4,67 ± 0,77 mmol/l (Signifikanzwert <0,01).

TORC wiesen eine mittlere Reduktion der Mittelwerte in Gruppe I-IV 76,09 ± 29,44 hin zu 68,15 ± 25,04 bei Gruppe V auf (p-Wert 0,01130), dabei fiel besonders die Gruppe II als Ausreißer nach unten auf.

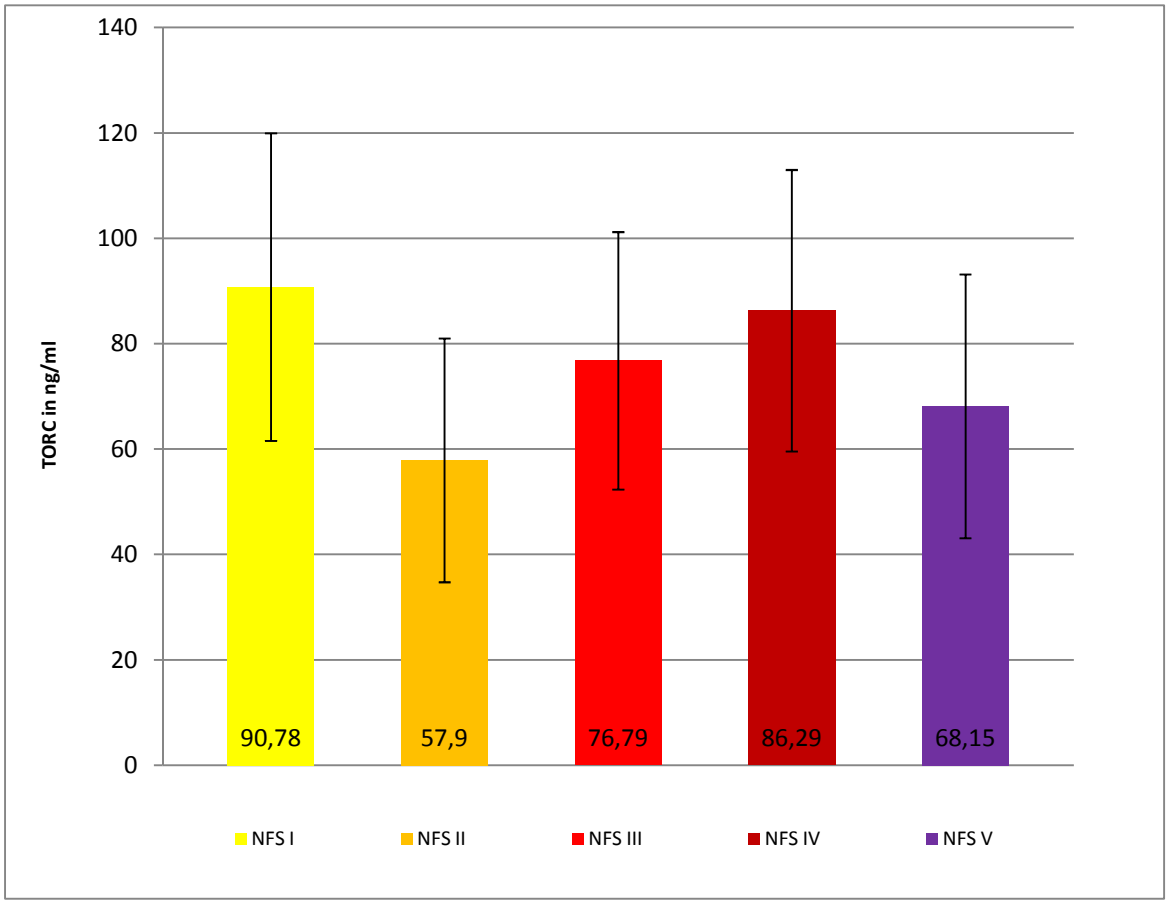

Abbildung 15: Mittelwert und Standardabweichung der totalen Reduktiv-Kapazität in den Nierenfunktionsstufen, orientiert am Kalium

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
TORC in ng/ml:		totale Reduktivkapazität in Nanogramm pro Milliliter

Die Entzündungsmarker, speziell die PLA_2 zeigten eine deutliche Erhöhung von 11,97 ng/ml ± 6,81 auf 17,05 ng/ml ± 8,14 (p-Wert 1,4477E-07).

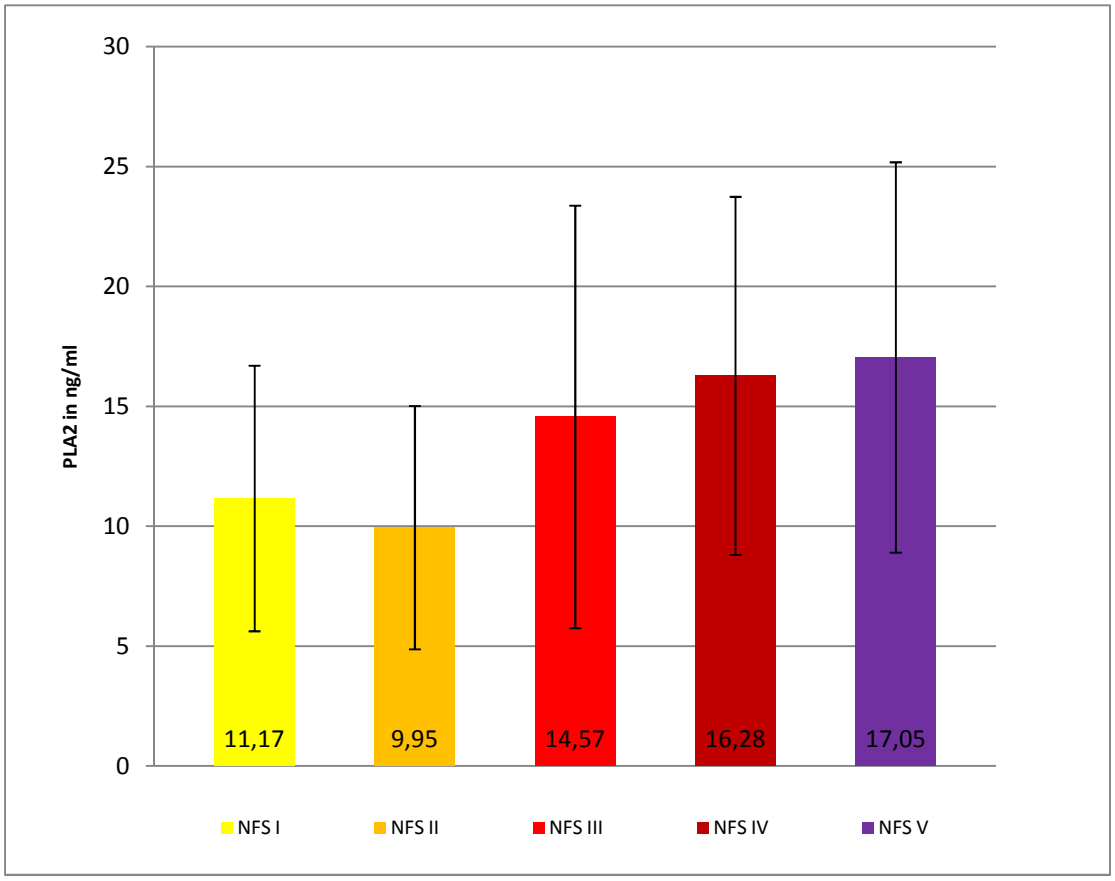

Abbildung 16:Mittelwert und Standardabweichung der Phospholipase A2 in den Nierenfunktionsstufen, orientiert an Kalium

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
PLA2 in ng/ml:		Phospholipase A2 in Nanogramm pro Milliliter

Ebenso verhielten sich HNE und MDA:

HNE stieg von 0,47 ± 0,81 auf 0,94 ± 1,18 signifikant an (p-Wert 4,564E-05). Ebenfalls signifikant verhielt sich MDA: 4,88 ± 1,97 auf 6,57 ± 2,13 (p-Wert 1,898E-10). Gleichermaßen bei HNE und MDA erhöhen sich die Marker für oxidativen Stress von Gruppen I-IV hin zur Gruppe des terminalen Niereninsuffizienten.

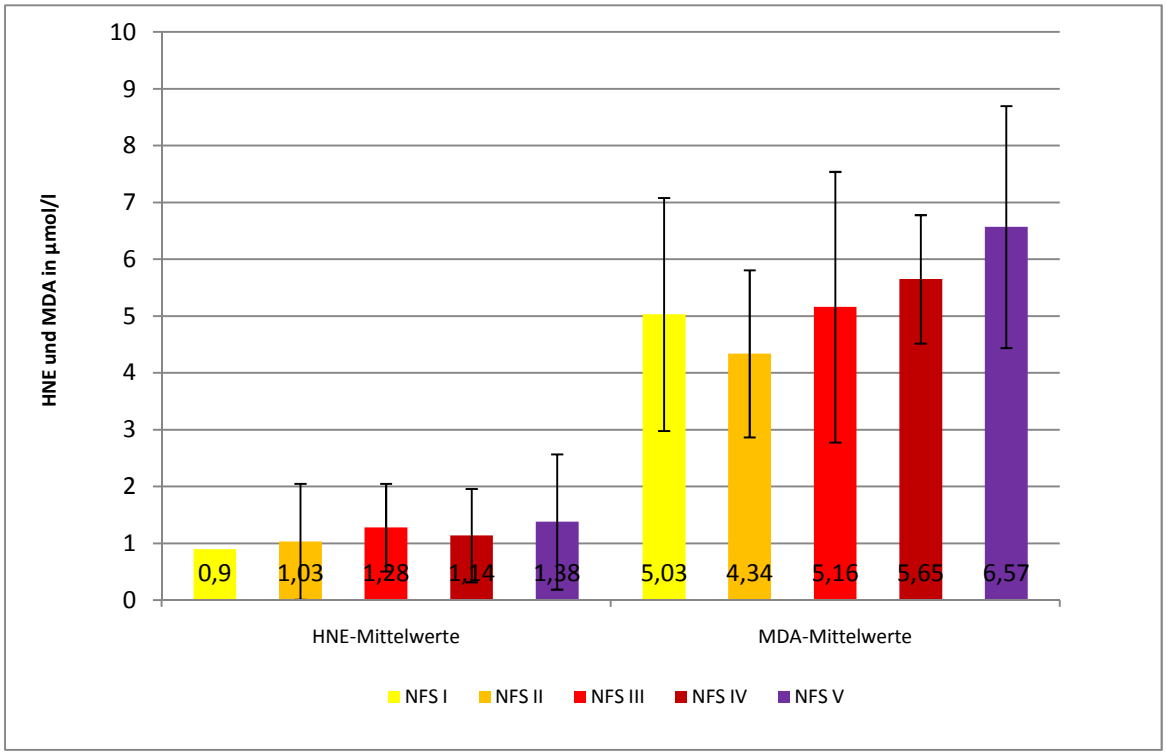

Abbildung 17: Mittelwert und Standardabweichung des 4-Hydroxy-Nonenal und Malondialdehyd in den Nierenfunktionsstufen, orientiert an Kalium

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
HNE in µmol/l:		4-Hydroxynonenal in Mikromol pro Liter
MDA in µmol/l:		Malondialdehyd in Mikromol pro Liter

Bei den gemessenen Markern war allein bei TBARs die Verringerungstendenz von 9,69 ± 3,00 auf 9,43 ± 2,40 zu sehen (p-Wert = 0,2278).

3.4 TORC

TORC als Maßeinheit der antioxidativen Kapazität des Serums wurde gemessen: Betrachtet man die einzelnen Werte, fällt zunächst ein inhomogener Verlauf auf. NFS II liegt deutlich tiefer als NFS V; NFS III und IV steigen an, NFS V liegt wiederum zwischen II und III:

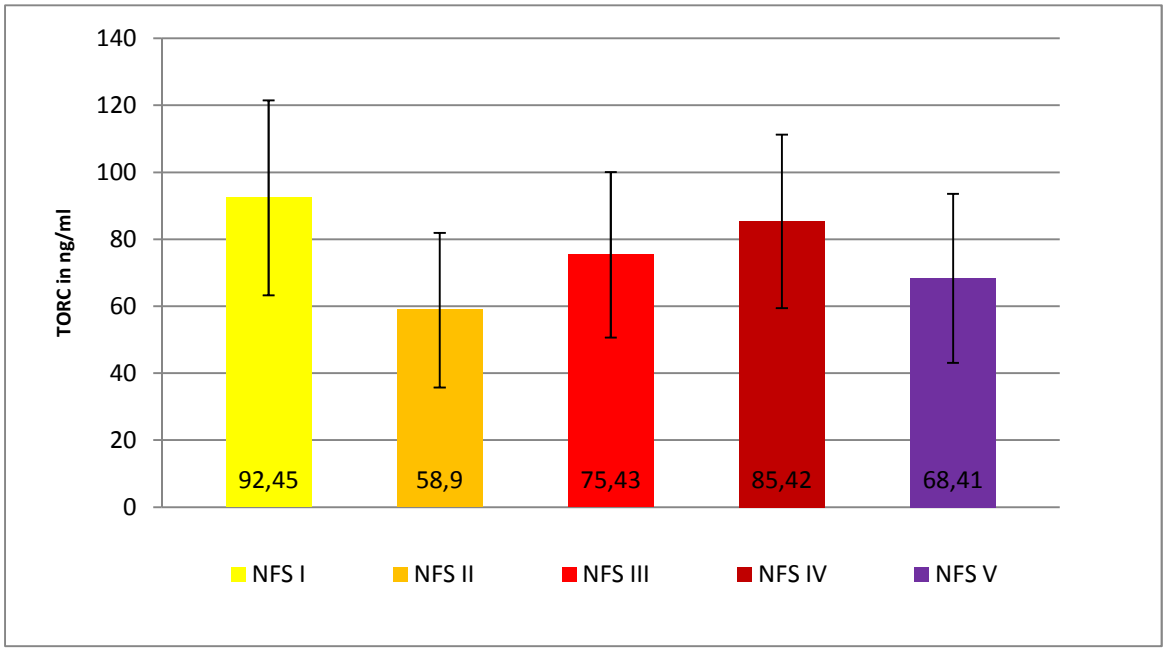

Abbildung 18: Mittelwert und Standardabweichung der totalen Reduktiv-Kapazität in den Nierenfunktionsstufen

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
TORC in ng/ml:		totale Reduktivkapazität in Nanogramm pro Milliliter

Vergleicht man nun die Gesamtheit der Werte von TORC in Gruppen I-IV mit der Gruppe V, so zeigt sich signifikant eine Minderung des TORC in der Dialysegruppe: die antioxidative Kapazität des Bluts ist deutlich besser in den Gruppen mit Kreatininwerten unter 600 mg/dl als bei Patienten unter Dialysebehandlung. Ausnahme bildet wiederum die Gruppe 2 mit unterdurchschnittlichen Werten (58,9mg/dl).

Wie schon in den vorangegangenen Untersuchungsschritten verhalten sich auch die Laborwerte für PLA_2, HNE und MDA überdurchschnittlich geringer bei Patienten mit guter bis verbleibender Nierenfunktion im Kontrast zu Dialysepatienten.

-PLA_2: p-Wert = 4,88E-08

-HNE: p-Wert = 8,6E-06

-MDA: p-Wert = 3,22E-11

TBARs gibt wiederum einen allein tendenziellen Wert ein (p-Wert = 0,2278).

3.5 Alkohol

Als weiterer Parameter wurde Alkohol als Unterscheidungsmerkmal gemessen, wobei anhand des Alkohols sowohl in als auch zwischen den verschiedenen Gruppen verglichen werden kann (auch hier wurde keine geschlechtsspezifische Trennung durchgeführt):
In Gruppe I zeigte sich Kreatinin tendenziell gleich unter Alkoholkonsum mit 84,31 ± 13,20 zu alkoholfreier Lebensweise mit 84,78 ± 19,60 (p-Wert 0,44). Auch Kalium (4,03 ± 0,39 zu 3,94 ± 0,34 ohne Alkohol (p-Wert 0,13)) und Hämoglobin (13,28 ± 2,13 zu 14,63 ± 9,40 ohne Alkohol (p-Wert 0,24)) zeigen keinen signifikanten Unterschied.
TORC ist nicht signifikant bei Konsumenten von Alkohol (97,56 ± 27,16) im Vergleich zu alkoholabstinenten Patienten (84,40 ± 28,75; p= 0,015), also die antioxidative Kapazität höher bei Alkohol-konsumierenden Patienten.
Ebenso verhalten sich die Werte des oxidativen Stress: die PLA_2 ist nicht signifikant erhöht (12,45 ± 5,56 mit Alkohol zu 10,01 ± 5,26 ohne Alkohol; p-Wert = 0,02268). TBARs, HNE und MDA liegen gleichermaßen eng beieinander.
Ähnlich verhalten sich die Werte in Gruppe II. Bei den Gruppen III und IV ließen sich keine signifikanten Werte nachweisen. Einzig abweichend ist die PLA2 in Gruppe 2 mit signifikant höheren Werten bei Patienten mit Alkohol (11,83 ± 4,95 mit Alkohol zu 8,48 ± 5,27 ohne (p-Wert = 0,006).
Folglich scheint der Konsum von Alkohol im gruppeninternen Vergleich bei Nierengesunden bzw. Patienten mit Kreatinin unter 600 mg/dl keinen signifikanten Einfluss weder auf oxidative Kapazität noch auf oxidativen Stress zu haben.

Bei dem Vergleich des Einflusses von Alkohol in der Gruppe V (terminale Niereninsuffizienz) fällt eine signifikante Reduktion des Kreatinins bei alkoholfrei lebenden Menschen auf (Alkohol mit 779,65 ± 299,31 zu nichtalkoholisch mit 667,8 ± 233,02 (p-Wert = 0,029)).
TORC und PLA_2 zeigen tendenziell eine Minderung bei Konsum von Alkohol hin zur alkoholabstinenten Gruppe (TORC 70,78 ± 25,18 zu 68,76 ± 25,91; p-Wert = 0,368; PLA_2 17,73 ng/ml ± 8,20 zu 17,21 ng/ml ± 7,6; p-Wert =0,393).
(p-Wert(TORC) 0,368; p-Wert (PLA_2) 0,393)

Signifikant mehr sind Werte der TBARs bei Patienten ohne Alkohol (9,79 ± 2,47) im Vergleich zu Alkoholkonsumenten (8,83 ± 2,34 (p-Wert 0,047)).
HNE und MDA verhalten sich von Alkoholabstinent zu Alkohol nicht signifikant, es zeigt sich eine tendenzielle Reduktion (HNE: 1,47 ± 0,85 ohne zu.1,44 ± 1,43 mit Alkohol (p-Wert ,466))
Somit ergibt sich ein Hinweis auf die schädliche Einflussnahme von Alkohol in Gruppe V durch Reduktion der TBARS ohne signifikante Erhöhung des oxidativen Stresses.
Vergleicht man nun die Gesamtheit der Patienten ohne und diejenigen mit Dialysebehandlung unter den Gesichtspunkten „Alkohol“ und „kein Alkohol“, so ergibt sich ein anderes Bild:
In beiden Gruppen sind die Blutwerte für PLA2, TBARS und MDA bei Gegenüberstellung der Gruppen I-IV bzw. V mit und ohne Alkohol signifikant

Vergleicht man PLA2 in der Summe der Gruppe I-IV mit und ohne Alkohol, so ergibt sich der p-Wert 0,014 (12,72 ± 5,89 ohne zu 10,71 ± 6,83 mit Alkohol), es ergibt sich somit ein Hinweis darauf, dass Alkohol auf oxidativen Stress reduzierend wirkt.
Bei Betrachtung von TBARS in Gruppe V mit und ohne Noxe zeigt sich ebenfalls ein signifikanter p-Wert 0,047 (8,83 ± 2,34 ohne zu 9,79 ± 2,47 mit Alkohol), also ein signifikanter Anstieg antioxidativ wirksamer Substanzen unter Alkoholkonsum
Bei Untersuchung von MDA zeigt sich ein Anstieg von der abstinenten Summe der Gruppe I-IV zur konsumierenden (p-Wert 0,042 bei 4,59 ± 1,93 ohne Alkohol zu 5,05 ± 2,04 mit) womit eine Steigerung des oxidativen Stresses im Sinne eines MDA-Anstiegs unter Alkoholkonsum deutlich wird.

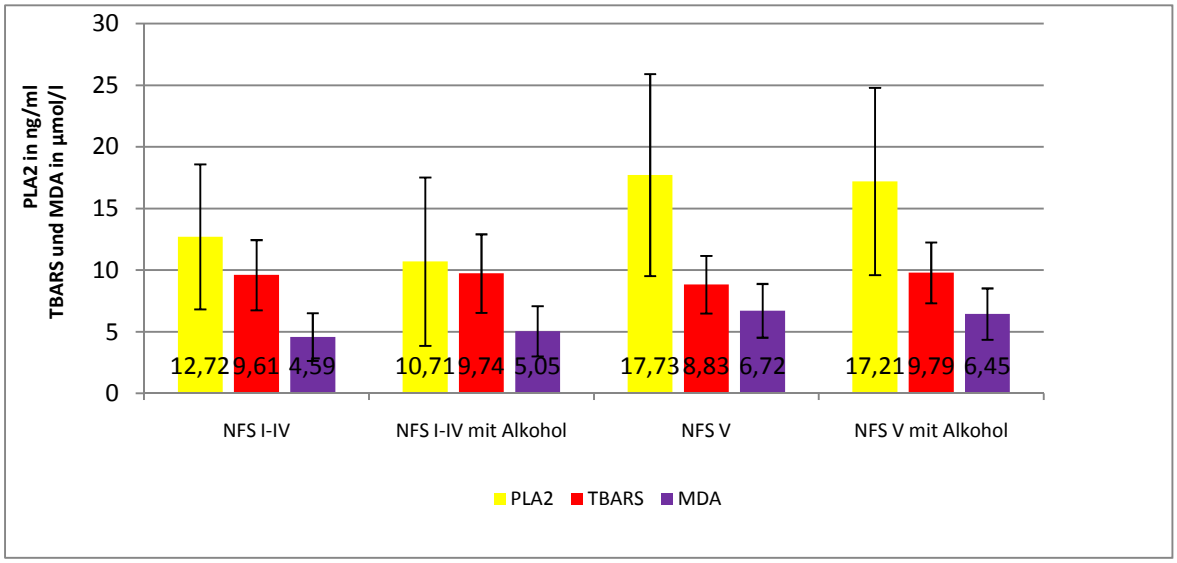

Abbildung 19: Alkoholeinfluss auf Mittelwert und Standardabweichung der biochemischen Marker in den Nierenfunktionsstufen

NFS I:	Nierenfunktionsstufe I	(Kreatinin bis 130 Mikromol pro Liter)
NFS II:	Nierenfunktionsstufe II	(Kreatinin bis 130 – 300 Mikromol pro Liter)
NFS III:	Nierenfunktionsstufe III	(Kreatinin bis 300 – 600 Mikromol pro Liter)
NFS IV:	Nierenfunktionsstufe IV	(Kreatinin > 600 Mikromol pro Liter)
NFS V:	Nierenfunktionsstufe V	(unter Dialysebehandlung)
PLA 2 in ng/ml:		Phospholipase A2 in Nanogramm pro Milliliter
TBARS in µmol/l:		Thiobarbitursäure reaktive Substanzen in Mikromol pro Liter
MDA in µmol/l:		Malondialdehyd in Mikromol pro Liter

3.6 Nikotin

Nikotin wurde als weiterer Einflussfaktor untersucht:
Betrachtet man die Gruppen im Einzelnen und stellt dabei Raucher und Nichtraucher gegenüber, so sieht man lediglich vereinzelt signifikante Werte:
In der renalen Funktionsstufe I ist das TORC bei Nichtrauchern überdurchschnittlich höher, als bei Rauchern (p-Wert 0,043), somit eine höhere antioxidative Kapazität. TBARs der Gruppe III (p-Wert = 0,046) ist signifikant höher bei Nichtrauchern, ebenfalls Zeichen der besseren oxdiativen Kapazität des Bluts. PLA_2 ist in der zweiten renalen Funktionsstufe signifikant höher bei Rauchern (p-Wert PLA_2 0,005), hier zeigt sich der verstärkende Einfluss von Nikotin auf oxidativen Stress. Vergleicht man weiter unter Gegenüberstellung der Gesamtheit Patienten ohne und den Patienten mit Dialysetherapie die Aspekte Raucher / Nichtraucher so zeigt sich folgendes:

Stellt man Raucher bzw. Nichtraucher ohne und mit Dialyse gegenüber so zeigen sich signifikante Werte der PLA2, HNE und MDA, deren Steigerung durch Dialyseanwendung erklärt werden können (p-Wert PLA2 = 0,018 bei 17,26 ± 8,26 bei Rauchern ohne Dialyse gegenüber 12,02 ± 6,92 mit bzw. p-Wert 2,79e-7 bei 17,19 ± 7,89 bei Nichtrauchern ohne Dialyse gegenüber 11,64 ± 6,71 mit Dialyse).

Vergleicht man jedoch Patienten ohne Dialyse bzw. unter Dialyse im Aspekt Raucher vs. Nichtraucher finden sich in keinem bemessenen Parameter signifikante Werte.

4 Diskussion

4.1 Ergebnisse

4.1.1 Kreatinin

Kreatinin wurde als Marker für die Funktionalität der Niere im Rahmen der Studie gemessen, um den negativen Zusammenhang zwischen antioxidativer Kapazität und den fünf Funktionsstufen der Niere bewerten zu können.
Die Ergebnisse zeigten, dass in den Nierenfunktionsstufen/Gruppen I – IV (mit abnehmender Nierenfunktion) der Wert des Kreatinins anstieg und bei der Nierenfunktionsstufe V wiederum im Trend leicht abfällt. Dies spricht dafür, dass die Nierenersatztherapie den Kreatininwert durchschnittlich, etwa auf das Niveau einer präterminal insuffizienten Niere (Nierenfunktionsstufe IV; Kreatinin > 600) senkt.
Die Aussagekraft der Werte ist zuverlässig, da bei Patienten der Gruppe V darauf geachtet wurde, dass die Blutabnahme standardisiert streng vor Hämodialysebeginn bei Patienten ohne besondere Belastung im Sinne von antioxidativem Stress stattfand.
Bei der Auswertung der Marker zur Aussage über die antioxidative Kapazität des Serums zeigte sich, dass - geordnet nach Kreatinin im Vergleich Patienten ohne Dialysebedarf gegenüber den Dialysepatienten - sich deutliche Unterschiede darstellen:
Die Werte von TORC sind signifikant höher und haben somit einen antioxidativ günstigeren Wert bei Patienten ohne Nierenersatztherapie gegenüber Dialysepatienten.
Bei der alleinigen Betrachtung der PLA_2 als Entzündungsmarker zeigt sich erneut die antioxidativ günstigere Situation der Patienten ohne Dialyse, da in Nierenfunktionsstufe I-IV signifikant niedrigere Werte gemessen wurden – also weniger Entzündungsaktivität als bei der Dialysekontrollgruppe. Einen „Ausreißer“ im Gruppenvergleich stellt die direkte Gegenüberstellung der Gruppe IV gegen V dar. Hier zeigt sich dennoch die Tendenz in derselben Richtung.

Ebenso verhalten sich die Marker für oxidativen Stress: HNE und MDA, diese sind signifikant höher bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz als bei nierengesunden bzw. nur partiell niereninsuffizienten Patienten sind.
Der gemessene Sachverhalt lässt den Schluss zu, dass Patienten mit guter Nierenfunktion bis hin zu denen mit einer verbleibenden Restfunktion eine bessere antioxidative Kapazität aufweisen als Patienten unter Nierenersatztherapie.
Nach Ujhelyi et al. [73] ist die Blutzusammensetzung bei terminal niereninsuffizienten Patienten (Gruppe V) vor der Dialyse durch im Blut befindliche Stoffe (Harnsäure, Bilirubin usw. mit antioxidativer Wirkung) sogar noch durch höhere Werte an TORC gekennzeichnet als nach maschineller Blutwäsche. In Bezug darauf bleibt anzunehmen, dass die antioxidative Kapazität, gemessen in der Gruppe V, vermutlich noch schlechtere Ergebnisse zeigte als in dieser Untersuchung ermittelt, würde man sie nach der Dialysesitzung ermitteln.
Bei Langzeitdialysepatienten jedoch konnte eine langfristige Minderung der antioxidativ wirksamen Enzyme durch Olszewska [53] festgestellt werden.
2007 wurde von Valentini et al. [74] jedoch ein deutlicher Anstieg von MDA und TBARS bei Patienten nachgewiesen, genauer gesagt käme es zum deutlichen Anstieg im zeitlichen Verlauf. Karamouzis et al. [34] stellten 2008 mit ihrer Studie fest, dass nur mäßiggradige Verluste in TORC bei Nierengesunden bis präterminal Niereninsuffizienten zu verzeichnen sind, jedoch eine deutliche Minderung bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz zu messen waren.

Nach Ujhelyi et al. [73] ist die Blutzusammensetzung bei Patienten der Gruppe V durch im Blut befindliche harnpflichtige Stoffe (Harnsäure und Bilirubin mit antioxidativer Wirkung) sogar noch durch höhere Werte an TORC gekennzeichnet als nach Dialyse. Der Vorgang der Dialyse selbst scheint jedoch laut Schettler et al. [65] keinen oxidativen Stress zu erzeugen. Auch Hirayama et al. [26] beschrieb erhöhte Lipoperoxidation und im Plasma von Patienten unter Dialysebehandlung, die konnte die Forschungsgruppe aber ebenfalls nicht auf den Vorgang der Hämodialyse selbst zurückführen.
Bei Langzeitdialysepatienten jedoch konnte eine langfristige Minderung der antioxidativ wirksamen Enzyme durch Olszewska [54] festgestellt werden.

Dennoch bleibt anzunehmen, dass die antioxidative Kapazität der NFS V, würde man sie nach Nierenersatztherapie ermitteln, vermutlich noch schlechter wäre als in dieser Untersuchung ermittelt.

4.1.2 Hämoglobin

Der rote Blutfarbstoff ist ein weiterer Laborwert, an dem gemessen eine Gegenüberstellung zwischen Nierenfunktionsstufe I-IV und V durchgeführt wurde: Die Funktionalität der Niere korreliert mit ihrem Einfluss auf die Blutbildung.
Im Vergleich zwischen nierenfunktionellen Patienten und Dialysepatienten zeigt sich eine signifikante Abnahme des Hämoglobins, die Substitution mit rekombinantem EPO erfolgt in der Regel bei terminal Niereninsuffizienten:
Die Werte des Markers TORC zeigten sich in der statistischen Gegenüberstellung der Gruppe I-IV zu Gruppe V nicht signifikant höher, lediglich mit einer starken Tendenz dazu, dass sich die TORC in der Gruppe terminal Niereninsuffizienter verschlechtert. Am ehesten ist hier die das Ergebnis verzerrende EPO-Substitution der Gruppe V als Auslöser der nicht erreichten Signifikanz zu sehen.
Es bestätigt sich also, dass die oxidative Kapazität bei Nierengesunden bzw. in Nierenfunktion eingeschränkten Patienten besser ist, als bei terminal Niereninsuffizienten.
Trotz dieser Meßbeeinflussung verhielten sich die Marker für Entzündungsreaktionen ebenso, wie bei der Messung eingeteilt nach Kreatinin:
Die Ergebnisse der Messung von PLA_2, HNE, MDA waren überdurchschnittlich höher in der Dialysegruppe, was für vermehrten oxidativen Stress – indirekt für die verminderte oxidative Kapazität - des Blutes spricht.
Da es sich aber um allgemeine Entzündungsmarker handelt – und nur eine tendenzielle Minderung der oxidativen Kapazität zu messen war, kann man daher nicht vollständig abgrenzen, ob sich die signifikante Erhöhung auf die Folge exogener Einflüsse (z.B. Einflüsse der Langzeitdialyse) zurückführen lässt.
Zu ähnlichen Schlüssen kamen Samouilidou et al. [62], in deren Untersuchung die Verbindung zwischen oxidativem Stress und Hämodialyse gemessen an der möglichen Korrelation zwischen TORC und CRP dargestellt wurde:
Es konnte keine Signifikanz zwischen TORC und MDA in Bezug auf Entzündungsprozesse nachgewiesen werden.

Zu anderen Ergebnissen kamen jedoch Valentini et al. [74]: Hämodialyse korreliert nachweislich mit Erniedrigung der Delta-Aminoävulinat Dehydratase, deren Enzymaktivität durch Oxidation der für die Aktivität essentieller –SH-Gruppe gemindert wurde. Grundlage des Oxidationsschrittes war die vermehrte Belastung durch oxidativen Stress, welcher unter Hämodialyse auftritt.
Eine weitere Grundlage für den vermehrten oxidativen Stress bei Hämodialysepatienten findet sich in der renalen Anämie, ein Beispiel dafür lieferten Siems et al. [68], die die Minderung des oxidativen Stresses durch Anwendung einer begleitenden Erythropoetin-Therapie nachweisen konnten. Auch hier wurde die EPO-Therapie als notwendig dargestellt, um die renale Anämie reduzieren.

4.1.3 Störgrößen

Kreatinin:
Der Wert für Kreatinin entsprach vor allem in Gruppe I und II den vorausgesetzen Grenzwerten, bei den Gruppen III bis V blieben die gemessenen Kreatininwerte häufig nicht innerhalb der festgelegten Grenzen.
Dies erklärt sich am besten am Beispiel der Gruppe IV: Noch sind Patienten nicht dialysepflichtig, haben jedoch in der bemessenen „Momentaufnahme“ einen Kreatininwert oberhalb der ihnen zugewiesenen Grenze.
Besonders in Gruppe III und IV fällt dieser Effekt aufgrund der kleinen Gruppengrößen ins Gewicht.

Hämoglobin:
Hämoglobin ist wie in Kapitel 2.7 beschrieben maßgeblich von der Fähigkeit der Niere abhängig, die Blutbildung durch Ausschüttung von Erythropoetin anzuregen. Bei Patienten unter Nierenersatztherapie versagt dieser Mechanismus und muss je nach Bedarf mit rekombinantem Erythropoetin substituiert werden, um eine renale Anämie zu verhindern. In verschiedenen Studien konnte eine Verbindung der renalen Anämie und dem erhöhten oxidativen Stress nachgewiesen werden, ein Beispiel dafür lieferten Siems et al.[68], die die Minderung des oxidativen Stress durch Anwendung einer begleitenden Erythropoetin-Therapie nachweisen

konnten. Daraus erfolgt die eingeschränkte Gültigkeit des Hämoglobins als Maßstab zur Einteilung der Gruppen.

Kalium:
Bei Kalium ergab sich in den durchgeführten Messungen eine nur eingeschränkte Aussagekraft: Das Blutsalz ist nicht nur durch die Fähigkeit der Niere, Kalium auszuscheiden, sonder auch durch eine Vielzahl von Medikamenten beeinflussbar. Diese werden in der Regel häufig bei zunehmender Niereninsuffizienz wegen der Erkrankung oder Begleiterkrankungen eingenommen, konnten jedoch nicht im Einzelnen differenziert erfasst werden. Daher fällt Kalium eine eingeschränkte Aussagekraft zu.

4.2 Co-Variate

4.2.1 Alkohol

Alkohol ist eine Einflussgröße, die in der vorliegenden Untersuchung als Co-Variate gemessen wurde. Bei Betrachtung der Ergebnisse bezüglich der veränderten Blutwerte zeigten Kreatinin, Hämoglobin wie auch Kalium eine signifikante Abweichung sowohl mit und ohne Einflussnahme von Alkohol im Vergleich von Nierenfunktion gegenüber Dialyse.
Die unspezifischen Marker für entzündliche Prozesse, PLA_2 , HNE und MDA verhielten sich gleich. In ähnlicher Konstellation wurde das schon unter dem Diskussionspunkt „Kreatinin“ als Problematik angesprochen: TORC war nicht signifikant, also im Normbereich und signifikante Entzündungsmarker könnten auch für die Beeinträchtigung des Blutes infolge der Nierenersatztherapie möglich sein. Alle genannten Veränderungen des Blutes sind aber auch möglicherweise auf Einwirkung von Alkohol auf die Blutqualität zurückzuführen:
Oxidativer Stress nimmt laut Das et al. [14] unter Alkoholgenuss vor allem aufgrund des durch den Konsum verminderten Gluthations zu. Gluthation gilt seinerseits als Teil des ROS-Abbausystems. Die pathologische Wirkung des chronischen Alkoholgenusses beschrieben Amanvermez et al. [2] in verschiedenen Geweben und führten das Phänomen auf die verminderte

Oxidation von Ascorbinsäure (Vitamin C) und anderer antioxidativ wirksamer Substanzen zurück. Chronischer Alkoholgenuss beeinflusst auch die mitochondriale Genexpression, die laut Chu et al. [11] durch die damit verbundene Mitochondriendysfunktion die ROS-Bildung erhöht.
Bei moderater Aufnahme verringern sich Anzeichen oxidativen Stresses abhängig von der Zusammensetzung des Alkohols. So statuierten Croft et al. [12], dass ein Gleichgewicht von prooxidativen und antioxidativen Substanzen in alkoholischen Getränken nachweisbar wäre und es sogar zu einer Reduktion der Lipoperoxidation unter geringem Konsum des Alkohols käme. Ausschlaggebend dafür ist der Anteil an phenolischen, antioxidativ wirksamen Verbindungen in Bier, Wein [39] oder anderen Getränken, wohingegen der Gehalt des Alkohols laut Gasbarrini et al. [19] weitestgehend das Ausmaß der Lipoperoxidation bestimmt. Lo Presti et al. [40] konnten sogar den protektiven Einfluss moderaten Weinkonsums auf das Fortschreiten der diabetischen Nephropathie nachweisen. Kombiniert man jedoch den Genuss von Alkohol mit dem von Nikotin, so zeigt sich eine deutlich höhere oxidative Belastung. Kapaki et al. [33] und Romberger et al. [61] belegten in ihrer Studie, dass bei chronischen Alkoholkonsumenten mit zusätzlichem Nikotinabusus eine deutlich höhere Lipoperoxidationsrate durch synergistische Effekte beider Noxen vorherrschen.

4.2.2 Nikotin

In der Hypothesenformulierung wurde Nikotin als weitere Co-Variate benannt: Betrachtet man die Ergebnisse, so sind die Werte von TORC und TBARS bei abstinenten und den Entzündungsmarkern PLA2, HNE und MDA bei Rauchern in den einzelnen Gruppen nur sporadisch signifikant.
Bei der Gegenüberstellung der Raucher unter Dialysebehandlung und denen mit guter bis verbleibender Nierenfunktion fand man signifikant höhere Werte bei Dialysepatienten bezüglich entzündlicher Prozesse (PLA_2, HNE und MDA).
In gleichem Maße verhielten sich die oben genannten Marker bei Nichtrauchern derselben Gruppierung.
Die deutlichsten Zeichen auf die Beeinflussung der antioxidativen Kapazität durch Nikotin finden sich jedoch bei der Untersuchung der NFS I-IV gegenüber V:

Beim individuellen Vergleich sind alle Werte für TORC signifikant höher als in Gruppe V; neuerlich bildet hier die zweite Gruppe einen „Ausreißer“, da sie niederere Werte aufweist.
Daher finden sich in Gruppe V zur Gesamtheit der nierenfunktionellen Patienten rein rechnerisch lediglich tendenziell, nicht signifikant niederere Werte des TORC.
Wie schon bei den anderen Untersuchungsabschnitten stellen sich die Entzündungswerte signifikant erhöht in der NFS V dar.
All das spricht für die Steigerung des oxidativen Stresses durch Nikotin als Co-Variate. Untermauert wird die Annahme durch die Untersuchung von Swami et al. [72] in der nachweislich oxidativer Stress durch Nikotin ausgelöst wird. Weiter dafür sprechen die Ergebnisse von Hodge-Bell et al. [28], bei denen der Nachweis für eine Korrelation entzündlicher Reaktionen mit Zigarettenrauch in Lungengewebe geführt wurde, und Konopka et al. [34], die sowohl Erniedrigung der antioxidativen Kapazität der Blutes und die Begünstigung degenerativer Komorbiditäten (vermehrte Plaquebildung und Progression von Parodontose bei Rauchern) nachweisen konnten.
Die Qualität des Zigarettenrauchs hinsichtlich des Anstiegs der ROS-Bildung lässt sich diskutieren, wobei Yamaguchi et al. [77] auch die pathologische Wirkung von nikotinfreiem Rauch beschrieben, welcher ebenso eine Steigerung der Lipoperoxidation und des oxidativen Stress nach sich zog. Da aber in frei verkäuflichen Zigaretten Nikotin unweigerlich an Tabak gebunden ist, verliert dieser Standpunkt in der vorliegenden Untersuchung an Bedeutung.
Der Einfluss von Nikotin geht jedoch über die einfache Entzündungsreaktion hinaus: Die Forschungsgruppen um Barr et al. [5] und Manna et al. [42] untersuchten die Wirkung des Nikotins auf zellulärer Ebene durch Aktivierung von Transkriptionsfaktoren und der damit, nebst oxidativem Stress verbunden möglichen Transformation zu kanzeromatösen Entartung von Zellen.
Wie schon in 2.3 Antioxidantien erwähnt, ist es sinnvoll bei oxidativem Stress Antioxidantien zu substituieren. Die Studie von Sener et al. [67] geht noch einen Schritt weiter und unterstreicht die Supplementierung von antioxidativ wirksamen Substanzen auch speziell bei Rauchern: In der Untersuchung wurde nikotinbelasteten Ratten Knoblauchextrakt zugefüttert und der Nachweis geführt, dass neben der Lipoperoxidation auch die Nierenfunktion und aus oxidativem Stress entstandene histologische Gewebsschäden verbessert werden konnten.

4.3 Schlussfolgerungen

I. Bei der Fragestellung nach dem Zusammenhang zwischen oxidativer Kapazität des Blutes und der Nierenfunktionsstufe zeigte sich eine positive Korrelation.
II. Bei der Gegenüberstellung der oxidativen Kapazität der NFS IV und der Gruppe niereninsuffizienter Patienten zeigte sich der erwartete Rückgang der oxidativen Kapazität, also eine negative Korrelation.

Auch die Co-Variaten wirken zusätzlich steigernd auf die oxidative Belastung, Alkohol besonders bei zusätzlicher Belastung durch Dialysebehandlung bzw. durch exzessiven Konsum, Nikotinabusus schon in geringen Mengen. Literaturstellen ergänzen die erhobenen Befunde und deuten darauf hin, dass die Co-Variaten kombiniert noch stärkere oxidative Wirkungen entfalten, jedoch auch eine Supplementierung antioxidativ wirksamer Substanzen sinnvoll und gegen den oxidativen Stress wirksam sind.
Betroffenen Personen sollte angeraten werden auf Noxen, wie Alkohol in hohen Mengen und Nikotin grundsätzlich zu verzichten. Weiter lässt aus der Rolle der Niere in der möglichen Progredienz der oxidativen Belastung für den Patienten eine dringende Mitarbeit im Sinne der Vorsorge und dem Erhalt der Nierenfunktion durch gesunde Ernährung usw. darstellen.

Als Ausblick auf weiterführende Studien wäre die Höhe der antioxidativen Kapazität des Blutes von niereninsuffizienten Patienten im Vergleich zu Nieren transplantierten Patienten möglich, um den möglichen Vorteil durch Nierentransplantation im Sinne einer besseren antioxidativen Kapazität zu klären.

5 Zusammenfassung

Die totale, antioxidative Kapazität des Blutes ist ein von verschiedenen Seiten beeinflussbarer Maßstab zur Beurteilung der Fähigkeit des Blutes, reaktiven Radikalen (reactive oxygen species, sog. ROS) entgegenzuwirken. Beeinflusst wird die Kapazität stark durch die Funktion der Niere auf die Zusammensetzung des Blutes, zum einen in Form Stimulation der Blutneubildung, zum anderen durch die Reinigung des Blutes von harnpflichtigen Stoffen und hydrophilen Schadstoffen.

Dazu wurden 379 Patienten Blutproben entnommen, durch Messung des Kreatinins in 5 Gruppen bzw. Nierenfunktionsstufen eingeteilt und dann auf Einfluss von Kalium, Hämoglobin und den Co-Variaten Alkohol und Nikotin auf antioxidative Kapazität und Entzündungszeichen untersucht.
Stellvertretend für die antioxidative Kapazität stehen die freie, totale Reduktivkapazität (TORC) und Thiobarbitursäure-reaktive Substanzen (TBARS), die Summe der Entzündungszeichen bilden im einzelnen die Phospholipase A_2 (PLA_2), das 4-Hydroxy-Nonenal (HNE) und das Malondialdehyd (MDA).

Beim Vergleich der Gruppen, eingeteilt nach Kreatinin, zeigte sich ein deutlich höherer Wert der antioxidativen Kapazität in der Patientengruppen mit Nierenfunktion gegenüber der Gruppe unter Dialysebehandlung, wobei je nach geringerem Restgrad der Nierenfunktion sich auch die antioxidative Kapazität mindert.
Um die Korrelation der oxidativen Kapazität mit der zweiten Funktionsweise der Niere zu untersuchen, stellten wir die Funktionsstufen hinsichtlich des Hämoglobins gegenüber. Dabei zeigte sich zwar bei TORC nur eine Tendenz, keine überdurchschnittliche Absenkung in der Dialysegruppe. Anders bei den Entzündungsmarkern: bei ihnen zeigt sich wie bei der Untersuchung mit Kreatinin eine signifikante Erhöhung in den nierenfunktionellen Gruppen gegenüber der letzten Nierenfunktionsstufe V (NFS V) unter Dialyse.
Wie auch schon zuvor steigen die gemessenen Werte mit geringerer Nierenrestfunktion an.

Nachfolgend betrachteten wir noch zwei Co-Variate hinsichtlich der sich verändernden Antioxidationskapazität betrachtet: Alkohol und Nikotin.
TORC verhielt sich beide Male nur tendenziell bezüglich der Minderung von nierenfunktionellen Patienten zu denen unter Nierenersatztherapie, die Entzündungsmarker waren einheitlich signifikant angestiegen.

Ein Ausreißer durch alle Untersuchungsreihen hindurch stellte die zweite Gruppe dar. Sie lag bei TORC-Werten immer unterdurchschnittlich und unter NFS V, bei Werten von Entzündungsmarkern immer über dem Durchschnitt und über NFS V. Die Abweichung der Werte der Nierenfunktionsstufe II nimmt Einfluss auf die Signifikanz von Vergleichswerten.

Aus den vorliegenden Ergebnissen der Messreihen lässt sich zusammen mit den Daten aus der Literatur der Einfluss der Niere und der Co-Variaten auf die antioxidative Kapazität ableiten: Je intakter die exkretorische und endokrine Aktivität der Niere, desto höher die Fähigkeit des Blutes ROS entgegenzustehen.

Schlussfolgernd ergibt sich für uns, dass eine Niere mit Restfunktion der Nierenersatztherapie hinsichtlich antioxidativer Kapazität des Blutes und der entzündlichen Aktivität im Serum überlegen ist.
Für Patienten unter Dialyse ist anzuraten, eine Nierentransplantation in Erwägung zu ziehen.

Literaturverzeichnis

1 **Addolorato** G, Leggio L, Ojetti V, Capristo E, Gasbarrini A, Gasbarrini G: Effects of short-term moderate alcohol administration on oxidative stress and nutritional status in healthy males. Appetite 50: 50–56 (2008)

2 **Amanvermez** R, Demir S, Tunçel O, Alvur M, Agar E: Alcohol-induced oxidative stress and reduction in oxidation by ascorbate/L-cys/ L-met in the testis, ovary, kidney, and lung of rat. Adv Ther 22: 548–558 (2005)

3 **Anjaneyulu** M, Chopra K: Diltiazem attenuates oxidative stress in diabetic rats. Ren Fail 27: 335–344 (2005)

4 **Asmus K D**, Bonifacic M: Free radical chemistry. In: Sen C K, Packer L, Hanninen O (Hrsg) Handbook of Oxidants and Antioxidants in Exercise, 1. Aufl, Elsevier, Amsterdam, S. 3-54 (2000)

5 **Barr** J, Sharma C S, Sarkar S, Wise K, Dong L, Periyakaruppan A, Ramesh G T: Nicotine induces oxidative stress and activates nuclear transcription factor kappa B in rat mesencephalic cells. Mol Cell Biochem 297: 93–99 (2007)

6 **Boveris A,** Cadenas B: Mitochondrial production of superoxide anions and its relationship to the antimycin intensitive respiration. Federation of biotechnical societies Lett 54: 311-314 (1975)

7 **Chandan K S**: Oxidants and antioxidants in exercise. J Appl Physiol 79: 675-686 (1995)

8 **Chang** C K, Huang H Y, Tseng H F, Hsuuw Y D, Tso T K: Interaction of vitamin E and exercise training on oxidative stress and antioxidant enzyme activities in rat skeletal muscles. J Nutr Biochem 18: 39–45 (2007)

9 **Chen** R, Yang L, McIntyre T M: Cytotoxic phospholipid oxidation products. Cell death from mitochondrial damage and the intrinsic caspase cascade. J Biol Chem 282: 24842–24850 (2007)

10 **Chow C K**: Vitamin E and oxidative stress. Free Radic Biol Med 11: 215 – 232 (1991)

11 **Chu J**, Tong M, De La Monte S M: Chronic ethanol exposure causes mitochondrial dysfunction and oxidative stress in immature central nervous system neurons. Acta neuropathol 113: 659–673 (2007)

12 **Croft K**, Puddey I, Rakic V, Abu-Amsha R, Dimmitt S, Beilin L: Oxidative susceptibility of low-density lipoproteins - influence of regular alcohol use. Alcoholism Clin Exp Res 20: 980–984 (1996)

13 **Cross J**, Currier R, Torraco D, Vanderberg L, Wagner G, Gladen P: Killing of bacillus spores by aqueous dissolved oxygen, ascorbic acid, and copper ions. Appl Environ Microbiol 69: 2245–2252 (2003)

14 **Das S**, Vasudevan D: Alcohol-induced oxidative stress. Life Sci 81: 177–187 (2007)

15 **Davies K J,** Quintanilha A T, Brooks G A, Pack L: Free radicals and tissue damage produced by exercise. Biochem Biophysical Res Commun 107: 1198–1205 (1982)

16 **Deaton** C M, Marlin D J, Roberts C A, Smith N, Harris P A, Kelly F J, Schroter R C: Antioxidant supplementation and pulmonary function at rest and exercise. Equine Vet J Suppl 34: 58–65 (2002)

17 **Dianzani** M U, Ugazio G: Lipoperoxidation after carbon tetrachloride poisoning in rats previously treated with antioxidants. Chem Biol interact 6: 67–79 (1973)

18 **Fenton J**: Fenton reaction. Chem Soc (Lond) ULB Halle, Mikrofilm, S. 899-910 (1894)

19 **Gasbarrini A,** Addolorato G, Simoncini M, Gasbarrini G, Fantozzi P, Mancini F: Beer affects oxidative stress due to ethanol in rats. Dig Dis Sci 43: 1332–1338 (1998)

20 **Gündüz** F, Sentürk U K, Kuru O, Aktekin B, Aktekin M R: The effect of one year's swimming exercise on oxidant stress and antioxidant capacity in aged rats. Physiol Res 53: 171–176 (2004)

21 **Halliwell B**, Gutteridge J M: The antioxidants of human extracellular fluids. Arch Biochem Biophys 280: 1–8 (1990)

22 **Halliwell B**, Gutteridge J M: Oxygen free radicals and iron in relation to biology and medicine: some problems and concepts. Arch Biochem Biophys 246: 501–514 (1986)

23 **Halliwell B**: Antioxidants and human disease: a general introduction. Nutr Rev 55: 44-52 (1997)

24 **Gutteridge** J M, Halliwell B: Free radicals and antioxidants in the year 2000. A historical look to the future. Ann N Y Acad Sci 899: 136–147 (2000)

25 **Hellsten Y**: The role of xanthin oxidase in exercise. In: Sen C K, Hannimen O (Hrsg) Exercise and Oxygen Toxicity, 1. Aufl, Elsevier, New York, S. 211-234 (1994)

26 **Hirayama A**, Nagase S, Gotoh M, Takemura K, Tomida C, Ueda A, Aoyagi K, Terao J, Koyama A: Hemodialysis does not influence the peroxidative state already present in uremia. Nephron 86: 436-440 (2000)

27 **Hirayama A**, Nagase S, Gotoh M, Ueda A, Ishizu T, Yoh K, Aoyagi K, Terao J, Koyama A: Reduced serum hydroxyl radical scavenging activity in erythropoietin therapy resistant renal anemia. Free Radic Res 36: 1155-1161 (2002)

28 **Hodge-Bell KC**, Lee K M, Renne R A, Gideon K M, Harbo S J, McKinney W J: Pulmonary inflammation in mice exposed to mainstream cigarette smoke. Inhal Toxicol 19: 361-376 (2007)

29 **Isik A**, Koca S S, Ustundag B, Selek S: Decreased total antioxidant response and increased oxidative stress in Behcet's disease. Tohoku J Exp Med 212: 133–141 (2007)

30 **Jackson M**: Oxidative stress in skeletal muscle. In: Sen CK, Packer L, Hanninen O (Hrsg) Exercise and oxygen toxicity, 2. Aufl, Elsevier, Amsterdam, S. 57–68 (2000)

31 **Jenkins R R**: Free radikal chemistry. Sports Med 5: 156-170 (1988)

32 **Jose P J**, Slater T F: Increased concentrations of malonaldehyde in the livers of rats treated with carbon tetrachloride. Biochem J 128: 141 (1972)

33 **Kapaki** E, Liappas I, Lyras L, Paraskevas G P, Mamali I, Theotoka I:. In vivo 21: 523–528 (2007)

34 **Karamouzis** I: Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. Am J Nephrol 28: 397-404 (2008)

35 **Konopka T**, Król K, Kopeć W: Influence of tobacco smoking and periodontitis on selected factors of oxidative stress. Wiad Lek 59: 463-470 (2006)

36 **Kunt A S**, Selek S, Celik H, Demir D, Erel O, Andac M H: Decrease of total antioxidant capacity during coronary artery bypass surgery. Mt Sinai J Med 73: 777-783 (2006)

37 **Lam R Y**, Woo A Y, Leung P S, Cheng C H: Antioxidant actions of phenolic compounds found in dietary plants on low-density lipoprotein and erythrocytes in vitro. J Am Coll Nutr 26: 233-242 (2007)

38 **Lambertucci R H**, Levada-Pires A C, Rossoni L V, Curi R, Pithon-Curi T C: Effects of aerobic exercise training on antioxidant enzyme activities and mRNA levels in soleus muscle from young and aged rats. Mech Ageing Dev 128: 267-275 (2007)

39 **Leighton F**, Cuevas A, Guasch V, Pérez D D, Strobel P, San Martín A, Urzua U, Díez MS, Foncea R, Castillo O, Mizón C, Espinoza M A, Urquiaga I, Rozowski J, Maiz A, Germain A: Plasma polyphenols and antioxidants, oxidative DNA damage and endothelial function in a diet and wine intervention study in humans. Drugs Exp Clin Res 25: 133-141 (1999)

40 **Lo Presti** R, Carollo C, Caimi G: Wine consumption and renal diseases: new perspectives. Nutr 23: 598–602 (2007)

41 **Maldonado P D,** Barrera D, Rivero I, Mata R, Medina-Campos O N, Hernandez-Pando R, Pedraza-Chaverri J: Antioxidant S-allylcysteine prevents gentamicin-induced oxidative stress and renal damage. Free Radic Biol Med 35: 317-324 (2003)

42 **Manna** S K, Rangasamy T, Wise K, Sarkar S, Shishodia S, Biswal S, Ramesh G T: Long term environmental tobacco smoke activates nuclear transcription factor-kappa B, activator protein-1, and stress responsive kinases in mouse brain. Biochem Pharmacol 71: 1602–1609 (2006)

43 **Mayer J M,** Marzinzig M, Kinzl L, Brückner U, Gebhard F, Beger H G: Reduced serum total reductive capacity in lethal severe trauma. J Trauma 51: 88–91 (2001)

44 **McCord J M**: Oxygen-derived free radicals in postischemic tissue injury. N Engl J Med 312: 159–163 (1985)

45 **McCord J M**: Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. Clin Biochem 26: 351–357 (1993)

46 **Michiels C**, Raes M, Toussiant O, Remacle J: Importance of selen-glutathione peroxidase, catalase, and Cu/Zn- SOD for cell survival against oxidative stress. Free Radic Biol Med 17: 235-248 (1994)

47 **Murakami M**, Kudo I: Phospholipase A2. J Biochem 131: 285-292 (2002)

48 **Mydlík** M, Derzsiová K, Rácz O, Sipulová A, Lovásová E, Molcányiová A, Petrovicová J: Vitamin E-coated dialyzer and antioxidant defense parameters: three-month study. Semin Nephrol 24: 525–531 (2004)

49 **Nadeem A,** Raj H G, Chhabra S K: Increased oxidative stress and altered levels of antioxidants in chronic obstructive pulmonary disease. Inflammation 29: 23–32 (2005)

50 **Nair J**: Lipid peroxidation-derived etheno-DNA adducts in human atherosclerotic lesions. Mutation Res 621: 95-105 (2007)

51 **Nakatani Yoshihito,** Kudo I: Enzymes involved in arachidonic acid metabolism. Allergy 53: 1057–1061 (2004)

52 **Ohlenschläger G**: Freie Radikale, oxidativer Stress und Antioxidantien. In: Ohlenschläger G (Hrsg) Freie Radikale, oxidativer Stress und Antioxidantien: Krankheitsverursachende, präventive und reparative Prinzipien in lebenden Systemen, 2. Aufl, Ralf Reglin Verlag, Köln, S. 14-17 (2000)

53 **Olszewska M**: The effect of hemodialysis on some parameters of the antioxidant system in the blood of patients with chronic renal failure. Ann Acad Med Stetin 50: 41–52 (2004)

54 **Pawlak W**, Kedziora J, Zolynski K, Kedziora-Kornatowska K, Blaszczyk J, Witkowski P, Zieleniewski J: Effect of long term bed rest in men on enzymatic antioxidative defence and lipid peroxidation in erythrocytes. J Gravit Physiol 5: 163-164 (1998)

55 **Pawlak W,** Kedziora J, Zolynski K, Kedziora-Kornatowska K, Blaszczyk J, Witkowski P: Free radicals generation by granulocytes from men during bed rest. J Gravit Phys 5: 131-132 (1998)

56 **Pedrajas J R,** Gavilanes F, López-Barea J, Peinado J: Incubation of superoxide dismutase with malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal forms new active isoforms and adducts. An evaluation of xenobiotics in fish. Chem Biol Interac 116: 1–17 (1998)

57 **Peña A,** Meseguer I, González-Muñoz M J: Influence of moderate beer consumption on aluminium toxico-kynetics: acute study. Nutr Hosp 22: 371–376 (2007)

58 **Piao X L,** Kim H Y, Yokozawa T, Lee Y A, Piao X S, Cho E J: Protective effects of broccoli (Brassica oleracea) and its active

components against radical-induced oxidative damage. J Nutr Sci Vitaminol 51: 142–147 (2005)

59 **Pryor W A,** Porter N A: Suggested mechanisms for the production of 4-hydroxy-2-nonenal from the autoxidation of polyunsaturated fatty acids. Free Rad Biol Med 8: 541–543 (1990)

60 **Reddy P H**: Amyloid precursor protein-mediated free radicals and oxidative damage: implications for the development and progression of Alzheimer's disease. J Neurochem 96: 1–13 (2006)

61 **Romberger D J,** Grant K: Alcohol consumption and smoking status: the role of smoking cessation. Biomed Pharmacother 58: 77–83 (2004)

62 **Samouilidou E,** Grapsa E, Karpouza A, Lagouranis A: Reactive oxygen metabolites: a link between oxidative stress and inflammation in patients on hemodialysis. Blood Purif 25: 175–178 (2007)

63 **Schaur R J**: Basic aspects of the biochemical reactivity of 4-hydroxynonenal. Mol Aspects Med 24: 149–159 (2003)

64 **Schettler V**, Wieland E, Verwiebe R, Schuff-Werner P, Scheler F, Oellerich M: Plasma lipids are not oxidized during hemodialysis. Nephron 67: 42-47 (1994)

65 **Schoenberg M H,** Mayer J M, Beger H G: Phospholipase A2 - from basic research to clinical reality. Chirurg 68: 1112–1118 (1997)

66 **Sen C K,** Packer L, Hänninen O: Exercise and oxygen toxicity. Elsevier, Amsterdam New York, S. 89–126 (1994)

67 **Sener G,** Sehirli A O, Ipçi Y, Cetinel S, Cikler E, Gedik N: Chronic nicotine toxicity is prevented by aqueous garlic extract. Plant Foods Hum Nutr 60: 77–86 (2005)

68 **Siems W,** Carluccio F, Radenkovic S, Grune T, Hampl H: Oxidative stress in renal anemia of hemodialysis patients is mitigated by epoetin treatment. Kidney Blood Press Res 28: 295–301 (2005)

69 **Sjödin B,** Hellsten W Y, Apple F S: Biochemical mechanisms for oxygen free radical formation during exercise. Sports Med 10: 236–254 (1990)

70 **Snow D**: Administration of ascorbate to horses.in: Ascorbate in domestic animals. J Anim Sci 128: 99-104 (1990)

71 **Squier T C**: Oxidative stress and protein aggregation during biological aging. Exp Gerontol 36: 1539–1550 (2001)

72 **Swami S**, Suryakar A N, Katkam, R. V, Kumbar K M: Absorption of nicotine induces oxidative stress among bidi workers. Indian J Public Health 50: 231–235 (2006)

73 **Ujhelyi L,** Balla G, Jeney V, Varga Z, Nagy E, Vercellotti G M: Hemodialysis reduces inhibitory effect of plasma ultrafiltrate on LDL oxidation and subsequent endothelial reactions. Kidney Int 69: 144–151 (2006)

74 **Valentini J,** Schmitt G C, Grotto D, Santa Maria L D, Boeira S P, Piva S J: Human erythrocyte delta-aminolevulinate dehydratase activity and oxidative stress in hemodialysis patients. Clin Biochem 40: 591–594 (2007)

75 **Verlaan M,** Roelofs H M J, van-Schaik A, Wanten G J A, Jansen J B J, Peters W H M, Drenth J P H: Assessment of oxidative stress in

chronic pancreatitis patients. World J Gastroenterol 12: 5705–5710 (2006)

76 **Wurzel H,** Yeh C C, Gairola C, Chow C K: Oxidative damage and antioxidant status in the lungs and bronchoalveolar lavage fluid of rats exposed chronically to cigarette smoke. J Biochem Toxicol 10: 11–17 (1995)

77 **Yamaguchi Y,** Nasu F, Harada A, Kunitomo M: Oxidants in the gas phase of cigarette smoke pass through the lung alveolar wall and raise systemic oxidative stress. J Pharmacol Sci 103: 275–282 (2007)

78 **Yu T C,** Sinnhuber R O: An improved 2-thiobarbituric acid (TBA) procedure for the measurement of autoxidation in fish oils. J Am Oil Chem Soc 44: 256–258 (1967)

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Radikalische Energiedifferenz der Sauerstoff-Wasserstoffverbindungen in Kilokalorie/Mol 4
Abbildung 2: Wirkung von Radikalen auf Antioxidantient und Enzyme 9
Abbildung 3: Phospholipid mit Restgruppen R1 bis R3: Phosphatgruppe, Glycerol und hydrophobe Fettsäureschwänze R2 und R3 10
Abbildung 4: Phospholipid mit zugehörigen Spaltorten der verschiedenen Phospholipasen 12
Abbildung 5: Arachidonsäure ($C_20H_{32}O_2$); 304,48 g/mol 13
Abbildung 6: 4-hydroxy-2-trans-Nonenal ($C_9H_{16}O_2$) 15
Abbildung 7: Malondialdehyd ($C_{12}H_9N_4O_4$) 16
Abbildung 8: Abbauweg der Arachidonsäure, Entstehung von Malondialdehyd (MDA) 17
Abbildung 9: Patienteneinteilung in Gruppen nach Nierenfunktionsstufen, gemessen an Kreatinin 21
Abbildung 10: Mittelwert mit Standardabweichung des Kreatinins in den Nierenfunktionsstufen 25
Abbildung 11: Vergleich der gemessenen Mittelwerte mit Standardabweichungen der biochemischen Marker in den Nierenfunktionsstufen 26
Abbildung 12: Mittelwert mit Standardabweichung des Hämoglobins in den Nierenfunktionsstufen 27
Abbildung 13: Mittelwert und Standardabweichung der biochemischen Marker in den Nierenfunktionsstufe I-IV gegenüber V, orientiert am Hämoglobin 28
Abbildung 14: Mittelwert und Standardabweichung von Kalium in den Nierenfunktionsstufen 29
Abbildung 15: Mittelwert und Standardabweichung der totalen Reduktiv-Kapazität in den Nierenfunktionsstufen, orientiert am Kalium 30
Abbildung 16:Mittelwert und Standardabweichung der Phospholipase A2 in den Nierenfunktionsstufen, orientiert an Kalium 31
Abbildung 17: Mittelwert und Standardabweichung des 4-Hydroxy-Nonenal und Malondialdehyd in den Nierenfunktionsstufen, orientiert an Kalium 32

Abbildung 18: Mittelwert und Standardabweichung der totalen Reduktiv-Kapazität in den Nierenfunktionsstufen 33
Abbildung 19: Alkoholeinfluss auf Mittelwert und Standardabweichung der biochemischen Marker in den Nierenfunktionsstufen 36

Lebenslauf

PERSÖNLICHE DATEN:

Name	Steffen Gauß
Geburtsdatum / -ort	27.01.1978 / Sindelfingen
Nationalität	Deutsch
Adresse	Weidenweg 1 / 70771 Leinfelden-Echterdingen
Telefon	0711 – 9147 906
Mobil	0160 – 9649 7649
Email	steffengauss@web.de

SCHULBILDUNG & WEHRDIENST:

1984 – 1988	Decker-Hauff-Grundschule Oberjettingen
1988 – 1998	Andreae-Gymnasium Herrenberg mit Erlangung der Hochschulreife
06/1998 – 05/1999	Sanitätsregiment 10 / Horb am Neckar - mit Ausbildung zum Unfallersthelfer (Sanitätslehrgang I / Horb a.N.) - mit Ausbildung zum Krankenpflegehelfer (Sanitätslehrgang II / Bad Zwischenahn)

STUDIUM:

1999 – 2000	Vorsemester Medizin, Rheinisches Bildungsinstitut Köln
2000 – 2002	Semmelweis-Universität Budapest
2002 – 2005	Universität Ulm
2005 – 2006	Praktisches Jahr

FAMULATUREN:

03/2003	Abteilung Innere Medizin, St. Elisabethen-Krankenhaus Neuburg an der Donau
06/2004 & 02/2005	Abteilung Chirurgie, Universitätsklinikum Ulm, Allgemein- und Viszeralchirurgie
09/2005	Abteilung HNO, Universitätsklinikum Ulm, Schwerpunkt Ambulanz

PJ-TERTIALE:

08/2005 – 12/2005	Tertial Innere, Schwerpunkt Kardiologie, Göppingen
12/2005 – 04/2006	Tertial HNO, St.Gallen
04/2006 – 07/2006	Tertial Chirurgie, Schwerpunkte Viszeral-, Unfall- und Gefäßchirurgie, Rotterdam

WEITERBILDUNG:

08/2007 – 04/2009	Weiterbildung im Fachbereich HNO im Katharinenhospital Stuttgart
01/2009 – 04/2009	Fachinterne Rotation in das Pädiatrie-zentrum des Olgahospitals (Schwerpunkt Kinder-HNO-Heilkunde)
Seit 06/2009	Weiterbildung im Fachbereich Chirurgie, Allgemeinchirurgie in der Filderklinik in Filderstadt

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich allen danken, die die Vollendung meiner Promotion unterstützt und ermöglicht haben:

Mein Dank gilt **Frau Prof. Dr. med. D. Henne-Bruhns** für die Möglichkeit zur Promotion in ihrer Abteilung Chirurgie I des Universitätsklinikums Ulm.

Herrn PD Dr. med. Jens Mayer danke ich für die anspruchsvolle und interessante Promotionsthematik und den beständigen Einsatz bei der Betreuung dieses Werkes.

Für die Gespräche voller Anregungen gilt mein Dank **Frau PD Dr. Sylvia Stracke**.

Herzlichen Dank allen weiteren Unterstützern und Förderern, im Besonderen Herrn Stefan Fischer und Herrn Dipl. Ing. (FH) Sascha Giesche.

Mein besonders Dank gilt Frau Dr. med. Julia Reithmeyer, die mit ihrem sonnigen Gemüt und ihrem positiven Einfluss zur Entstehung und Vollendung dieser Arbeit beitrug.