

Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München

Abteilung für Nephrologie, Leiter: Prof. Dr. Dr. h. c. U. Heemann

C-terminales Agrinfragment (CAF) und neutrophiles Gelatinase-assoziiertes

Lipocalin (NGAL)

im Vergleich der Detektion eines akuten Kontrastmittel-induzierten

Nierenversagens nach Femoralkatheterversahren

Shanti Tzeggai

Vollständiger Abdruck der von der Fakultät für Medizin der Technischen Universität
München zur Erlangung des akademischen Grades des

Doktors der Medizin (Dr. med.)

genehmigten Dissertation.

Vorsitzender: Prof. Dr. E. J. Rummeny

Prüfer der Dissertation: 1. Priv.- Doz. Dr. M. Ph. Roos

2. Prof. Dr. Dr. h.c. U. Heemann

Die Dissertation wurde am 21.12.2016 bei der Technischen Universität München eingereicht und durch die Fakultät für Medizin am 09.08.2017 angenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
Tabellenverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Abkürzungsverzeichnis	VI
1 Einleitung	1
1.1 Aufbau und Funktion der Nieren	1
1.2 Definition und Häufigkeit des akuten Nierenversagens (ANV)	1
1.3 Klinik des akuten Nierenversagens	2
1.4 Ursachen des akuten Nierenversagens	3
1.4.1 Kontrastmittel-induziertes akutes Nierenversagen (KM-ANV)	4
1.4.2 Kontrastmittelabhängige Interventionstechniken	4
1.5 Diagnostik des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens	5
1.6 Prophylaxe und Therapie des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens	5
1.7 Aktuelle Schwierigkeiten des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens	6
1.8 Renale Funktions- und Schadensmarker	7
1.8.1 Definition von Biomarkern	7
1.8.2 Biomarker zur Evaluation von Kontrastmittel-induzierter akuter Niereninsuffizienz	7
1.8.3 Kreatinin	7
1.8.4 Cystatin-C	9
1.8.5 Neutrophile Gelatinase-assoziiertes Lipocalin NGAL	9
1.8.6 „Dilemma“ der aktuellen renalen Biomarker	10
1.8.7 C-terminales Agrinfragment CAF	10
2 Material und Methodik	12
2.1 Studiendesign	12
2.1.1 Einschlusskriterien	13
2.1.2 Ausschlusskriterien	13
2.2 Gewinnung des Probenmaterials	13
2.2.1 Blutproben	13
2.2.2 Urinproben	15
2.3 Codierungssystem	15
2.4 Bestimmung von C-terminalem Agrinfragment	16
2.5 Bestimmung von Neutrophile-Gelatinase-assoziiertem Lipocalin NGAL	18

2.6	Bestimmung von Kreatinin.....	19
2.7	Berechnung der glomerulären Filtrationsrate	19
2.8	Weitere Laborparameter.....	20
2.9	Eruierung von kardiovaskulären Risikofaktoren und Vorerkrankungen	20
2.10	Statistische Auswertung	22
2.10.1	Studienkollektiv	23
2.10.2	Untersuchung der Parameter auf Normalverteilung.....	23
2.10.3	T-Test für verbundene Variablen.....	23
2.10.4	Korrelation nach Spearman.....	23
2.10.5	Lineare Regression.....	24
3	Ergebnisse	25
3.1	Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs	25
3.1.1	Basischarakteristika.....	25
3.1.2	Koronare Risikofaktoren und Vorerkrankungen	26
3.1.3	Medikation und Laborparameter.....	27
3.1.4	Urinanalyse.....	29
3.2	Korrelationsanalyse der Biomarker CAF, NGAL und Kreatinin	30
3.2.1	Korrelation vor Kontrastmittelbelastung.....	30
3.2.2	Korrelationen nach Kontrastmittelbelastung.....	32
3.3	CAF, NGAL und Kreatinin individuell im zeitlichen Verlauf	35
3.4	Verlaufsanalysen von CAF, NGAL und Kreatinin.....	39
3.5	Verhalten von Kreatinin bei Patienten mit CAF-Anstieg nach 3-6h.....	41
3.6	Lineare Regression zur Berechnung des Serumkreatinin.....	42
3.6.1	Bestimmung von Ln-Serumkreatinin 0 mittels Ln-S-CAF 0.....	42
3.6.2	Bestimmung von Ln-Serumkreatinin 0 mittels Ln-U-CAF 0.....	43
3.6.3	Bestimmung von Ln-Kreatinin 0 mittels Ln-P-NGAL 0	44
3.6.4	Prognose des Ln-Kreatinin III mittels Ln-S-CAF I	46
3.6.5	Bestimmung von Ln-Kreatinin III mittels Ln-U-CAF III.....	47
3.6.6	Prognose des Ln-Kreatinin III mittels Ln-P-NGAL II.....	48
3.7	Patienten mit Kontrastmittel-induziertem akuten Nierenversagen	49
3.7.1	Verlaufsanalysen von CAF, NGAL und Kreatinin im ANV-Kollektiv.....	52
3.7.2	Untersuchung des ANV-Einflusses auf CAF und NGAL	53
4	Diskussion	56
4.1	CAF und die Nierenfunktion	56

4.1.1	CAF als renaler Biomarker vor KMB	56
4.1.2	CAF als renaler Biomarker nach KMB.....	58
4.1.3	Limitationen und Stärken der Studie	62
4.1.4	Probenentnahme und Aufbereitung.....	64
4.1.5	KM-ANV Kollektiv	64
4.1.6	Problematik des ANV- Kollektivs	65
4.1.7	CAF als prognostischer Faktor für KM-ANV	66
5	Zusammenfassung.....	67
6	Literaturverzeichnis	VII
	Danksagung.....	XII
	Lebenslauf	XIII

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: <i>Einschätzung des Schweregrads der ANV nach RIFLE</i>	2
Tabelle 2: <i>Gängige Definitionen des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens</i>	5
Tabelle 3: <i>Schema der zeitlichen Entnahmen für Blut- und Urinproben</i>	13
Tabelle 4: <i>Einteilung von Hypertonus und Hyperlipidämie</i>	21
Tabelle 5: <i>Stadien I bis IV der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Fontaine-Ratschow</i> .	21
Tabelle 6: <i>Stadieneinteilung I bis IV der Herzinsuffizienz nach der New York Heart Association</i>	22
Tabelle 7: <i>Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz nach der National Kidney Foundation (NKF)</i>	22
Tabelle 8: <i>Deskriptive Statistik- Basischarakteristika</i>	26
Tabelle 9: <i>Deskriptive Statistik- koronare Risikofaktoren/Vorerkrankungen</i>	27
Tabelle 10: <i>Deskriptive Statistik- Medikation</i>	28
Tabelle 11: <i>Deskriptive Statistik- Laborparameter</i>	28
Tabelle 12: <i>Urinanalyse Urinteststreifen URiSCAN®</i>	29
Tabelle 13: <i>Korrelation von CAF, NGAL und Kreatinin vor Kontrastmittelbelastung</i>	32
Tabelle 14: <i>Korrelation CAF, NGAL und Kreatinin nach Kontrastmittelbelastung</i>	35
Tabelle 15: <i>Einzelndynamik der Parameter im zeitlichen Verlauf</i>	39
Tabelle 16: <i>Individuelle Verlaufsanalyse für CAF, NGAL und Kreatinin</i>	41
Tabelle 17: <i>Bestimmung der Kreatininwerte vor Kontrastmittelbelastung mittels CAF und NGAL</i>	46
Tabelle 18: <i>Prognose des Serumkreatinin nach 24h über CAF und NGAL</i>	49
Tabelle 19: <i>Deskriptive Statistik des ANV-Kollektivs - Basischarakteristika</i>	50
Tabelle 20: <i>Deskriptive Statistik des ANV- Kollektivs - koronare Risikofaktoren und Vorerkrankungen</i>	51
Tabelle 21: <i>Deskriptive Statistik des ANV- Kollektivs – individuelle Laborparameter</i>	52
Tabelle 22: <i>Deskriptive Statistik des ANV- Kollektivs - Medikation</i>	52
Tabelle 23: <i>Individuelle Verlaufsanalyse für CAF, NGAL und Kreatinin- ANV Kollektiv</i>	53
Tabelle 24: <i>Einfluss der akuten Niereninsuffizienz auf den Verlauf von CAF und NGAL</i>	55

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Medianer Verlauf von S-CAF	36
Abbildung 2: Medianer Verlauf von U-CAF	37
Abbildung 3: Medianer Verlauf von P-NGAL	37
Abbildung 4: Medianer Verlauf von U-NGAL	38
Abbildung 5: Medianer Verlauf von Kreatinin	39
Abbildung 6: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin mittels S-CAF 0	43
Abbildung 7: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin mittels U-CAF 0	44
Abbildung 8: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin mittels P-NGAL 0	45
Abbildung 9: Lineares Regressionsmodell zur Prognose von Kreatinin nach 24h mittels S-CAF nach 3-6h	47
Abbildung 10: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin nach 24h mittels U-CAF nach 24h	47
Abbildung 11: Lineares Regressionsmodell zur Prognose von Kreatinin nach 24h mittels P-NGAL nach 8-12h	48

Abkürzungsverzeichnis

ANV	akutes Nierenversagen
ASS	Acetylsalicylsäure
BMI	Body-Mass-Index
CAF	C-terminales Agrin
CKD	chronic kidney disease
CRP	C-reaktives Protein
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HDL	high density lipoprotein
HK	Herzkatheter
HWI	Harnwegsinfekt
KHK	Koronare Herzerkrankung
KM	Kontrastmittel
KM-ANV	Kontrastmittel- induziertes akutes Nierenversagen
Krea	Kreatinin
LDL	low density lipoprotein
Ln	natürlicher Logarithmus
MDRD	Modification of diet in renal disease
n	Anzahl
NGAL	Neutrophile Gelatinase-assoziierte Lipocalin
p	Signifikanz
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
P-NGAL	Neutrophile Gelatinase-assoziierte Lipocalin im Plasma
PTA	periphere transluminale Angioplastie
PTCA	periphere transluminale Koronarangioplastie
r	Korrelationskoeffizient
R ²	Bestimmtheitsmaß
S-CAF	C-terminales Agrin im Serum
S-Krea	Serumkreatinin
β	Regressionskoeffizient beta
U-CAF	C-terminales Agrin im Urin
U-NGAL	Neutrophile Gelatinase-assoziierte Lipocalin im Urin

1 Einleitung

1.1 Aufbau und Funktion der Nieren

Die Nieren sind paarig angelegte Bauchorgane im Retroperitonealraum. Ihre wichtigste Aufgabe ist die adäquate Harnproduktion. Hierzu fließen 20-25% des Herzzeitvolumens durch beide Nieren, das entspricht einer Durchblutung von etwa 1.2 l/min. Die tatsächliche Filtration des Blutes findet in den Nephronen statt. Jede der beiden Nieren besitzt ca. 2 Millionen Nephrone, die sich aus einem Glomerulum und einem Tubulusapparat zusammensetzen. Die glomeruläre Filtrationsrate gibt das Flüssigkeitsvolumen an, das in einer bestimmten Zeit die Gesamtheit der Glomeruli durchfließt. Sie wird über die so genannte Clearance bestimmt. Die Clearance ist das Plasmavolumen, das in einer bestimmten Zeit von einem bestimmten Stoff gereinigt wird. Handelt es sich hierbei um einen frei filtrierte, weder rückresorbierten noch zusätzlich sezernierten Stoff, entspricht die Clearance der glomerulären Filtrationsrate.

Abgesehen von der Elimination harnpflichtiger Stoffe spielen die Nieren eine wichtige Rolle in der Aufrechterhaltung des Säure-Base Haushalts, des Vitamin-D Stoffwechsels, der Erythropoese, dem Wasser- und Elektrolyt-Haushalt und der Blutdruckregulation.

Störungen der Nierenfunktion werden zunächst in akut und chronisch unterteilt. Eine chronische Niereninsuffizienz bezeichnet eine dauerhafte Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate aufgrund eines irreversiblen Schadens. Das akute Nierenversagen (ANV) kann sehr schnell eintreten, zu einer chronischen Schädigung führen, aber auch reversibel sein. Auf das ANV wird im Folgenden näher eingegangen.

1.2 Definition und Häufigkeit des akuten Nierenversagens (ANV)

Das akute Nierenversagen (ANV) bezeichnet eine rasch einsetzende potentiell reversible Einschränkung der Nierenfunktion, die zur Retention harnpflichtiger Substanzen und Störungen des Elektrolyt- und Wasserhaushalts führen kann. Dabei reicht das Spektrum des akuten Nierenversagens von einer vorübergehenden leichten Beeinträchtigung der Nierenfunktion bis hin zum irreversiblen dialysepflichtigen Nierenversagen. Je nach Ursache werden prä-, intra- und postrenale Formen unterschieden. Die so genannten RIFLE-Kriterien erlauben eine Einschätzung des Schweregrads des ANV anhand des Kreatininanstiegs, der GFR und der Urinmenge.

Tabelle 1: *Einschätzung des Schweregrads der ANV nach RIFLE*

Schweregrad		Kreatininanstieg	Abfall der GFR	Urinmenge
R	Risk	> 50%	>25%	<0.5 ml/kg/h für 6h
I	Injury	>100%	>50%	<0.5 ml/kg/h für 12h
F	Failure	>200%	>75%	<0.3ml/kg/h für 24h oder Anurie für 12h
L	Loss	Kompletter Verlust der Nierenfunktion für > 4 Wochen		
E	End stage	Terminale Niereninsuffizienz		

Es wird angenommen, dass bei 5-7 % aller im Krankenhaus behandelter Patienten ein akutes Nierenversagen auftritt, das den dortigen Behandlungen zugeschrieben werden kann. Am häufigsten ist das ANV auf Boden einer prärenalen und renalen Ursache, wie z.B. eine herabgesetzte renale Perfusion und nephrotoxische Medikamente, wie nicht-steroidale Antirheumatika, Antibiotika und ACE-Hemmer (ACE, Angiotensin-Converting Enzyme) zurückzuführen. Eine weitere, wichtige Ursache sind diagnostische Applikationen von Kontrastmittel. Im Allgemeinen liegt die Inzidenz eines Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenversagens im Durchschnitt bei 1%. Bei vorbestehender Nierenfunktionsstörung liegt die Inzidenz bei 15%

1.3 Klinik des akuten Nierenversagens

Oft bleibt das ANV zunächst unerkant bzw. fehlinterpretiert, was teilweise der Breite des klinischen Bildes, aber vor allem den mangelnden frühen diagnostischen Möglichkeiten geschuldet ist. Klinisches Korrelat ist in den meisten Fällen eine Oligurie bis hin zur Anurie. Bei unauffälliger Diurese ist das ANV aktuell am zuverlässigsten aufgrund erhöhter Kreatininwerte im Serum diagnostizierbar.

Weitere Hinweise auf ein ANV können eine neu aufgetretene Hyperkaliämie, Azidose, Anämie, Ödeme, Infektanfälligkeit, Enzephalopathie und neurologische Auffälligkeiten sein. Es werden zeitlich 3 Phasen des ANV unterschieden.

- Initialphase: Die erste Phase stellt sich asymptomatisch dar.
- Phase des manifesten Nierenversagens: Die zweite Phase ist gekennzeichnet durch eine weitere Abnahme der glomerulären Filtrationsrate und einem Anstieg der Retentionsparameter. Es ist sowohl ein oligurischer, als auch ein nicht-oligurischer Verlauf möglich.
- Diuretische oder polyurische Phase: In der dritten und letzten Phase kann es zu einer vermehrten Ausscheidung von Wasser und Elektrolyten kommen.

1.4 Ursachen des akuten Nierenversagens

Prärenales ANV

Bei der prärenalen Form des ANV liegt eine verminderte Durchblutung des Nierenparenchyms vor. Gründe hierfür lassen sich in 3 Gruppen unterteilen: ein tatsächlicher Volumenmangel, eine Abnahme der kardialen Pumpleistung und Veränderungen des Gefäßtonus, wie z.B. eine systemische Vasodilatation im Rahmen einer Sepsis. Die Nieren reagieren auf die unzureichende Perfusion mit der Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (RAAS) und der vermehrten Ausschüttung des antidiuretischen Hormons ADH. Die Kompensationsmechanismen bewirken eine weitere Abnahme der Diurese. Falls die eigentliche Ursache nicht behoben wird, kann es zu einem intrarenalen Schaden kommen.

Postrenales ANV

Ursachen für das ANV, die das harnableitende System betreffen, werden dem postrenalen ANV zugeordnet und machen etwa 5% aus. Darunter fällt jede Art der Abflussstörung, wie beispielsweise angeborene Fehlbildungen, obstruierende Harnleitersteine bzw. Tumore oder neuro-urologische Probleme.

Sowohl das prärenale, als auch das postrenale ANV haben ein zunächst gesundes Nierenparenchym gemein. Der Übergang in ein intrarenales ANV geschieht, wenn die initialen Ursachen nicht behoben werden und es infolgedessen zu einem zellulären Schaden kommt. Diagnostische Optionen sind, neben Anamnese und Klinik, z.B. Urinstatus und Urinsediment, die Bestimmung der Retentionsparameter, die Sonographie und Röntgenbilder mit Kontrastmittel zur Abbildung der ableitenden Harnwege.

Intrarenales ANV

Das intrarenale ANV definiert sich u.a. über einen Untergang von Tubuluszellen aufgrund mangelnder Sauerstoffversorgung. Die abgestorbenen Tubuluszellen lösen sich aus dem Zellverband, verlegen die Tubuli und vermindern damit die Filtrationsleistung. Ätiologisch gibt es eine Reihe möglicher Gründe zu bedenken, wie z.B. Vaskulitiden, Glomerulonephritiden, eine medikamentös-toxische Induktion, Kollagenosen, Infektionen oder auch die Applikation von Kontrastmittel. Das intrarenale ANV wird vorrangig über einen Anstieg der Kreatininwerte im Serum diagnostiziert.

1.4.1 Kontrastmittel-induziertes akutes Nierenversagen (KM-ANV)

Das Kontrastmittel-induzierte akute Nierenversagen (KM-ANV) ist eine schwerwiegende iatrogene Komplikation nach Kontrastmittelgabe. Es basiert auf einem tubulären Schaden, der auf eine Akkumulation des Kontrastmittels mit akut-toxischer Wirkung auf die Tubuluszellen, zurückgeführt wird. Experimentelle Studien weisen auf eine reaktive Vasokonstriktion hin, die infolge der Ischämie zu einem zellulären Schaden führt .

Die heutzutage eingesetzten Kontrastmittel zur intravasalen Injektion sind mehrheitlich nicht-ionische, isoosmolare Substanzen, wie das Iomeprol (Handelsname Imeron 300). Der Zusammenhang zwischen der Inzidenz der KM-ANV und den physikalischen Eigenschaften der eingesetzten Kontrastmittel ist noch nicht abschließend geklärt .

Üblicherweise dient der Kreatininwert im Serum als Grundlage für die Diagnostik. Es ist der führende Biomarker zur Beurteilung der Nierenfunktion.

1.4.2 Kontrastmittelabhängige Interventionstechniken

Untersuchungen des Gefäßsystems mithilfe von Kontrastmittel sind heutzutage in vielen Fachbereichen das Verfahren erster Wahl. In der Kardiologie werden diagnostische Fragestellungen bezüglich der Herzkranzgefäße routinemäßig mit einem Katheterverfahren beantwortet . Hierzu wird meist über die rechte Femoralarterie ein feiner Kunststoffschlauch in den linken Herzventrikel vorgeschoben. Die Applikation von röntgendichtem Kontrastmittel in das Gefäßsystem unter Durchleuchtung mit Röntgenstrahlen ermöglicht dann die Beurteilung der Herzkranzgefäße im Hinblick auf Morphologie und Funktionseinschränkungen durch Engstellen oder Verschlüsse. Durchblutungsstörungen bei Verdacht auf eine periphere arterielle Verschlusskrankheit paVK der Beinarterien lassen sich ebenfalls mit einer Katheteruntersuchung diagnostizieren.

Eine notwendige Intervention, wie eine Aufweitung der Engstelle mittels Ballondilatation, oder eine Implantation einer Gefäßstütze (Stent), kann oft in derselben Sitzung vorgenommen werden.

Die Applikation von Kontrastmittel ist bislang ein unverzichtbarer Schritt im Katheterverfahren. Best et al. untersuchten den Einfluss von KM-ANV auf das Outcome bei Herzkatheter Patienten und stellten fest, dass es zu den wichtigsten Faktoren zählt, um Mortalität und Prognose zu beurteilen .

Weitere retrospektive Studien mit einem kardiologischen Kollektiv kommen zu dem Schluss, dass ein KM induziertes ANV (KM-ANV) nach Herzkatheteruntersuchungen kein passageres Geschehen ist, sondern meist die Weichen zu einer dauerhaft verschlechterten Nierenfunktion stellt. Nicht zuletzt diese Erkenntnisse über die entscheidende Rolle der Nierenfunktion für den langfristigen klinischen Verlauf betonen die Relevanz der Prävention und frühzeitigen Diagnostik des KM-ANV.

1.5 Diagnostik des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens

Die diagnostischen Mittel beschränken sich im Wesentlichen auf die wiederholte Bestimmung von Kreatininwerten im Serum. Wegweisend ist zudem eine Oligurie oder Anurie, jedoch ist eine verminderte Harnproduktion nicht zwingend zu beobachten.

Tabelle 2: Gängige Definitionen des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens

Kreatinin	Zeitraum	Harnproduktion	Quelle
Anstieg von 25% oder 0,5 mg/dl	Innerhalb 48h nach KM-Gabe	evtl. Oligurie/Anurie	Gerd Herold 2013, S.631;
Anstieg von 25% oder 0,5 mg/dl	Innerhalb 72h nach KM-Gabe	evtl. Oligurie/Anurie	European Society of Urogenital Radiology
Anstieg von $\geq 50\%$ oder 0,3 mg/dl	Innerhalb 48h nach KM-Gabe	Oligurie (<500 ml/Tag)	Acute Kidney Injury Network

1.6 Prophylaxe und Therapie des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens

Präventive Maßnahmen, wie die intravenöse Volumengabe von Natriumchlorid- oder Natriumbicarbonatlösung (NaHCO_3) oder das Pausieren bestimmter Medikamente, wie von ACE-Hemmern, nicht-steroidaler Antirheumatika oder Metformin sind mittlerweile fester Bestandteil der Vorkehrungen vor einem interventionellen Kathetervorgehen mit Kontrastmittelapplikation. Die Gabe von N-Acetylcystein kann bei Hochrisikopatienten in Betracht gezogen werden, jedoch ist der Nutzen bislang nicht endgültig gesichert. Alessandri et al. konnten zeigen, dass eine kombinierte Gabe von N-ACC mit NaHCO_3 als präventive Maßnahme sinnvoll sein kann. Eine Metaanalyse von 18 Studien bestätigte den günstigen Einfluss von NaHCO_3 auf die Nierenfunktion nach Kontrastmittelexposition.

Allerdings kann der Fortschritt in der Prävention die steigenden Inzidenzen der prädisponierenden Erkrankungen wie Diabetes mellitus und arteriellem Hypertonus nicht auffangen. Ein „Spüleffekt“ durch eine erhöhte Diurese ist die einfachste präventive Maßnahme, jedoch sind der Volumengabe vor und nach Herzkatheter Grenzen gesetzt.

Vor allem bei Patienten mit eingeschränkter kardialer Pumpfunktion oder chronischen Nierenerkrankungen kann es zu Komplikationen wie der Bildung peripherer Ödeme bis hin zur respiratorischen Insuffizienz kommen. Patienten mit akutem kardialem Geschehen, das eine sofortige Katheterisierung nötig macht, können aus Zeitmangel ebenfalls nicht von präventiven Maßnahmen profitieren. Hier greifen vor allem der sparsame Einsatz von Kontrastmittel und eine kurze Untersuchungsdauer. Auf eine schnelle und sensitive Diagnostik sind somit insbesondere Hochrisikopatienten angewiesen.

Die Therapiemöglichkeiten des KM-ANV sind eingeschränkt. Vorrangig sollte auf die weitere Applikation von KM verzichtet werden. Die Einnahme nierenbelastender Medikamente wie beispielsweise NSAR oder Aminoglykosid Antibiotika muss mit strenger Indikation erfolgen. Eine optimale Bilanzierung des Elektrolyt- und Wasserhaushalts, ein Absinken eventuell erhöhter Retentionsparameter und eine ausreichende Diurese sind die Therapieziele. Wenn eine Verbesserung der Nierenfunktion ausbleibt, kann in kritischen Situationen eine supportive Dialysetherapie helfen, der Niere die notwendige Entlastung zu gewähren.

1.7 Aktuelle Schwierigkeiten des akuten Kontrastmittel-induzierten Nierenversagens

Als Screening-Parameter der Nierenfunktion dient aktuell das Serumkreatinin. Der Anstieg von Kreatinin kennzeichnet den Funktionsverlust aufgrund eines bereits entstandenen Schadens und hat eine Latenzzeit von mindestens 24h. Eine frühzeitige Diagnostik, die bereits kleinere Schäden demaskiert bevor es zu einem Versagen kommt, ist mit Kreatinin nicht möglich. Darüber hinaus kollidiert die zeitliche Lücke in der Diagnostik im klinischen Alltag mit dem Ziel schnellerer Entlassungen und kürzerer Liegezeiten. Der nachweislich negative Einfluss eines akuten Nierenversagens auf Morbidität, Mortalität, Dauer der stationären Behandlung und Kosten für das Gesundheitssystem hat die Notwendigkeit einer zuverlässigen Früherkennung in den Vordergrund rücken lassen.

1.8 Renale Funktions- und Schadensmarker

Die Bestimmung von Troponin I/T, Myoglobin und CK-MB bieten in der Kardiologie eine Möglichkeit der schnellen und zuverlässigen Diagnostik zellulärer Schäden. Innerhalb weniger Stunden kann durch den Anstieg dieser Biomarker ein kardiales Geschehen erkannt werden ; bereits fünf bis sechs Stunden nach Ereignis erreicht die Bestimmung von Troponin I/T eine diagnostische Sensitivität von 80 %, CK-MB bis zu 90% und Myoglobin 95%. Anders in der Nephrologie. Der Standardmarker ist hier Kreatinin: ein Funktionsmarker, der eine eingeschränkte Nierenfunktion anzeigt, dies aber potentiell erst mit zeitlicher Latenz. Einen renalen, vor allem auch zuverlässigen und schnellen Schadensmarker für die Detektion eines zellulären Defekts gibt es im klinischen Alltag momentan noch nicht.

1.8.1 Definition von Biomarkern

Biomarker sind meist Proteine, die in einem bestimmten bekannten Zusammenhang mit einem endogenen Prozess stehen. Idealerweise ist die quantitative oder qualitative Bestimmung eines Biomarkers über Blut- oder Urinproben möglich. Die Aussagekraft eines Biomarkers ist stark von seiner Spezifität abhängig. Ein Anstieg des Enzyms Laktatdehydrogenase beispielsweise ist ein zuverlässiges Zeichen eines zellulären Schadens. Es ist jedoch nicht möglich, den Schaden einem bestimmten Gewebe zuzuordnen, wohingegen ein Anstieg von Troponin I auf einen myokardialen Defekt schließen lässt.

1.8.2 Biomarker zur Evaluation von Kontrastmittel-induzierter akuter Nierensuffizienz

Vielversprechende Ergebnisse erbrachten in den letzten Jahren verschiedene Biomarker wie beispielsweise Cystatin C, KIM-1 (Kidney injury molecule-1), IL-18 (Interleukin 18) oder das Neutrophile Gelatinase-assoziierte Lipocalin (NGAL). Sie sollen die frühzeitige Detektion von Nierenschäden, noch vor dem Funktionsverlust, ermöglichen.

1.8.3 Kreatinin

Kreatinin ist der führende Biomarker zur Beurteilung der Nierenfunktion. Studien bestätigen einen Zusammenhang zwischen Mortalität und Kreatininanstieg nach Herzka-

theteruntersuchungen oder Operationen am Herzen . Kreatinin ist ein Muskelabbau- produkt, das entsteht wenn Kreatininphosphat in einer exogenen Reaktion abgebaut wird. Dem Spaltprodukt Kreatinin wird bislang keine biologische Funktion zugeordnet. In der Niere wird es frei filtriert und nicht rückresorbiert. Jedoch zu einem Anteil aus dem Tubulussystem sezerniert (Verlag). Die Filtrationsrate kann von der Kreatinin- clearance deshalb überschätzt werden. Eine erhöhte Kreatininausscheidung aufgrund einer Nierenschädigung bedeutet, dass ein Funktionsverlust bereits eingetreten ist. Somit ist eine zeitnahe Detektion des Schadens vor konsekutivem Funktionsverlust nicht möglich. Die Menge an Kreatinin im Blut variiert physiologischer Weise je nach Alter, Geschlecht, Hautfarbe und individueller Muskelmasse. Zudem können fleisch- reiche Kost oder Leistungssport Kreatininwerte kurzfristig erhöhen .

Mithilfe von Kreatinin wird die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) errechnet. Idealer- weise wird zur Messung der 24h-Sammelurin benötigt. Um dies im klinischen Alltag zu umgehen, werden Näherungsformeln verwendet, die lediglich eine Messung des Se- rumkreatinins notwendig machen.

MDRD –Modification of diet in renal disease

Unter Berücksichtigung von Hautfarbe und Geschlecht scheint die MDRD- Formel be- sonders bei Patienten mit einem chronischen Nierenleiden eine zuverlässige Bestim- mung der GFR zu erlauben . Eine Verwendung bei hospitalisierten Patienten wird je- doch nicht empfohlen .

$$GFR = 186 \times \text{Serumkreatinin}^{1.154} \times \text{Alter}^{0.203} \times (0.742 \text{ falls weiblich}) \times (1.210 \text{ falls afroamerikanisch})$$

Eine Weiterentwicklung der MDRD Formel stellt die CKD-EPI- Formel (chronic kidney disease- epidemiology collaboration) dar. Sie eignet sich besser zur Abschätzung der GFR bei gesunden oder nur geringgradig erkrankten Patienten .

Cockroft-Gault- Formel

Die Näherungsformel nach Cockroft-Gault wurde in den frühen 70-er Jahren entwickelt und berechnet die Kreatinin-Clearance unter Berücksichtigung von Serumkreatinin- spiegel, Alter, Körpergewicht und Geschlecht.

Sie unterschätzt allerdings die glomeruläre Filtrationsrate, da der Anteil an tubulär se- zerniertem Kreatinin nicht berücksichtigt wird. Einheit ml/min.

$$GFR = \frac{(140 - \text{Alter}[\text{Jahre}]) \times \text{Gewicht}[\text{kg}]}{72 \times \text{Serumkreatinin}[\frac{\text{mg}}{\text{dl}}]} \times 0.85, \text{ falls weiblich}$$

1.8.4 Cystatin-C

Cystatin-C ist ein weiterer Biomarker zur Abschätzung der GFR. Es handelt sich um einen Cystein-protease Inhibitor aus der Cystatin-Superfamilie. Cystatin-C wird in fast allen kernhaltigen Zellen gebildet. Es wird frei filtriert und fast vollständig tubulär rückresorbiert, um intrazellulär abgebaut zu werden. Folglich ist die Menge an Cystatin C, die im Urin ausgeschieden wird minimal. Eine erhöhte Ausscheidung von Cystatin C kann somit hinweisend auf einen tubulären Schaden sein . Cystatin C scheint eine geringere Abhängigkeit vom Muskelstoffwechsel zu haben und hat Kreatinin gegenüber damit einen klaren Vorteil . In einer vergleichenden Studie mit NGAL zur Detektion akuter Niereninsuffizienz bei septischen Patienten zeigt sich Cystatin C weniger beeinflussbar durch inflammatorische Prozesse als NGAL .

1.8.5 Neutrophile Gelatinase-assoziiertes Lipocalin NGAL

NGAL gehört zu den so genannten kelchförmigen Transportproteinen, die wasserlösliche Moleküle in die Zelle transportieren können. Es ist ein kleines Protein mit 178 Aminosäuren, welches ursprünglich in der Granula aktivierter neutrophiler Granulozyten entdeckt worden ist. Mittlerweile ist es aber auch in verschiedenen Epithelien, sowie den Tubuluszellen der Niere nachgewiesen worden. NGAL wurde zunächst als Entzündungsmarker bei bakteriellen Infektionen gehandelt; insbesondere die Unterscheidung zwischen bakterieller und viraler Ursache stand dabei im Fokus.

Allerdings konnte in mehreren Studien ein Anstieg von NGAL in Blut und Urin im Zusammenhang mit akuter Niereninsuffizienz festgestellt werden . Insbesondere für die Kontrastmittel- induzierte ANV nach minimal-invasiven Katheterverfahren am Herzen konnten signifikante Zusammenhänge zwischen NGAL-Anstieg und konsekutivem Funktionsverlust gezeigt werden . Attraktiv ist NGAL auch aufgrund seiner Anschlagzeit von lediglich zwei Stunden , da es damit im Vergleich zu Kreatinin kein leeres diagnostisches Zeitfenster von 24 Stunden aufweist. NGAL scheint ein Schadensmarker zu sein, dessen Expression intrazellulär reaktiv auf eine unspezifische Zellschädigung hochreguliert wird. Dies bedeutet, dass entzündliche Prozesse die Expression

von NGAL beeinflussen können und somit die Spezifität senken . Darüber hinaus konnte NGAL vor allem bei Patienten mit chronischen kardialen Erkrankungen nicht überzeugen, da NGAL unabhängig von der Diagnose eines ANV anstieg.

1.8.6 „Dilemma“ der aktuellen renalen Biomarker

Zusammenfassend darf festgehalten werden, dass die vorgestellten Biomarker und Ansätze zur Diagnostik eines KM-ANV vielversprechend sind, aber sie bisher aufgrund ihrer teils mangelnden Spezifität für die Niere und unbekanntem Interaktionen mit anderen Pathomechanismen im Alltag nicht überzeugen konnten. Ein weiteres Problem ist die Kontrolle der Nierenfunktion nach Nierenersatzverfahren, da eine Dialyse zur Elimination der üblichen Biomarker führt. Wünschenswert wäre demnach ein Biomarker mit einer hohen Spezifität gegenüber der Niere, der schnell anschlägt und unempfindlich gegenüber extrakorporalen Nierenersatzverfahren ist.

Noch beinahe völlig unbekannt ist die Entdeckung des Biomarkers C-terminales Agrinfragment (CAF). Es entsteht unter anderem in der Niere und gilt als aussichtsreicher Kandidat bezüglich einer zuverlässigen und frühzeitigen Detektion eines renalen Zellschadens.

1.8.7 C-terminales Agrinfragment CAF

Das C-terminale Agrinfragment ist ein Spaltprodukt von Agrin. Agrin ist ein großes Proteoglykan, das einen wesentlichen Teil der Basalmembran darstellt und dem bei der Entwicklung von neuromuskulären Endplatten eine wichtige Rolle zukommt. Es wird vom axonalen Ende eines Motoneurons freigegeben und bindet an verschiedene Rezeptoren der Skelettmuskelfaser wie Lrp4 (ein Vertreter der LDRD, Low-density lipoprotein receptor- related protein family).

Lrp4 bildet zusammen mit der Muskel-spezifischen Kinase (MuSK, gehört zu den Tyrosinkinaserzeptoren) und Agrin einen Komplex, der für die Ausbildung der neuromuskulären Endplatte notwendig ist. Zudem ist Agrin an der Organisation des Zytoskeletts und der Ausbildung von immunologischen Synapsen beteiligt .

Die Serinprotease Neurotrypsin spaltet Agrin an zwei Stellen. Es entstehen ein 90kDa Fragment und das lösliche 22kDa C-terminale Agrinfragment . Neurotrypsin ist unter anderem in der Lunge, im Gehirn und in der glomerulären Basalmembran der Niere gefunden worden. Die Spaltung von Agrin stellt im Hinblick auf die Ausbildung von

neuromuskulären Endplatten eine Form der Regulation dar. Der Signalweg, für den unter anderem die Komplexbildung mit Lrp4 und MuSK Bedingung ist, kann infolge der Spaltung nicht ausgeführt werden. Ausgehend von diesen Erkenntnissen wurde in verschiedenen Studien untersucht, inwiefern ein Ungleichgewicht im Agrin-Neurotrypsin-Stoffwechsel zu Gunsten des inaktivierenden Enzyms zum Pathomechanismus von Muskelerkrankungen beiträgt .

In tierexperimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass zelluläre Umbauprozesse im Nierengewebe einen Einfluss auf die Expression von Agrin haben . Steubl et al. untersuchten in einer prospektiven Studie mit 110 Patienten das Verhalten von CAF vor und nach einer Nierentransplantation. Sie konnten eine starke Korrelation zwischen CAF und Kreatinin feststellen ($r = 0.74$; $p < 0.001$) und darüber hinaus 19-mal höhere CAF- Konzentrationen bei Patienten im Endstadium eines chronischen Nierenleidens im Vergleich zu einem gesunden Kollektiv ($n=96$). Nach erfolgreicher Nierentransplantation war ein deutliches Absinken der anfänglich hohen CAF-Werte zu beobachten. Die Menge an CAF im Blut scheint sich in Abhängigkeit von der wiederhergestellten Nierenfunktion zu verändern. Unterstützt wird diese Schlussfolgerung von den Kreatininwerten, die sich analog zu den CAF-Werten verhielten.

In dieser Dissertation wird das diagnostische Potential von CAF als neuem Biomarker bei KM-ANV untersucht. Dafür wurde bei 199 hospitalisierten Patienten, die sich einer Untersuchung der Herzkranz- oder Beinarterien unterzogen haben der Effekt, der Kontrastmittelbelastung gemessen. Dies wurde anhand des etablierten Markers Kreatinin, NGAL sowie CAF durchgeführt und anschließend statistisch evaluiert.

2 Material und Methodik

2.1 Studiendesign

Die Studie wurde im prospektiven Design an einem einzigen Studienort, Klinikum rechts der Isar der Technischen Universität München, durchgeführt.

Die Studienteilnehmer waren ausschließlich Patienten der 1. Medizinischen Klinik und Poliklinik für Kardiologie, Angiologie, Pneumologie und internistische Intensivmedizin unter der Leitung von Univ.-Prof. Dr. med. Karl Ludwig Laugwitz. Die Grundvoraussetzung für die Studienteilnahme war ein geplantes Femoralkatheterverfahren, bei dem Kontrastmittel in das Blutgefäßsystem injiziert wurde. Insgesamt wurden 199 Patienten, die sich in stationärer Behandlung befanden bzw. über die Tagesklinik aufgenommen worden waren, in die Studie eingeschlossen. Patienten mit akuter Indikation zur Katheteruntersuchung konnten aufgrund fehlender rechtzeitiger Aufklärung nicht an der Studie teilnehmen. Es wurden 4 verschiedene Varianten der Prozedur gleichwertig akzeptiert:

1. Untersuchung der Herzkranzgefäße

- zu diagnostischen Zwecken
 - mit anschließendem Stenting
- ⇒ Periphere transluminale Koronarangioplastie (PTCA)

2. Untersuchung der arteriellen Beingefäße

- zu diagnostischen Zwecken
 - mit anschließendem Stenting
- ⇒ Periphere transluminale Angioplastie (PTA)

Die Bestimmungen der Laborparameter und Biomarker erfolgten parallel aus Blut- und Urinproben. Um Rückschlüsse auf Verlaufsmuster zu schließen, erfolgten die Probenabnahmen in fünf streng eingehaltenen Zeitintervallen, die sich insgesamt über einen Zeitraum von ca. 48 Stunden erstreckten. Die Intervalle wurden mit römischen Zahlen gekennzeichnet. Tabelle 3 gibt einen Überblick über das Schema der Probenentnahmen und die zeitlich definierten Intervalle.

Tabelle 3: Schema der zeitlichen Entnahmen für Blut- und Urinproben

Zeitraum	Blut	Mittelstrahlurin
0	vor KMB	vor KMB
I	3-6 h nach KMB	3-6 h nach KMB
II	8- 12h nach KMB	8- 12h nach KMB
III	20- 24h nach KMB	20- 24h nach KMB
IV	~4 8h nach KMB	~4 8h nach KMB

KMB Kontrastmittelbelastung

Jeder Patient wurde ausführlich sowohl mündlich, als auch schriftlich über Hintergründe, Risiken und persönliche Konsequenzen der Studie aufgeklärt.

Dem Antrag zur Genehmigung der Studie durch die Ethikkommission des Klinikums rechts der Isar war stattgegeben worden (Antragsnummer 5046/11).

Die Studie wurde im Rahmen eines internationalen Projektes, gefördert durch die EU (EUREKA Eurostars) in Kooperation mit den Firmen Neurotune/Schweiz und Microcoat/Deutschland, sowie des Physiologisches Institut der Universität Zürich/Schweiz durchgeführt.

2.1.1 Einschlusskriterien

Sowohl die diagnostisch, als auch die therapeutisch indizierten Femoralkatheterverfahren wurden gleichwertig als Grundbedingung für die Studienteilnahme akzeptiert. Unabhängig von Alter, Geschlecht und Nierenfunktion wurden alle Patienten, die ihre schriftliche Zustimmung gaben aufgenommen.

2.1.2 Ausschlusskriterien

Es kamen keine Ausschlusskriterien zur Anwendung.

2.2 Gewinnung des Probenmaterials

2.2.1 Blutproben

Bei allen Patienten wurde vor dem Katheterverfahren ein peripherer Venenverweilkatheter am linken oder rechten Arm gelegt. Bei der Anlage wurde zur Bestimmung von Blutbild und Laborparametern, als Teil der regelhaften hausinternen Voruntersuchungen, ein Serumröhrchen, ein Citratröhrchen und ein EDTA Plasmaröhrchen mit Blut befüllt. Die Bestimmung der Parameter fand im hauseigenen Institut für Klinischen Chemie und Pathobiochemie des Klinikums rechts der Isar statt, dessen Leitung Herr

Professor Dr. Peter Luppia obliegt. Verwendung in dieser Studie fanden die Laborparameter: Kreatinin, Harnstoff-N, Kalzium, Glukose, Cholesterin, Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin und C-reaktives Protein.

Zusätzlich wurden bei dieser Gelegenheit zur späteren Bestimmung von CAF ein weiteres Serumröhrchen, sowie zu späteren Bestimmung von NGAL ein EDTA Röhrchen abgenommen.

Die Blutentnahme I erfolgte 3-6 Stunden nach Kontrastmittelbelastung (KMB). Die Art der Entnahme variierte, falls der arterielle Schleusenzugang in der Leiste noch nicht vom behandelnden Arzt gezogen worden war, wurde die Proben dort entnommen. Dazu wurden zunächst 10 ml Blut mit einer Einwegspritze entnommen und verworfen, um eventuellen Verfälschungen durch das im Schlauchsystem vorhandene Flüssigkeitsvolumen, entgegenzuwirken. Im Anschluss wurden die zwei genannten Röhrchen befüllt.

Wenn kein Schleusenzugang zur Verfügung stand, wurden die Proben über den peripheren Verweilkatheter gewonnen. Hierzu wurde ebenfalls ein Volumen mittels Einwegspritze aspiriert und verworfen. Das geringe Speichervolumen des Teflonschlauchs eines Venenkatheters macht hierbei nur das Verwerfen von ca. 5 ml notwendig, um unverfälschte Konzentrationen der Blutwerte zu gewährleisten. Im Hinblick auf spätere Blutentnahmen oder auch behandlungsbedingte Gaben von Infusionen, wurde der Verweilkatheter mit ca. 5-10 ml 0,9% isotoner Natriumchloridlösung gespült.

Falls die Entnahme über einen bereits positionierten Verweilkatheter nicht möglich war, wurde das Blut, mit Einverständnis des Patienten, mittels einer Einweg-Flügelkanüle entnommen. Die Blutentnahme II erfolgte acht bis zwölf Stunden nach KMB. Es wurden wiederum Blut für je ein Serum- und ein EDTA- Röhrchen entnommen. Entweder über die Verweilkanüle oder mittels Einweg-Flügelkanüle.

Die Blutentnahme III erfolgte 20-24 Stunden und die vierte Blutentnahme IV ca. 48 Stunden nach KMB. Es wurde exakt wie bei der zweiten Blutentnahme vorgegangen. Es handelte sich durchgehend um Monovetten, die Befüllung folgte dem Aspirationsprinzip.

Im Anschluss wurde das Blut 15 Minuten mit 2500 Umdrehungen pro Minute zentrifugiert und mithilfe einer Laborpipette je 1.5 ml in 3 Probenröhrchen¹ mit 2 ml Fassungs-volumen, pipettiert. Die Probenröhrchen wurden sofort bei -20 °C tiefgefroren und innerhalb einer Woche in einen -80°C kalten Gefrierschrank transferiert. Der Ablauf der Arbeitsschritte wurde für alle fünf Abnahmezeitpunkte beibehalten.

2.2.2 Urinproben

Zur Bestimmung von CAF und NGAL im Urin wurden die Patienten aufgefordert Urinproben abzugeben. Analog zu den Blutproben waren auch hier fünf Abnahmezeitpunkte vorgesehen. Um bakterielle Kontaminationen zu vermeiden wurden die Studienteilnehmer ausführlich über die Relevanz des Mittelstrahlurins aufgeklärt. Der Urin wurde in einem sterilen Einwegbecher gesammelt. Die erste Probe vor KMB wurde zusätzlich sofort mit einem Urinteststreifen (Uriscan®) quantitativ auf ihren Gehalt an Eiweiß, Glukose, Nitrit, Leukozytenzahl und Erythrozytenzahl analysiert. Eine Leukozyturie in Kombination mit einem positiven Nitritnachweis wurde als Hinweis auf einen Harnwegsinfekt gewertet

Danach wurde der Urin in herkömmliche Urinmonovetten (10 ml Volumen) aufgezogen und mit 2500 Umdrehungen pro Minute 15 Minuten zentrifugiert.

Anschließend wurden je 1.5 ml mit einer Laborpipette in 3 Probenröhrchen mit 2 ml Fassungs-volumen, pipettiert. Die Probenröhrchen wurden sofort bei -20 °C tiefgefroren und innerhalb einer Woche in einen -80°C kalten Gefrierschrank transferiert. Der Ablauf der Arbeitsschritte wurde für alle fünf Abnahmezeitpunkte beibehalten.

2.3 Codierungssystem

Jeder Studienteilnehmer wurde mithilfe einer dreistelligen Ziffer 001-199 pseudoanonymisiert. Diese Ziffernfolge wurde durchgängig, sowohl bei der Verarbeitung der Proben, als auch bei der statistischen Analyse als Patientencode, beibehalten. So findet sich auf jedem einzelnen Proberöhrchen eine dreistellige Nummer, gefolgt von einem großen „S“ für Serum, groß „P“ für Plasma oder groß „U“ für Urin. Vervollständigt wurde

¹ Cryovials, 2 ml, steril, kompatibel für -80°C, Biozym Scientific GmbH

die Beschriftung mit einer römischen Zahl I, II III oder IV um den Zeitpunkt der Entnahme zu definieren. Proben, die vor Kontrastmittelbelastung gewonnen wurden, tragen statt der römischen Ziffer eine „0“.

Beispiele:

Teilnehmer 28 wurde nach 8-12 Stunden ein Serumröhrchen Blut entnommen. Das Probenröhrchen trägt demnach die Aufschrift: 028/S/II

Teilnehmer 156 hat vor Katheteruntersuchung eine Urinprobe abgegeben. Das Probenröhrchen trägt demnach die Aufschrift: 156/U/0

2.4 Bestimmung von C-terminalem Agrinfragment

Die quantitative Bestimmung von C-terminalem Agrinfragment wurde mittels eines antikörperbasierten Nachweistests durchgeführt. Der Enzyme-Linked Immuno Sorbent Assay ELISA wurde von der Schweizer Firma Neurotune speziell entwickelt, um CAF in menschlichem Serum oder Urin zu detektieren und quantifizieren.

Die pseudoanonymisierten Serum- bzw. Urinproben der 199 Studienteilnehmer wurden zur Analyse an die Schweiz versandt. Um ein Auftauen der -80°C kalten Proben während des Transports zu verhindern, wurde Trockeneis eingesetzt.

Die folgende Beschreibung bezieht sich auf die Analyse der Serum- und Urinproben mit dem NTCAF ELISA Kit der Firma Neurotune .

Schritt 1

Die tiefgefrorenen Proben wurden 10 Minuten bei 37°C aufgetaut, anschließend kurz gevortext und mit 14 000g 2 Minuten lang zentrifugiert. In eine LoBind Proteinplatte mit 8x12 Vertiefungen (Fassungsvolumen 500µl) wurden jeweils 50 µl eines Inkubationspuffers gegeben und jeweils 50µl Serum hinzugefügt. Alle Proben wurden im Duplikat gemessen. Die ersten 2x8 Vertiefungen dienten der Standardreihe zur späteren Kalibration und wurden lediglich mit 50µl Inkubationspuffer gefüllt.

Schritt 2

Die Standardreihe wurde hergestellt indem zunächst die CAF Kalibrierungslösung seriell in 3 Schritten von einer 400 nanomolaren zu einer 400 pikomolaren Lösung mit einem Verdünnungspuffer, verdünnt wurde. Diese Lösung diente der Herstellung einer

8-stufigen Verdünnungsreihe mit folgenden Konzentrationen: 0, 20, 80, 140, 200, 260, 320 und 380 pm.

In die ersten 2x8 Vertiefungen der Platte wurde nun jeweils eine Konzentrationsstufe hinein pipettiert.

Schritt 3

Die Platte wurde 30 Minuten in einem 56°C heißen Wasserbad inkubiert. Während dieses Vorgangs entwickelte sich ein Niederschlag in den Serumproben. Nach einer weiteren Zentrifugation mit 3000g für eine Dauer von 5 Minuten bei Raumtemperatur wurden vorsichtig 10µl des klaren Überstands in eine ELISA Mikrotiterplatte pipettiert. Diese Platte war mit einem gegen CAF gerichteten Antikörper, ein so genannter „Catcher“ beschichtet, in alle 8x12 Vertiefungen wurden 90 µl Verdünnungslösung pipettiert, so dass eine Verdünnung von 1:10 vorlag. Für eine adäquate Bildung von Immunkomplexen wurde eine Inkubationszeit von 16 Stunden bei Raumtemperatur angesetzt.

Schritt 4

Die ungebundenen Bestandteile wurden entfernt, indem jede Vertiefung dreimal mit einer speziellen Pufferlösung gespült wurde. Im Anschluss wurden 100µl einer zweiten Antikörperlösung hinzugefügt. Dieser so genannte Detektionsantikörper bindet ebenfalls CAF, so dass ein Art „Sandwich“ entstand: Erste Schicht „Catcher“ Antikörper, dann CAF in der Mittelschicht, gefolgt von der dritten Schicht mit dem Detektionsantikörper. Es folgte eine 30-minütige Inkubation bei Raumtemperatur und möglichst dunklen Lichtverhältnissen.

Schritt 5

Die ungebundenen Bestandteile wurden zunächst wieder entfernt, indem jede Vertiefung dreimal mit einer speziellen Pufferlösung gespült wurde. Um das Ergebnis sichtbar zu machen, wurden nun 100µl einer Meerrettichperoxidase (HRP, von engl. Horseradish peroxidase)-haltigen Lösung in jede Vertiefung gegeben. Dieses so genannte „Reporterenzym“ bindet an den Detektionsantikörper. Nach 30-minütiger Inkubation bei Raumtemperatur werden die überschüssigen Bestandteile entfernt, indem jede Vertiefung dreimal mit einer speziellen Pufferlösung gespült wurde.

Schritt 6

Zuletzt wurden 100µl einer 3, 3', 5, 5'-Tetramethylbenzidin (TMB) haltigen Lösung in jede Vertiefung aliquotiert. Die anschließende 30-minütige Inkubation fand bei Raumtemperatur und Ausschluss von Licht statt. Die enzymatische Reaktion wurde nach 30 Minuten gestoppt und die Konzentration des Farbstoffes photometrisch bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Die Konzentration von CAF wurde rechnerisch mit dem Lambert-Beerschen Gesetz aus den gemessenen Konzentrationen des umgesetzten Farbstoffes bestimmt. Alle Vorgänge wurden in abgedunkelten Räumen bei Temperaturen zwischen 15- 25°C vorgenommen. Die Reagenzien wurden auf Zimmertemperatur gebracht. Der Messbereich des Assays lag bei 20pM bis 380pM. Die Ergebnisse wurden im Anschluss in ng/ml ($1\text{pM} \times 0,02 = 1\text{ng/ml}$) umgerechnet, um einen Vergleich mit anderen Studien zu erleichtern.

2.5 Bestimmung von Neutrophile-Gelatinase-assoziiertem Lipocalin NGAL

Der quantitative Nachweis von NGAL im Plasma und Urin wurde in Zusammenarbeit mit dem Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikum rechts der Isar unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. Peter Luppä durchgeführt.

Es wurde das „NGAL Test Reagent Kit (Reagenz-Set)“ der Firma Bioporto verwendet. Das Testverfahren entspricht einem Immunoassay mit anschließender Photometrie und wurde mit einem vollautomatischen klinisch-chemischem Analysegerät, dem Cobas 8000, durchgeführt.

Schritt 1

Die tiefgefrorenen Plasmaproben der 199 Patienten wurden ca. 1h bei Zimmertemperatur aufgetaut. Um den Cobas 8000 für die Messungen verwenden zu können, musste das Probenmaterial aus den Cryovials in Reagenzgläser der Standardgröße pipettiert werden.

Schritt 2

Die vollständig aufgetauten Proben wurden 3-5s gevortext, dann wurden jeweils 50 µl mit üblichen Mikroliterpipetten in ein Reagenzglas aliquotiert. Anschließend konnten jeweils 5 der Reagenzgläser in einem so genannten Rack, einer Ladekassette, platziert werden.

Schritt 3

Die Reagenzien R1 und R2 wurden gebrauchsfertig geliefert. Es wurde eine 6-Punkt Kalibration durchgeführt: 5 Kalibratoren mit

- 150 ng/ml
- 600 ng/ml
- 1500 ng/ml
- 3000 ng/ml
- 5000 ng/ml
- Aqua dest.

Bei jedem Reagenzienwechsel wurde erneut eine Kalibrierung vorgenommen.

Schritt 4

Zur Kontrolle der Messergebnisse wurden ebenfalls gebrauchsfertige NGAL Proben mit bekannten NGAL Konzentrationen verwendet. Bei jedem Reagenzienwechsel wurden 12 Kontrollen gefahren. Insgesamt konnten pro NGAL Test Kit somit 72 Proben analysiert werden. Die Ergebnisse wurden als einfache Ausdrücke ausgehändigt. Das gebrauchsfertige Reagenz kann NGAL Konzentrationen in einem Bereich von 25-5000 ng/ml messen. Aus technische Gründen wurden alle Testergebnisse >25 mit 24.9 gleichgesetzt.

2.6 Bestimmung von Kreatinin

Die Bestimmung von Kreatinin im Serum erfolgte nach enzymatischer Methode. Kreatinin wird mit Hilfe von Kreatininkinase nach mehreren Zwischenschritten zu Glycin, Formaldehyd und Wasserstoffperoxid. In weiteren Reaktionen entsteht letztlich Chinoniminfarbstoff, dessen Farbintensität direkt proportional zur initialen Kreatininkonzentration ist.

2.7 Berechnung der glomerulären Filtrationsrate

In dieser Studie wurde die GFR aller Patienten mit der Methode nach Cockcroft Gault berechnet. Die hausinterne Bestimmung der GFR durch das Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikum rechts der Isar erfolgte über zwei unterschiedliche Formeln, die in Abhängigkeit von Patientenalter und Nierenfunktion angewandt

wurden. Um die Werte der GFR innerhalb des Patientenkollektivs vergleichen zu können, wurde die GFR einheitlich für alle Studienteilnehmer mit der Näherungsformel nach Cockcroft-Gault berechnet. Sie wurde in den frühen 70-iger Jahren entwickelt und berechnet die Kreatinin-Clearance unter Berücksichtigung von Serumkreatininspiegel, Alter, Körpergewicht und Geschlecht. Einheit ml/min. Die Kreatininclearance wurde in dieser Studie der glomerulären Filtrationsrate gleichgesetzt.

$$GFR = \frac{(140 - \text{Alter}[\text{Jahre}]) \times \text{Gewicht}[\text{kg}]}{72 \times \text{Serumkreatinin}[\frac{\text{mg}}{\text{dl}}]} \times 0,85, \text{ falls weiblich}$$

2.8 Weitere Laborparameter

Die Parameter: Kalzium, Harnstoff-N, Nüchtern-Glukose, c-reaktives Protein, Gesamtcholesterin, Triglyzeride, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin wurden der routinemäßigen Laborkontrolle entnommen, die bei jedem Patienten vor Katheterverfahren durchgeführt wurde.

2.9 Eruiierung von kardiovaskulären Risikofaktoren und Vorerkrankungen

Arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie und Diabetes mellitus

Sowohl die Diagnose eines pathologisch erhöhten Blutdrucks, einer Hyperlipidämie, als auch die Diagnose eines Diabetes mellitus wurde den kardiologischen Aufnahmebögen entnommen.

Laut der Weltgesundheitsorganisation ist eine arterielle Hypertonie ab systolischen Blutdruckwerten ≥ 140 mmHg und/oder diastolischen Werten ≥ 90 mmHg definiert. Bei der Diagnosestellung einer Hyperlipidämie erfolgte keine weitere Differenzierung zwischen Hypercholesterinämie, Hypertriglyzeridämie, Dyslipoproteinämie und kombinierten Störungen.

Die Diagnose eines Diabetes mellitus umfasst die Typen 1, 2 und andere Diabetesformen. Es erfolgte eine detaillierte Differenzierung der Therapieoptionen, indem zwischen Gabe von oralen Antidiabetika, Insulin oder nicht medikamentöser Therapie unterschieden wurde.

Tabelle 4: Einteilung von Hypertonus und Hyperlipidämie

Hypertonus			Hyperlipidämie	
	systolisch	diastolisch		
GRAD 1	140-159 und/oder	90-99	Hypertriglyzeridämie	>200 mg/dl
GRAD 2	160-179 und/oder	100-109	Hypercholesterinämie	>200 mg/dl
GRAD 3	≥180 und/oder	≥110		

Body-Mass-Index, Blutdruck und Puls

Der Body-Mass-Index (BMI) wurde aus Körpergröße und Gewicht ermittelt.

$$BMI = \frac{\text{Gewicht [kg]}}{\text{Körpergröße}^2 \text{ [m]}}$$

Die Blutdruck- und Pulsmessung erfolgte im Rahmen der stationären Aufnahme maschinell.

Raucherstatus

Die Studienteilnehmer wurden persönlich nach ihrer Raucheranamnese befragt.

Koronare Herzkrankheit (KHK) und periphere arterielle Verschlusskrankheit (pAVK)

Dem Protokoll der Katheteruntersuchung wurde entnommen, ob eine KHK oder pAVK vorlag. Zudem erfolgte anhand der Angaben in den Protokollen eine Stadieneinteilung für die KHK: 1-Gefäß-, 2-Gefäß oder 3-Gefäßerkrankung. Für die pAVK eine Stadieneinteilung nach Fontaine-Ratschow :

Tabelle 5: Stadien I bis IV der peripheren arteriellen Verschlusskrankheit nach Fontaine-Ratschow

I	Keine Beschwerden	III	Ischämieschmerz in Ruhe
II	a Belastungsschmerz ab einer Gehstrecke >200m b Belastungsschmerz ab einer Gehstrecke <200m	IV	Zusätzlich Nekrose, Gangrän oder Ulkus

Stadieneinteilung der Herzinsuffizienz nach der New York Heart Association (NYHA).

Die Stadieneinteilung nach NYHA wurde den kardiologischen Aufnahmebögen entnommen.

Tabelle 6: Stadieneinteilung I bis IV der Herzinsuffizienz nach der New York Heart Association

I Keine Beschwerden bei normaler körperlicher Belastung	III Beschwerden bei leichter körperlicher Belastung
II Beschwerden bei schwerer körperlicher Belastung	IV Beschwerden bereits in Ruhe

Chronische Niereninsuffizienz

Die Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz erfolgte in Abhängigkeit von der glomerulären Filtrationsrate (GFR). Zur Differenzierung zwischen Stadium 0 und 1 wurde das Ergebnis der U-Stix Analyse mit einbezogen und eine Proteinurie als Korrelat eines Nierenschadens gewertet.

Patienten, die eine GFR <90 ml/min in Kombination mit einer isolierten Proteinurie aufwiesen, wurden infolge dem Stadium 1 zugeordnet.

Tabelle 7: Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz nach der National Kidney Foundation (NKF)

Stadium	GFR [ml/min]	Bedeutung
0	≥90	erhöhtes Risiko für Niereninsuffizienz
1	≥90	Nierenschädigung bei normaler Funktion
2	60-89	Nierenschädigung bei milder Niereninsuffizienz
3	30-59	Mittelschwere Niereninsuffizienz
4	15-29	Schwere Niereninsuffizienz
5	<15	Nierenversagen

2.10 Statistische Auswertung

Alle Daten wurden zunächst in einer Tabelle im Excel-Format angelegt. Weiterführende Berechnungen basierend auf den gesammelten Daten wurden mit dem Programm Microsoft Excel durchgeführt. Im Anschluss wurden die Daten zur statistischen Auswertung in das Statistik Programm IBM SPSS Statistics eingelesen. Alle verwendeten Tests (s.u.) erfolgten zu einem Signifikanzniveau von 5%.

Die statistische Auswertung erfolgte eigenständig unter der Anleitung und Betreuung durch das Institut für Medizinische Statistik und Epidemiologie des Klinikum rechts der Isar der TU München

2.10.1 Studienkollektiv

Zur deskriptiven Analyse des Studienkollektivs wurden Häufigkeitstabellen verwendet. Die Signifikanz beobachteter Unterschiede wurde mittels Man-Whitney-U Test verifiziert. Hierbei handelt es sich um einen non-parametrischen Test, der geeignet ist, um Zusammenhänge zwischen kategorialen Variablen und quantitativen Merkmalen zu untersuchen.

2.10.2 Untersuchung der Parameter auf Normalverteilung

Die Normalverteilung von Parametern ist für viele Tests eine Voraussetzung. Mittels Histogrammen und der Bestimmung von Mittelwert sowie Varianz wurden die Daten auf Normalverteilung hin untersucht und gegebenenfalls mittels natürlichem Logarithmus transformiert. Es handelt sich um eine rein mathematische Operation, die zum Teil die erforderliche Normalverteilung zum Ergebnis hat.

2.10.3 T-Test für verbundene Variablen

Der T-Test für verbundene Stichproben eignet sich, um einen Vorher-Nachher Vergleich derselben Variablen durchzuführen. Die Nullhypothese H_0 besagt hierbei:

H_0 : Es ist keine Veränderung der Mittelwerte im zeitlichen Verlauf zu erwarten. Mittelwerte der Variablen sind in der Grundgesamtheit identisch.

Die Alternativhypothese H_1 geht von einem statistisch signifikanten Unterschied aus.

H_1 : Es gibt eine zeitlich orientierte Veränderung. Mittelwerte der beiden verglichenen Variablen sind in der Grundgesamtheit nicht identisch.

2.10.4 Korrelation nach Spearman

Die Berechnung von Korrelationen zeigt die Beziehung in der zwei Merkmale zu einander stehen. Mögliche Ergebnisse sind gleichsinnige oder gegensinnige Beziehungen. Zusammenhänge zwischen normalverteilten Größen wurden mit der Korrelation nach Pearson gerechnet. Für nicht normalverteilte Merkmale wurde die Korrelation nach Spearman verwendet.

2.10.5 Lineare Regression

Die lineare Regression wurde verwendet, um lineare Zusammenhänge zwischen ausgewählten Variablen näher zu untersuchen und eine graphische Darstellung zu erstellen. Ziel ist es eine möglichst günstige Konstellation unabhängiger Variablen zu finden, die den Verlauf einer abhängigen Variable maßgeblich erklärt. Die Qualität einer linearen Regression wird anhand ihres Bestimmtheitsmaßes R^2 gemessen. Es kann Werte von 0 bis 1 annehmen und macht eine Aussage darüber welcher Anteil der abhängigen Variable durch die unabhängige Variable erklärt wird. Wenn $R^2 = 1$, kann die abhängige Variable beispielsweise zu 100% durch die unabhängigen Variablen erklärt werden.

3 Ergebnisse

3.1 Deskriptive Statistik des Gesamtkollektivs

3.1.1 Basischarakteristika

Insgesamt wurden 199 Patienten, darunter 142 Männer und 57 Frauen, in die Studie aufgenommen. Der Altersmedian betrug 72 Jahre (IQR 63-76). Der Median des Body-Mass-Index BMI lag bei 26.6 kg/m². Die Hälfte des Patientenguts hatte einen BMI zwischen 24.2 und 29.2 kg/m². Der am Tag der stationären Aufnahme gemessene Blutdruck war im medianen Mittel bei 140/70 mmHg, der Puls betrug 68/min.

Rund 11 % der Studienteilnehmer haben eine perkutane transluminale Angiographie der Beingefäße PTA erhalten. Die Untersuchung der Herzkranzgefäße PTCA überwiegt mit knapp 90% deutlich. Während die Geschlechterverteilung innerhalb der PTA Gruppe (♂12:♀10) sehr ausgewogen war, waren von der Koronarangiographie weit mehr Männer (n=130) als Frauen (n=47) betroffen.

Mit 101 interventionellen und 97 diagnostischen Kathetersitzungen herrschte im Gesamtkollektiv im Vergleich ein annäherndes Gleichgewicht. Zudem war innerhalb der beiden Gruppen Intervention vs. Diagnostik, eine ähnliche Verteilung bezüglich der Geschlechtergruppen zu beobachten. Bei jeweils 51.06 % aller männlichen und 43.86% aller weiblichen Patienten wurde keine Intervention durchgeführt.

Im medianen Durchschnitt wurden in einer Sitzung 150 ml Kontrastmittel intravenös appliziert. Die minimale Dosis betrug 70, die maximale 560 ml. Bei der Hälfte der vorgenommenen Untersuchungen wurde ein Kontrastmittelvolumen zwischen 120 und 260 ml verabreicht. Bei 10 Patienten konnte die exakte Menge an Kontrastmittel nicht ermittelt werden, so dass die Daten sich auf 189 Patienten beziehen.

Zusammenfassend konnte gezeigt werden, dass bei beiden Geschlechtern die Untersuchung der Koronargefäße häufiger durchgeführt wurde als eine Untersuchung der Beingefäße. Jedoch gibt das Geschlecht keinen Aufschluss darüber, ob eine Intervention notwendig war oder nicht. Zu beachten ist die deutliche Mehrheit an männlichen Teilnehmern im Gesamtkollektiv mit 71.4 %.

Tabelle 8: Deskriptive Statistik- Basischarakteristika

	n	(%)		Median	IQR
Männer	142	(71.4)	Alter [Jahre]	72	63-76
Frauen	57	(28.6)	BMI [kg/m²]	26.6	24.2-29.2
HK	177	(88.9)	RR systolisch [mmHg]	140	126-155
	♂ 130 ♀ 47	♂(65.3) ♀ (23.6)	RR diastolisch [mmHg]	70	62-80
PTA	22	(11.1)	Puls [S/min]	68	60-76
	♂12 ♀ 10	♂(6) ♀(5)			
Intervention	101	(50.8)	KMV[ml]	150	120-260
	♂69 ♀32	♂(34.7) ♀ (16.1)			
Keine Intervention	98	(49.2)			
	♂73 ♀25	♂(36.7) ♀(12.6)			

n, Anzahl; HK, Herzkatheteruntersuchung; PTA, Untersuchung der Beinarterien; IQR, Interquartilsabstand, 25.-75. Quartile; RR, Blutdruckmessung nach Riva- Rocci; BMI, Body-Mass-Index; KMV, Kontrastmittelvolumen.

3.1.2 Koronare Risikofaktoren und Vorerkrankungen

In Bezug auf das kardiovaskuläre Risikoprofil hatten 53 (26.6%) Patienten einen Diabetes mellitus, von denen 31 mit oralen Antidiabetika und 16 mit Insulin als Mono- bzw. Kombinationstherapie behandelt wurden. Anamnestisch konnte bei 175 (87.9%) Studienteilnehmern ein arterieller Hypertonus festgestellt werden. (Tabelle 10 gibt einen Überblick über die jeweilige Medikation). Eine Hyperlipidämie wiesen 161 der Patienten auf, 145 wurden mit Statinen behandelt.

48 (24.1%) waren aktive Raucher, 54 (27.1%) hatten in der Vergangenheit geraucht und fast die Hälfte (48.7%) waren Nichtraucher. 159 (79.9%) aller Patienten litten unter einer koronaren Herzerkrankung. In 10.1% der Fälle handelte es sich hierbei um eine 1-Gefäßerkrankung, in 27.6% der Fälle um eine 2-Gefäßerkrankung und in 42.2 % der Fälle um eine 3-Gefäßerkrankung.

Bei 20% bestand die Diagnose einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit pAVK. Darunter fiel die Hälfte (10%, n=20) dem Stadium IIb zu. Jeweils 8 Patienten (4%) wiesen ein Stadium I bzw. Stadium IIa auf. Sowohl dem Stadium III, als auch dem Stadium IV wurden jeweils 2 Patienten (1%) zugeordnet.

Des Weiteren wurde eine quantitative Bestimmung der Proteinurie mittels Urinteststreifen durchgeführt, um in Verbindung mit der glomerulären Filtrationsrate eine Stadieneinteilung betreffend eines chronischen Nierenleidens (CKD, chronic kidney disease) vornehmen zu können. Nach der National Kidney Foundation (www.kidney.org) werden in Abhängigkeit von der glomerulären Filtrationsrate, 6 Stadien unterschieden (s.2.9) Die Beurteilung fiel wie folgt aus: 44 Patienten im Stadium 0, 8 im Stadium 1, 88 im Stadium 2, 51 im Stadium 3, 6 im Stadium 4 und 2 Patienten im Stadium 5. 184 litten unter einer Herzinsuffizienz, dies entsprach einem prozentualen Anteil von 94.4. Davon fielen 36.9% (n=72) dem Stadium I zu, 35.4% (n=69) dem Stadium II, 21% (n=41) dem Stadium III und 1% (n=2) dem Stadium IV.

Tabelle 9: Deskriptive Statistik- koronare Risikofaktoren/Vorerkrankungen

	n	(%)		n	(%)
KHK	159	(79.9)	CKD	199	(100)
1-Gefäß	20	(10.1)	Stadium 0	44	(22.1)
2-Gefäß	55	(27.6)	Stadium I	8	(4)
3-Gefäß	84	(42.2)	Stadium II	88	(44.2)
PAVK	40	(20)	Stadium III	51	(25.6)
I	8	(4)	Stadium IV	6	(3)
Ila	8	(4)	Stadium V	2	(1)
IIb	20	(10)			
III	2	(1)			
IV	2	(1)			
NYHA	184	(94.4)	Art. Hypertension	175	(87.9)
I	72	(36.9)	Hyperlipidämie	161	(80.9)
II	69	(35.4)	Diabetiker	53	(26.6)
III	41	(21.0)	Raucher	48	(24.1)
IV	2	(1)	Ex-Raucher	54	(27.1)

KHK, koronare Herzerkrankung; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; CKD, chronisches Nierenleiden; NYHA, New York Heart Association;

3.1.3 Medikation und Laborparameter

Die Mehrheit der Patienten wurde mit einer dauerhaften Medikation behandelt. 50.8% (n=101) nahmen Diuretika ein, 72.9% (n=145) β -HMG-Reduktase-Inhibitoren. 74.4% (n=148) wurden mit Antihypertensiva (Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitor und Angiotensin- Rezeptorblocker) und 75.9% (n=151) β -Blocker therapiert. Knapp 78%

(n=155) nahmen Acetylsalicylsäure (ASS) ein. Etwa jeder 8. Studienteilnehmer (n=25) nahm zur therapeutischen Antikoagulation Phenprocoumon (Marcumar®) ein. 43 (21,6%) Patienten wurden mit Calciumantagonisten behandelt.

Bei der Analyse der Laborparameter ergaben sich weitgehend mediane Mittelwerte im Referenzbereich. Das Serumkreatinin lag bei 1 mg/dl, die errechnete Clearance bei 71.3 ml/min und Harnstoff-N bei 17 mg/dl (s. Tabelle 11).

Der mediane Kalziumspiegel 2.39 mmol/l und Interquartilsabstand lagen im Referenzbereich (n=175). Das C-reaktive Protein war im Mittel (0.2 mg/dl) normwertig (n=186). Für den Blutzuckerspiegel ergab sich ein Median von 109 mg/dl (n=180). Die Blutfettwerte lagen bei mindestens der Hälfte der Patienten im Referenzbereich. (Unter Berücksichtigung des hohen kardiovaskulären Risikoprofils im Kollektiv wurde für das LDL-Cholesterin ein Referenzbereich von <100 mg/dl gewählt.)

Tabelle 10: Deskriptive Statistik- Medikation

	n	(%)		n	(%)
Diuretikum	101	(50.8)	β-Blocker	151	(75.9)
Statine	145	(72.9)	ASS	155	(77.9)
ACE-Hemmer/ARB	148	(74.4)	Marcumar	25	(12.6)
Orale Antidiabetika	31	(15.6)	Ca++ Antagonist	43	(21.6)
Insulin	16	(8)			

n, Anzahl; ACE-Hemmer/ARB, Angiotensin-Converting-Enzyme-Inhibitor/Angiotensin-Rezeptorblocker

Tabelle 11: Deskriptive Statistik- Laborparameter

Laborparameter	Median	IQR	Referenzbereich	Laborparameter	Median	IQR	Referenzbereich
Kreatinin [mg/dl]	1	0.8-1.2	0.7-1.3	Kalzium [mmol/l]	2.39	2.32-2.44	2.2-2.65
Clearance [ml/min]	71.3	56.6-92.4	> 60	CRP [mg/dl]	0.2	0.1-0.5	<0.5
P-NGAL [ng/ml]	89.1	66.3-120.5	unbekannt	Glukose [mg/dl]	109	98-127	70-110
U-NGAL [ng/ml]	25.4	24.9-53.4	unbekannt	Cholesterin gesamt	187	162-218	140-240
S-CAF [ng/ml]	1.77	1.34-2.36	unbekannt	HDL [mg/dl]	50	41-61	> 40
U-CAF [ng/ml]	2.06	0.82-4.76	unbekannt	LDL [mg/dl]	105	80-132	<100*
Harnstoff-N [mg/dl]	17	15-22	7-18	Triglyzeride [mg/dl]	122	89-181	70-200

IQR, Interquartilabstand; HDL, high-density lipoprotein; LDL, low-density lipoprotein; *Referenzbereich der Sekundärprävention bei Atherosklerose bzw. koronarer Herzerkrankung, gesunde Patienten < 160 mg/dl

3.1.4 Urinanalyse

Tabelle 12: Urinanalyse Urinteststreifen URiSCAN®

	n	(%)		n	(%)
Glukose [mg/100 ml]	8	(4)	Protein [mg/100 ml]	33	(16.6)
≥ 2000	2	(1)	300	1	(0.5)
500	1	(0.5)	100	2	(1)
250	3	(1.5)	30	16	(8)
100	2	(1)	10	14	(7)
Blut [RBC/μl]	7	(3.5)	Leukozyten [WBC/μl]	27	(13.6)
250	1	(0.5)	500	11	(5.5)
50	1	(0.5)	75	12	(6)
10	5	(2.5)	25	4	(2)
Nitrit positiv	5	(2.5)	Harnwegsinfektion	5	(2.5)

n, Anzahl; WBC, white blood cell count; RBC, red blood cell count

Die Analyse des Urins mittels Urinteststreifen URiSCAN® vor Kontrastmittelexposition ergab eine Glukosurie bei 8 Patienten (4%), eine Proteinurie bei 33 Patienten (16.6%) und Hämaturie bei 7 Patienten (3.5%). Eine Leukozyturie konnte bei 27 Patienten nachgewiesen werden und kann ein Hinweis auf einen Harnwegsinfekt (HWI) sein. Aufgrund der differentialdiagnostischen Möglichkeiten für eine Leukozyturie, wie z.B. Gonorrhoe, Reiter-Syndrom oder Fluor wurde eine Harnwegsinfektion erst in Kombination mit einem positiven Test auf Nitrit als Nachweis akzeptiert. Bei 5 Patienten

wurde ein HWI diagnostiziert. Bei 7 der 199 Studienteilnehmer konnte kein Urin zur Analyse gewonnen werden.

3.2 Korrelationsanalyse der Biomarker CAF, NGAL und Kreatinin

3.2.1 Korrelation vor Kontrastmittelbelastung

Die folgenden Korrelationen beziehen sich ausnahmslos auf die Ausgangswerte der Patienten vor Kontrastmittelbelastung (KMB). Es sollen Zusammenhänge zwischen den Parametern aufgezeigt werden. Um das Kriterium der Normalverteilung zu umgehen, wurden die Korrelationen nach Spearman berechnet.

Das Ergebnis der Korrelation zwischen CAF und Kreatinin im Blut war hochsignifikant ($p < 0.01$). Mit einem deutlich positiven r von 0.5 durfte von einem gleichsinnigen Zusammenhang zwischen den beiden Parametern ausgegangen werden. Patienten mit höheren Kreatininwerten tendierten folglich zu ebenfalls höheren CAF-Werten.

Die Korrelation U-CAF vs. Kreatinin wies mit 0.16 einen schwachen Koeffizienten auf, die jedoch ebenfalls signifikant war $p = 0.04$. Zwischen NGAL und Kreatinin im Blut bestand ein hochsignifikanter ($p < 0.01$) und gleichsinniger Zusammenhang, $r = 0.5$.

U-NGAL und Kreatinin korrelierten schwach negativ mit $r = -0.03$ ($p = 0.64$).

Während die Blutparameter P-NGAL und S-CAF somit vergleichbare Resultate in der Korrelationsanalyse mit Kreatinin aufwiesen, bestanden zwischen den Urinparametern große Unterschiede.

Der höchste Korrelationskoeffizient unter allen Analysen vor Kontrastmittelgabe, ergab sich zwischen S-CAF und der glomerulären Filtrationsrate GFR, $r = -0.59$. Mit steigendem CAF-Werten im Blut, sank die GFR ab, $p < 0.01$. Die Korrelation zwischen U-CAF und der Nierenfunktion ist statistisch nicht signifikant ($p = 0.13$). Der Korrelationskoeffizient ist negativ und mit -0.12 sehr schwach.

Es bestand ein hochsignifikanter ($p < 0.01$) negativer Zusammenhang zwischen P-NGAL und der Nierenfunktion mit $r = -0.42$. Die Filtrationsrate sank mit steigendem NGAL im Blut.

Bei der Untersuchung von NGAL im Urin vs. GFR fand sich keine statistische Signifikanz, $p = 0.06$. Der Korrelationskoeffizient $r = -0.13$ beschrieb einen sehr schwachen negativen Zusammenhang.

Zusammenfassend fiel auf, dass Analysen der Blutparameter hochsignifikante Ergebnisse erbrachten ($p=0.59$; $p<0.01$ für S-CAF/GFR, $p<0.01$; $r= -0.42$ für P-NGAL/GFR). Während bei der Analyse der Urinparameter lediglich U-CAF vs. Kreatinin ($r= 0.16$) ein signifikantes Resultat hatte ($p=0.04$). Die Urinuntersuchungen mit NGAL erbrachten in dieser Studie keine signifikanten Zusammenhänge mit den anderen Parametern. Eine direkte Analyse zwischen den Biomarkern S-CAF und P-NGAL im Blut zeigte einen hochsignifikanten Zusammenhang mit $r=0.407$ Im Urin hatte die Korrelation zwischen den beiden Parametern keine statistische Signifikanz ($p= 0.8$). Der Korrelationskoeffizient betrug mit -0.019 annähernd Null.

Tabelle 13: Korrelation von CAF, NGAL und Kreatinin vor Kontrastmittelbelastung

KORRELATION		r	p	n
S-CAF	Kreatinin	0.5	<0.01	196
U-CAF	Kreatinin	0.16	0.04	172
P-NGAL	Kreatinin	0.5	<0.01	194
U-NGAL	Kreatinin	-0.03	0.64	193
S-CAF	GFR	-0.59	<0.01	196
U-CAF	GFR	-0.12	0.13	172
P-NGAL	GFR	-0.42	<0.01	194
U-NGAL	GFR	-0.13	0.06	193
S-CAF	P-NGAL	0.41	<0.01	193
U-CAF	U-NGAL	-0.02	0.8	170

r, Korrelationskoeffizient; p, Signifikanz; n, Anzahl

3.2.2 Korrelationen nach Kontrastmittelbelastung

Im folgenden Abschnitt wurden die Parameter im Verlauf nach Kontrastmittelbelastung analysiert. Mittels Korrelation nach Spearman wurde die Art und Stärke der Zusammenhänge untersucht.

Für Analysen mit Serumkreatininwerten nach 20- 24h (Krea III) standen Werte von 99 Patienten zur Verfügung.

S-CAF

Die Zusammenhänge zwischen den CAF-Verlaufswerten im Blut und Krea III hatte p-Werte <0.01.

Lediglich die Korrelation zwischen S-CAF II und S-Krea III hatte eine Signifikanz von 0.03. Es handelte sich um gleichsinnige Zusammenhänge. Der höchste Korrelationskoeffizient r errechnete sich für S-CAF IV und S-Krea III mit 0.95 (n=8; p<0.01). Unter Berücksichtigung der eingeschlossenen Anzahl an Werten ist vor allem die Korrelation S-CAF I und S-Krea III mit r=0.45 hervorzuheben (n= 96; p<0.01).

Damit zeigte sich, dass höhere Werte für S-CAF mit höheren Kreatininwerten vergesellschaftet waren.

U-CAF/ Krea III

Durchweg zeigte sich je mehr CAF im Urin, desto höher war der Serumkreatininwert. Die CAF Ausscheidung nach 3-6h zeigte einen schwach positiven Zusammenhang,

$r=0.11$ ($p=0.37$). CAF Spiegel nach 8- 12h belegten eine stärkere Korrelation $r= 0.27$ ($p=0.04$). Nach 20-24h war die Korrelation am stärksten, $r= 0.41$ ($p<0.01$; $n=78$).

Es fiel auf, dass Zusammenhänge mit CAF III sowohl aus Serum, als auch aus Urin, gleichstarke Koeffizienten mit jeweils $r= 0.41$ boten. Signifikanz in beiden Fällen $p<0.01$.

P-NGAL

Das Neutrophile-Gelatinase-assoziierte Lipocalin NGAL im Plasma und Serumkreatinin zeigten deutlich gleichsinnige, hochsignifikante Zusammenhänge mit Korrelationskoeffizienten von mindestens 0.5. Nach 3-6h war ein deutlicher Zusammenhang mit $r=0.5$ ($p<0.01$) nachweisbar.

Mit $r = 0.69$ lieferte die Korrelation zwischen Krea III und P-NGAL II nach 8- 12h den höchsten Koeffizienten, $p<0.01$ ($n=37$). Nach 20-24h gemessene Werte wiesen wiederum eine schwächere Korrelation auf, $r=0.53$ ($p<0.01$).

Die NGAL-Messungen nach ca. 4 8h wiesen einen schwachen Zusammenhang auf $r=0.11$ ($p=0.9$; $n=4$).

U-NGAL

Die Ausscheidung von NGAL im Urin zeigte im Verlauf keine signifikante Korrelation mit den Serumkreatininwerten. Die Koeffizienten waren bis auf einen (U-NGAL II vs. S-Krea III, $r=0.13$) negativ und würden somit auf einen gegensinnigen Zusammenhang verweisen.

Während die Annahme, dass höhere Serumkreatininwerte mit höheren P-NGAL Werten einhergehen, von den Ergebnissen der Korrelationsanalyse unterstützt wurde, gab es keinen Hinweis darauf, dass die NGAL Ausscheidung im Urin mit den Kreatininwerten korreliert.

S-CAF und P-NGAL

Die Korrelation von CAF und NGAL im Blut bei jeweils zeitgleichen Messungen, erbrachte in den ersten 3 Zeitintervallen nach Kontrastmittelbelastung hochsignifikante Ergebnisse mit $p<0.01$. Die Korrelationskoeffizienten lagen nahe beieinander in einem positiven Bereich von 0.37-0.46, folglich tendierten Studienteilnehmer mit erhöhten

CAF-Werten zu ebenfalls höheren NGAL-Werten. Es ergab sich kein Hinweis auf einen signifikanten Zusammenhang der beiden Parameter betreffend der Werte nach 4 8h ($p=0.6$, $r=0.4$, $n=4$).

Die Korrelation mit asynchronen Messdaten wurde durchgeführt, um eventuellen zeitlichen Differenzen im Stoffwechsel bzw. möglichen noch nicht genau bekannten pathophysiologischen Mechanismen der beiden Parameter entgegenzuwirken. Hierzu wurde P-NGAL II sowohl mit S-CAF I, als auch mit S-CAF III signifikant korreliert ($p<0.01$). In beiden Fällen handelte es sich um gleichsinnige Zusammenhänge. CAFIII vs. NGAL II korrelierte mit $r=0.51$, CAF I vs. NGAL II hatte ein r von 0.46.

U-CAF und U-NGAL

Die statistische Analyse von NGAL und CAF im Urin lieferte keine signifikanten Ergebnisse. Der Zusammenhang zwischen den beiden Parametern ist bis auf die Messung nach 8- 12h gleichsinnig. Bis auf das letzte Zeitintervall IV ($n=8$) wurde stets ein Prozentsatz von mindestens 63% bzw. die Daten von mindestens 125 Studienteilnehmern in der Analyse berücksichtigt.

Tabelle 14: Korrelation CAF, NGAL und Kreatinin nach Kontrastmittelbelastung

KORRELATION		r	p	n
Krea III vs.	S-CAF I	0.45	<0.01	96
	S-CAF II	0.34	0.03	43
	S-CAF III	0.41	<0.01	84
	S-CAF IV	0.95	<0.01	8
Krea III vs.	U-CAF I	0.11	0.38	64
	U-CAF II	0.27	0.04	55
	U-CAF III	0.41	<0.01	78
	U-CAF IV	0.05	0.92	7
Krea III vs.	P-NGAL I	0.53	<0.01	94
	P-NGAL II	0.69	<0.01	37
	P-NGAL III	0.50	<0.01	85
	P-NGAL IV	0.11	0.9	4
Krea III vs.	U-NGAL I	-0.12	0.33	73
	U-NGAL II	0.13	0.91	68
	U-NGAL III	-0.02	0.89	94
	U-NGAL IV	-0.53	0.23	7
S-CAF I	P-NGAL I	0.37	<0.01	185
S-CAF II	P-NGAL II	0.44	<0.01	78
S-CAF III	P-NGAL III	0.46	<0.01	150
S-CAF IV	P-NGAL IV	0.4	0.6	4
S-CAF I	P-NGAL II	0.46	<0.01	76
S-CAF III	P-NGAL II	0.51	<0.01	66
U-CAF I	U-NGAL I	0.01	0.99	142
U-CAF II	U-NGAL II	-0.01	0.90	125
U-CAF III	U-NGAL III	0.03	0.7	157
U-CAF IV	U-NGAL IV	0.20	0.63	8

r, Korrelationskoeffizient; p, Signifikanz; n, Anzahl

3.3 CAF, NGAL und Kreatinin individuell im zeitlichen Verlauf

Zunächst wurde das Verhalten jedes einzelnen Parameters im Verlauf für sich alleine beobachtet. Dabei stand die Erkennung individueller Verlaufsmuster im Vordergrund. Tabelle 13 fasst die erhobenen Daten zusammen und gibt einen ersten Überblick über alle 3 Parameter zu 5 synchronen Messzeitpunkten. Die Messung 8-12h nach KMB fiel im zeitlichen Ablauf meist in die tiefen Nachtstunden und konnte dadurch oft nicht umgesetzt werden, weshalb im Vergleich mit den anderen Messpunkten weniger Pro-

ben zur Verfügung standen. Die geringste Anzahl an Proben konnte nach 48h gesammelt werden, da die Studienteilnehmer häufig bereits entlassen worden waren oder ihre Zustimmung zu weiteren Blutentnahmen zurückgezogen hatten.

S-CAF

Der Messbereich für das C-terminale Agrinfragment begann sowohl im Serum, als auch im Urin bei 0.4 ng/ml und endete bei 7.6 ng/ml.

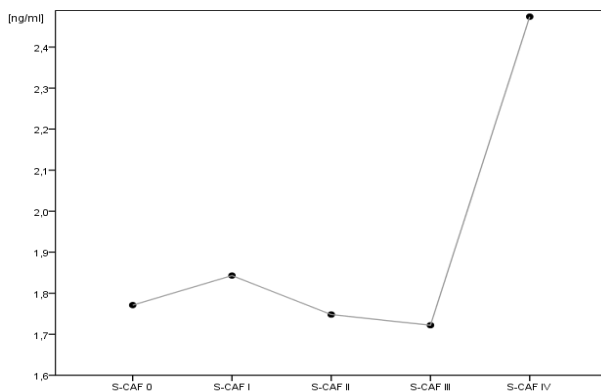


Abbildung 1: Medianer Verlauf von S-CAF

Der mediane CAF-Ausgangswert lag bei 1.77 ng/ml. Nach 3-6 h stieg dieser auf 1.84, um dann wieder 1.75 ng/ml zu fallen. S-CAF erreichte nach 24h im Rahmen unserer Messintervalle seinen Tiefpunkt mit 1.72, gefolgt von einem steilen Aufstieg auf 2.47 ng/ml bei der letzten Messung (Abbildung 1). Während vor KM-Belastung und 3-6 h nach KM-Belastung nahezu von allen Patienten Probenergebnisse vorlagen, trifft dies im Zeitintervall II nach 8- 12h nur noch auf 86 Studienteilnehmer zu. Die Probenanzahl stieg im Zeitintervall III mit 157 wieder auf knapp 80%. Für das letzte Zeitintervall nach 48h konnten lediglich 10 Proben in die Studie eingeschlossen werden.

U-CAF

Im medianen Verlauf zeigte sich initial ein minimaler Rückgang der CAF-Ausscheidung von 2.06 ng/ml auf 2.04 ng/ml nach KM-Gabe. Im Zeitintervall II nahm die Ausscheidung weiter auf 1.95 ng/ml ab, gefolgt von einem Anstieg auf 2.29 ng/ml. Innerhalb des medianen Verlaufs wurde das Minimum im letzten Zeitintervall mit 1.63 ng/ml gemessen. Die Probenanzahl variierte ebenfalls deutlich, lag aber bis auf das letzte Intervall immer bei mindestens 63% der Gesamtheit.

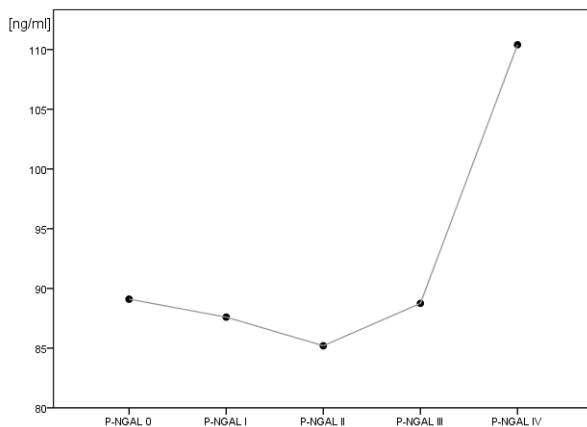


Abbildung 2: Medianer Verlauf von U-CAF

P-NGAL

Der gültige Messbereich für NGAL im Plasma, sowie Urin erstreckt sich von mindestens 25-5000 ng/ml. Die Anzahl der Proben variierte vergleichbar zu den S-CAF-Werten. Während in den Intervallen 0 und I nur wenige Proben fehlten, konnten nach 8-12h nur knapp 40% der Werte eingeschlossen werden. Für das letzte Messintervall standen 5 Ergebnisse zur Verfügung.

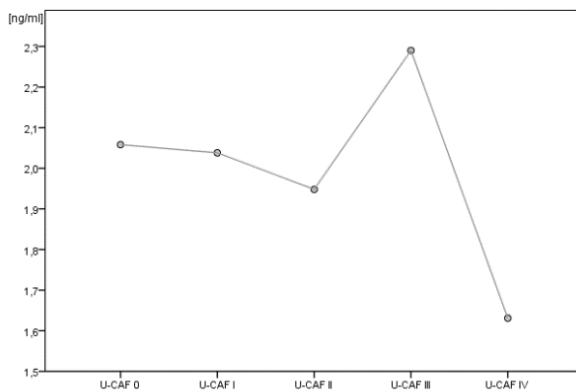


Abbildung 3: Medianer Verlauf von P-

Im medianen Verlauf zeigte sich zunächst ein kontinuierlicher Abfall des NGAL-Spiegels im Blut von initial 89.1ng/ml auf 87.6 ng/ml und schließlich auf 85.2 ng/ml nach 8-12h. Nach 20-24h ist der Anfangswert mit 88.8 ng/ml annähernd wieder erreicht. Innerhalb der 5 Proben, die im 5 Zeitintervall nach 4 8h eingeschlossen werden konnten, stieg der P-NGAL auf 110.4 ng/

U-NGAL

Der mediane Verlauf von NGAL im Urin beginnt knapp über dem Messbereich mit 25.4 ng/ml, um nach Kontrastmittelbelastung unter den Messbereich zu fallen und in den weiteren 4 Zeitintervallen nicht wieder anzusteigen. Bis auf das letzte Zeitintervall nach ca. 4 8h mit 8 Ergebnissen, wurde stets ein Prozentsatz von mindestens 74% aller möglichen Analysen erreicht.

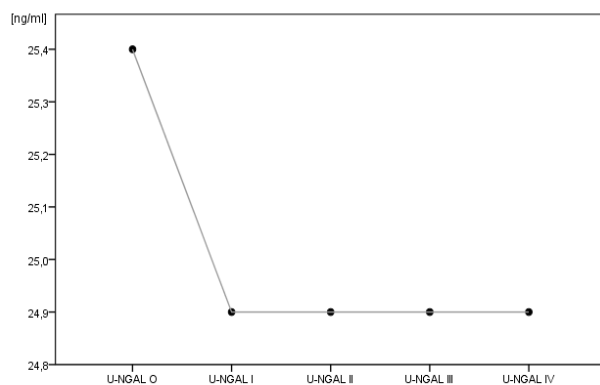


Abbildung 4: Medianer Verlauf von U-NGAL

Serumkreatinin

Vor KM-Gabe lagen die Kreatininwerte von allen 199 eingeschlossenen Studienteilnehmern vor. Bei der zweiten Bestimmung nach 20-24h waren es mit 99. knapp 50%. Der Messbereich beginnt bei 0.06 mg/dl und endet bei 30.5 mg/dl (Ref.bereich Labor Klinische Chemie, Rdl etc).

Wie in der graphischen Darstellung zu sehen, lag der mediane Wert vor KMB und nach KMB bei 1.0 mg/dl.

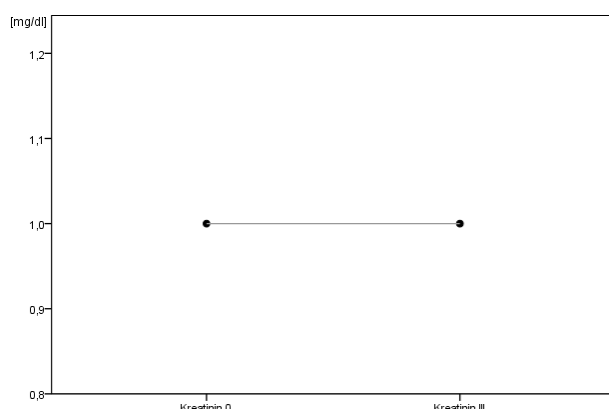


Abbildung 5: Medianer Verlauf von Kreatinin

Tabelle 15: Einzeldynamik der Parameter im zeitlichen Verlauf

Zeitintervall		S-CAF	U-CAF	P-NGAL	U-NGAL	Kreatinin*
0 vor KMB	Median [ng/ml]	1.77	2.06	89.1	25.4	1
	IQR	1.34-2.36	0.82-4.76	66.3-120.5	<25-53.4	0.8-1.2
	n	196	172	194	193	199
I 3-6h nach KMB	Median [ng/ml]	1.84	2.04	87.6	24.9	
	IQR	1.43-2.47	0.8-4.15	65-120.7	<25-33	
	n	188	145	187	161	
II 8-12h nach KMB	Median [ng/ml]	1.75	1.95	85.2	<25	
	IQR	1.32-2.67	0.85-4.4	57.8-114.3	<25-48.3	
	n	86	126	79	148	
III 20-24h nach KMB	Median [ng/ml]	1.72	2.29	88.8	<25	1
	IQR	1.32-2.42	0.61-5.22	67-126.1	<25-53.8	0.9-1.3
	n	157	157	158	181	99
IV ~ 48h nach KMB	Median [ng/ml]	2.47	1.63	110.4	<25	
	IQR	1.57-3.1	0.57-4.38	84.5-123.1	<25-38.5	
	n	10	8	5	8	

IQR, Interquartilsabstand; n, Anzahl der Proben; Kreatinin*[mg/dl]; KMB, Kontrastmittelbelastung

3.4 Verlaufsanalysen von CAF, NGAL und Kreatinin

Signifikante Unterschiede im zeitlichen Verlauf wurden mittels T-Test für verbundene Stichproben analysiert. Um das Testkriterium der Normalverteilung zu erfüllen wurden die Werte vorab logarithmiert. Ein Test mit Werten im Zeitintervall IV nach ca. 48h konnte aufgrund der fehlenden Normalverteilung trotz Transformation nicht durchgeführt werden. Ein Anstieg bzw. Abfall der Werte wurde prozentual angegeben.

Ln-S-CAF

Im Mittel stiegen die LN-S-CAF Werte 3-6h nach Kontrastmittelgabe signifikant um 4% an ($p=0.02$). Im zweiten Messintervall nach 8- 12h konnte kein weiterer Anstieg gemessen werden ($p=0.95$). Im dritten Messintervall stiegen die Werte im Vergleich zu den initialen Werten um durchschnittliche 1% ($p=0.78$).

Ln-U-CAF

Der T-Test zeigte keine signifikanten Verläufe für Ln-CAF im Urin zu den verschiedenen Zeitintervallen. Während in den ersten beiden Vergleichen im Mittel eine erhöhte Ausscheidung von Ln-CAF nach 3-6h um 9% ($p= 0.33$) und nach 8-12h um 2% ($p=0.83$) errechnet wurde, ergab sich nach 20-24h eine durchschnittlich geringere Ausscheidung um 2% ($p=0.87$) zu initialen Werten vor Kontrastmittelbelastung.

Ln-P-NGAL

Für Ln-P-NGAL konnten keine signifikanten Verläufe ermittelt werden. Insbesondere nach 3-6h ergab sich eine Differenz von Null mit $p = 0.99$, gefolgt von einem Abfall von 5% ($p=0.1$). Im letzten Messintervall nach 20-24h ergab sich schließlich eine minimaler Anstieg von 1, 3% ($p=0.55$).

Ln-U-NGAL

Nach 3-6h zeigte sich ein hochsignifikanter Abfall um 17% ($p<0.01$) von Ln-NGAL im Urin. Die Ausscheidung lag nach 8-12h bei durchschnittlich 5% ($p=0.33$). Eine Zunahme von Ln-NGAL im Urin wurde 20-24h nach Kontrastmittelexposition mit 6% ($p=0.27$) errechnet.

Ln-Kreatinin

Die Verlaufsanalyse erbrachte keine signifikanten Ergebnisse. Kreatininanstieg lag durchschnittlich bei 2% ($p=0.17$). Analysiert wurden die Werte von 99 Patienten.

Tabelle 16: Individuelle Verlaufsanalyse für CAF, NGAL und Kreatinin

Messwert vor KMB	Messwert nach KMB	Abweichung in %	± SD	p	n
Ln-S-CAF 0	Ln-S-CAF I	+4	± 0.2	0.02	185
Ln-S-CAF 0	Ln-S-CAF II	0.0	± 0.22	0.95	85
Ln-S-CAF 0	Ln-S-CAF III	+1	± 0.27	0.78	155
Ln-U-CAF 0	Ln-U-CAF I	+9	± 1.08	0.33	142
Ln-U-CAF 0	Ln-U-CAF II	+2	± 1.22	0.83	124
Ln-U-CAF 0	Ln-U-CAF III	-2	± 1.29	0.87	155
Ln-P-NGAL 0	Ln-P-NGAL I	0.0	± 0.31	0.99	184
Ln-P-NGAL 0	Ln-P-NGAL II	-5	± 0.25	0.10	77
Ln-P-NGAL 0	Ln-P-NGAL III	+1.3	± 0.28	0.55	155
Ln-U-NGAL 0	Ln-U-NGAL I	-17	± 0.52	<0.01	156
Ln-U-NGAL 0	Ln-U-NGAL II	-5	± 0.60	0.33	144
Ln-U-NGAL 0	Ln-U-NGAL III	+6	± 0.70	0.27	177
Ln-S-Krea 0	Ln-S-Krea III	+2	± 0.15	0.17	99

KMB, Kontrastmittelbelastung; SD, Standardabweichung; p, Signifikanz; n, Anzahl; Ln, natürlicher Logarithmus

3.5 Verhalten von Kreatinin bei Patienten mit CAF-Anstieg nach 3-6h

Im vorangegangenen T-Test Analyse konnte im Gesamtkollektiv ein signifikanter durchschnittlicher CAF-Anstieg von 4% ($p=0.02$) innerhalb der ersten 3-6h nach KMB beobachtet werden. Bei insgesamt 121 Patienten konnte 3-6h nach Kontrastmittelexposition ein absoluter Anstieg des CAF im Blut zwischen 0.1% und 237.1% gemessen werden. 64 hatten einen Abfall ihres initialen CAF-Wertes zwischen 0.3%-64%. Bei 14 konnte keine Verlaufsanalyse vorgenommen werden, weil der CAF-Wert vor KMB oder 3-6h nach KMB nicht zur Verfügung stand.

In Abhängigkeit von einem CAF-Anstieg bzw. Abfall wurde das Gesamtkollektiv in zwei Gruppen geteilt und mithilfe des Man-Whitney-U Tests untersucht, ob Patienten mit einem CAF-Anstieg (Gruppe 1) bzw. einem CAF-Abfall (Gruppe 2) hinsichtlich ihrer Kreatininwerte ein signifikant anderes Verhalten aufzeigten. Die Analyse war (aufgrund fehlender Messdaten) bei 94 Patienten möglich und zeigte keine signifikanten Ergebnisse, $p=0.34$. Die Patientengruppe mit einem CAF-Anstieg zeigte hier somit kein signifikant anderes Verhalten bezüglich ihrer Kreatininwerte als die Patientengruppe ohne CAF-Anstieg.

3.6 Lineare Regression zur Berechnung des Serumkreatinin

Grundlage jeder linearen Regression war zum einen ein möglicher Zusammenhang zwischen den zu analysierenden Variablen und eine vorhergehende signifikante Korrelation (siehe rechte Spalte in Tabelle 17). Zur Bestimmung von Serumkreatinin vor Kontrastmittelbelastung (KMB) wurden zunächst jeweils univariate Analysen und im Anschluss multivariable Analysen gerechnet. Zur Prognose von Serumkreatinin nach KMB wurde auf dieselbe Weise verfahren.

(Jede Regression beinhaltet eine Berechnung der Residuen, Prüfung und graphischer Darstellung ihrer Normalverteilung. Aus Gründen der Übersicht werden Tabellen und Berechnungen, die dazu dienen die Regression auf Validität zu überprüfen nicht dargestellt.)

3.6.1 Bestimmung von Ln-Serumkreatinin 0 mittels Ln-S-CAF 0

Für die Bestimmung von Ln-Kreatinin allein durch Ln-CAF 0 im Serum, errechnete sich ein Bestimmtheitsmaß R^2 von 0.42. Folglich werden 42% der Variabilität in Ln-Kreatinin 0 durch Ln-S-CAF 0 erklärt.

Ein Anstieg von Ln-S-CAF 0 um eine Einheit ging mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.5 Einheiten ln (mg/dl) einher.

Die weitere Ergänzung der erklärenden Variablen mit, Geschlecht und Body-Mass-Index erhöhte das Bestimmtheitsmaß R^2 um 10% auf 52%. Nach dieser Adjustierung ergab sich weiterhin ein Anstieg von Ln-Kreatinin 0 um 0.5 Einheiten für einen Anstieg von Ln-S-CAF um 1 Einheit ($\beta = 0.5$; $p < 0.001$). Die Ln-Kreatininwerte der männlichen Patienten waren im Mittel 21 % höher als die der Frauen ($\beta = 0.21$; $p < 0.001$). Für das Alter wurde kein signifikanter Einfluss beobachtet ($\beta = 0.00$; $p = 0.57$). Ein Anstieg des BMI um eine Einheit, hatte einen Kreatininanstieg von 1% zur Folge ($\beta = 0.01$; $p = 0.002$.)

Die adjustierte Regressionsanalyse wurde graphisch dargestellt. Auf der y-Achse wurden die nicht logarithmierten Serumkreatininwerte aufgetragen, auf der x-Achse die mittels Regressionsanalyse berechneten Kreatininwerte. Es war eine Häufung der

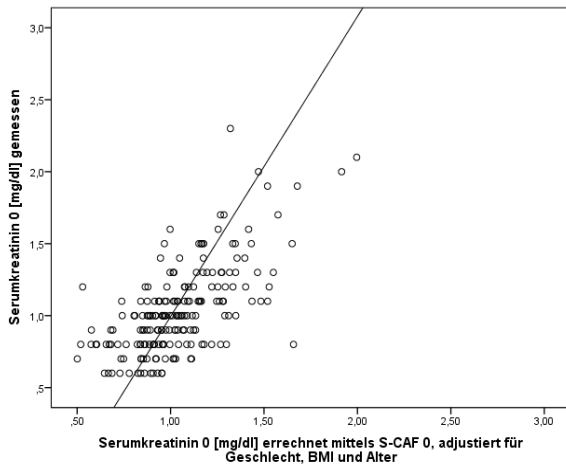


Abbildung 6: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin mittels S-CrA 0

Punkte um die Regressionsgerade zu erkennen. Um die ursprüngliche Einheit [mg/dl] für die Graphik beizubehalten, wurden die errechneten Werte entlogarithmiert ².

3.6.2 Bestimmung von Ln-Serumkreatinin 0 mittels Ln-U-CAF 0

Für die Bestimmung von Ln-Kreatinin 0 allein durch Ln-CAF 0 im Urin, errechnete sich ein sehr geringes Bestimmtheitsmaß R^2 von 0.11. Ein Anstieg von Ln-U-CAF 0 um eine Einheit ging mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.09 Einheiten einher ($\beta = 0.09$; $p < 0.001$). Zwar verdoppelte sich R^2 nach Adjustierung von Alter, Geschlecht und Body-Maß-Index, blieb jedoch mit 22% im unteren Bereich. Ein Anstieg von Ln-U-CAF 0 um eine Einheit ging nun mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.08 Einheiten einher ($\beta = 0.08$; $p < 0.001$). Die Kreatininwerte der männlichen Patienten waren im Mittel 22 % höher als die der Frauen ($\beta = 0.22$; $p < 0.001$). Für das Alter wurde kein signifikanter Einfluss berechnet ($\beta = 0.00$; $p = 0.1$). Ein Anstieg des BMI um eine Einheit, hatte einen durchschnittlichen Kreatininanstieg von 2% zur Folge ($\beta = 0.02$; $p = 0.003$).

² e^x auf eine weitere Korrektur mittels quadriertem Standarderror wurde verzichtet

Die adjustierte Regressionsanalyse wurde graphisch dargestellt. Auf der y-Achse wurden die nicht logarithmierten Serumkreatininwerte aufgetragen, auf der x-Achse die mittels Regressionsanalyse berechneten Kreatininwerte. Es waren nur schwache lineare Tendenzen zu erkennen. Um die ursprüngliche Einheit [mg/dl] für die Graphik beizubehalten, wurden die errechneten Werte entlogarithmiert.

3.6.3 Bestimmung von Ln-Kreatinin 0 mittels Ln-P-NGAL 0

Für die Bestimmung von Ln-Kreatinin allein durch Ln-NGAL 0 im Plasma, errechnete sich ein Bestimmtheitsmaß R^2 von 0.34. Ein Anstieg von Ln-NGAL 0 um eine Einheit ging mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.36 Einheiten einher ($\beta = 0.36$; $p < 0.001$). Nahm man Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index in die Regressionsanalyse mit auf, erhöhte sich das Bestimmtheitsmaß R^2 auf 39%. Nach dieser Adjustierung ergab sich weiterhin ein Anstieg von Ln-Kreatinin 0 um 0.34 Einheit für einen Anstieg von Ln-P-

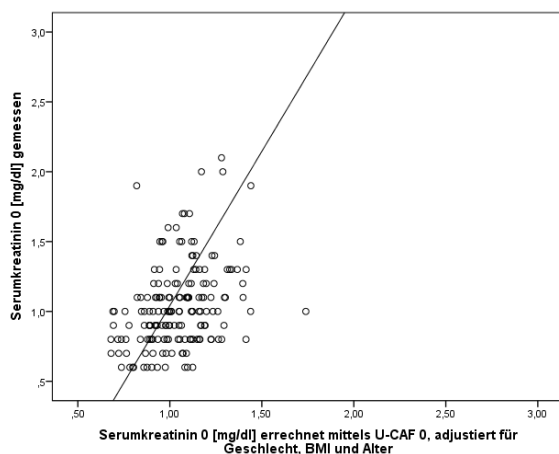


Abbildung 7: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin mittels U-CAF 0

NGAL 0 um eine Einheit ($\beta = 0.34$; $p < 0.001$). Die Kreatininwerte der männlichen Patienten waren im Mittel 13 % höher als die der Frauen ($\beta = 0.13$; $p < 0.008$). Für das Alter und BMI konnte kein signifikanter Einfluss beobachtet werden ($\beta = 0.00$; $p = 0.87$). Ein Anstieg des BMI um eine Einheit, hatte einen durchschnittlichen Kreatininanstieg von 1% zur Folge ($\beta = 0.01$; $p = 0.1$).

Die adjustierte Regressionsanalyse wurde graphisch dargestellt. Auf der y-Achse wurden die nicht logarithmierten Serumkreatininwerte aufgetragen, auf der x-Achse die mittels Regressionsanalyse berechneten Kreatininwerte. Um die ursprüngliche Einheit [mg/dl] für die Graphik beizubehalten, wurden die errechneten Werte entlogarithmiert. Die Abschätzung von Ln-Kreatinin gelang mit Ln-S-CAF ($\beta = 0.5$; $R^2 = 0.52$) somit besser als durch Ln-P-NGAL ($\beta = 0.34$; $R^2 = 0.39$). Beide Berechnungen waren hochsignifikant, $p < 0.001$.

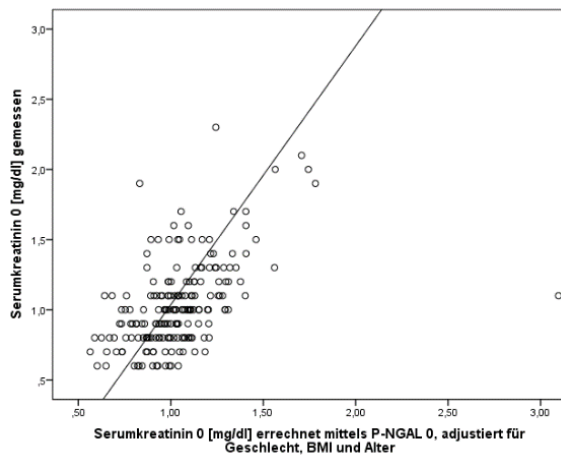


Abbildung 8: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin mittels P-NGAL 0

Tabelle 17: Bestimmung der Kreatininwerte vor Kontrastmittelbelastung mittels CAF und NGAL

REGRESSION					KORRELATION	
Variable						
abhängig	erklärend	Regressionskoeffizient β	p	R ²	r	p
Ln-Kreatinin 0	Ln-S-CAF 0	+0,5	<0.001	0.42	0.5	<0.01
Ln-Kreatinin 0	Ln-S-CAF 0	+0.5	<0.001	0.52		
	Alter	0.00	0.57			
	Geschlecht	+0.21	<0.001			
	BMI	+0.01	0.002			
Ln-Kreatinin 0	Ln-U-CAF	+0.09	<0.001	0.11	0.16	0.04
Ln-Kreatinin 0	Ln-U-CAF	+0.08	<0.001	0.22		
	Alter	0.00	0.1			
	Geschlecht	+0.22	<0.001			
	BMI	+0.02	0.003			
Ln-Kreatinin 0	Ln-P-NGAL 0	+0.36	<0.001	0.37	0.5	0.01
Ln-Kreatinin 0	Ln-P-NGAL 0	+0.34	<0.001	0.39		
	Alter	0.00	0.87			
	Geschlecht	+0.13	0.008			
	BMI	+0.01	0.1			

Ln, natürlicher Logarithmus; R² Bestimmtheitsmaß; p, Signifikanz; r, Korrelationskoeffizient nach Spearman

3.6.4 Prognose des Ln-Kreatinin III mittels Ln-S-CAF I

Ln-CAF-Werte 3-6h nach KMB im Serum konnten 45% der Variabilität der Ln-Kreatininwerte 24h nach KMB prognostizieren. Ein Anstieg von Ln-S-CAF I um eine Einheit ging mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.49 Einheiten einher ($\beta = 0.49$; $p < 0.001$).

Das Bestimmtheitsmaß R² stieg weiter auf 0.52 an, wenn zudem Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index mit in die Regression eingeschlossen wurden. Ein Anstieg von Ln-S-CAF I um eine Einheit ging nun mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.48 Einheiten einher ($\beta = 0.48$).

Die Kreatininwerte der männlichen Patienten waren im Mittel 21 % höher als die der Frauen ($\beta = 0.21$; $p = 0.001$). Betreffend Alter und BMI konnte kein signifikanter Einfluss beobachtet werden (Alter: $\beta = 0.00$; $p = 0.16$). Ein Anstieg des BMI um eine Einheit, hatte einen durchschnittlichen Kreatininanstieg von 1% zur Folge ($\beta = 0.01$; $p = 0.15$).

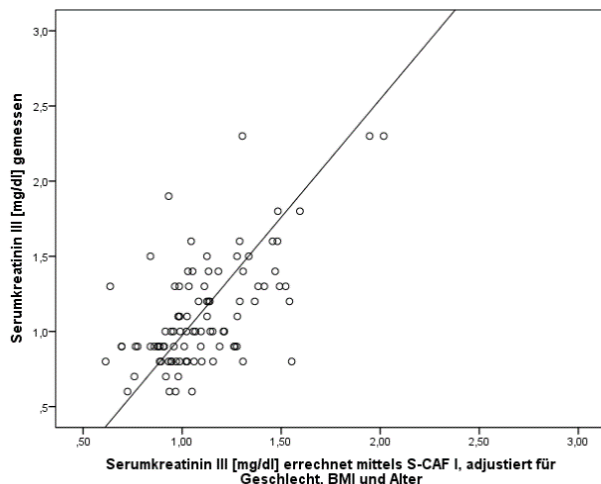


Abbildung 9: Lineares Regressionsmodell zur Prognose von Kreatinin nach 24h mittels S-CAF nach 3-6h

Die adjustierte Regressionsanalyse wurde graphisch dargestellt. Auf der y-Achse wurden die nicht logarithmierten Serumkreatininwerte aufgetragen, auf der x-Achse die mittels Regressionsanalyse berechneten Kreatininwerte. Um die ursprüngliche Einheit [mg/dl] für die Graphik beizubehalten, wurden die errechneten Werte entlogarithmiert. Im Streudiagramm war eine tendenzielle Häufung um die Regressionsgerade zu erkennen.

3.6.5 Bestimmung von Ln-Kreatinin III mittels Ln-U-CAF III

Für die Bestimmung von Kreatinin durch U-CAF III bei synchron gemessenen Werten (nach 20-24h), errechnete sich ein Bestimmtheitsmaß $R^2 = 0.28$. Ein Anstieg von Ln-U-CAF I um eine Einheit ging mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.13 Einheiten einher ($\beta = 0.13$; $p < 0.001$). Die weitere Ergänzung der erklärenden Variablen mit Alter, Geschlecht und Body-Maß-Index erhöhte das Bestimmtheitsmaß R^2 auf 38%. Ein Anstieg von Ln-U-CAF III um 1 Einheit ging nun mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.11 Einheiten einher ($\beta = 0.11$; $p < 0.001$).

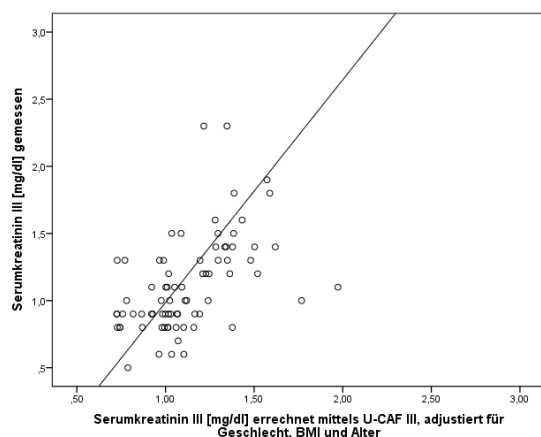


Abbildung 10: Lineares Regressionsmodell zur Berechnung von Kreatinin nach 24h mittels U-CAF nach

Die Ln-Kreatininwerte der männlichen Patienten waren im Mittel 27% höher als die der Frauen ($\beta = 0.27$; $p = 0.003$). Je Lebensjahr wurde ein Kreatininanstieg von durchschnittlich 8% berechnet ($\beta = 0.08$; $p = 0.04$). Ein Anstieg des BMI um eine Einheit, hatte einen durchschnittlichen Kreatininanstieg von 2% zur Folge ($\beta = 0.02$; $p = 0.08$). Die adjustierte Regressionsanalyse wurde graphisch dargestellt. Auf der y-Achse wurden die nicht logarithmierten Serumkreatininwerte aufgetragen, auf der x-Achse die mittels Regressionsanalyse berechneten Kreatininwerte. Um die ursprüngliche Einheit [mg/dl] für die Graphik beizubehalten, wurden die errechneten Werte entlogarithmiert.

3.6.6 Prognose des Ln-Kreatinin III mittels Ln-P-NGAL II

Ln-NGAL-Werte im Plasma 8-12h nach KMB prognostizierten Ln-Kreatinin III Werte zu einem Anteil von 54%. Ein Anstieg von Ln-P-NGAL II um 1 Einheit ging mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.44 Einheiten einher ($\beta = 0.44$; $p < 0.001$).

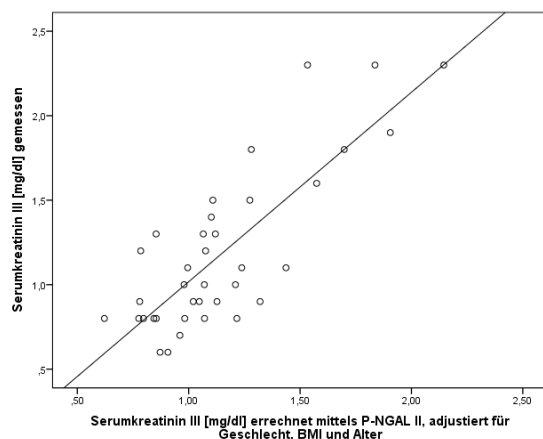


Abbildung 11: Lineares Regressionsmodell zur Prognose von Kreatinin nach 24h mittels P-NGAL nach 8-12h

Das Bestimmtheitsmaß R^2 erhöhte sich geringfügig um 3% nach Adjustierung für Alter, Geschlecht und Body-Mass-Index ($R^2 = 0.57$). Ein Anstieg von Ln-P-NGAL II um 1 Einheit ging nun mit einem Ln-Kreatininanstieg von 0.41 Einheiten einher ($\beta = 0.41$; $p < 0.001$). Die Ln-Kreatininwerte der männlichen Patienten waren durchschnittlich 11% höher als die der Frauen ($r = 0.11$; $p = 0.24$). Für das Alter wurde kein signifikanter Einfluss berechnet ($\beta = 0.00$; $p = 0.58$). Auch für den BMI ergab sich kein signifikantes Ergebnis ($\beta = 0.06$; $p = 0.56$).

Die adjustierte Regressionsanalyse wurde graphisch dargestellt. Auf der y-Achse wurden die nicht logarithmierten Serumkreatininwerte aufgetragen, auf der x-Achse die mittels Regressionsanalyse berechneten Kreatininwerte. Das Streudiagramm zeigte einen erkennbaren linearen Zusammenhang. Um die ursprüngliche Einheit [mg/dl] für die Graphik beizubehalten, wurden die errechneten Werte entlogarithmiert.

Tabelle 18: Prognose des Serumkreatinin nach 24h über CAF und NGAL

REGRESSION					KORRELATION	
Variable						
abhängig	erklärend	Regressionskoeffizient β	p	R ²	r	p
Ln-Kreatinin III	Ln-S-CAF I	+0.49	<0.001	0.45	0.45	<0.01
Ln-Kreatinin III	Ln-S-CAF I	+0.48	<0.001	0.52		
	Alter	0.00	0.16			
	Geschlecht	+0.21	0.001			
	BMI	+0.01	0.15			
Ln-Kreatinin III	Ln-U-CAF III	+0.13	<0.001	0.28	0.41	<0.01
Ln-Kreatinin III	Ln-U-CAF III	+0.11	<0.001	0.38		
	Alter	+0.08	0.04			
	Geschlecht	+0.27	0.003			
	BMI	+0.02	0.08			
Ln-Kreatinin III	Ln-P-NGAL II	+0.44	<0.001	0.54	0.69	<0.01
Ln-Kreatinin III	Ln-P-NGAL II	+0.41	<0.001	0.57		
	Alter	0.00	0.58			
	Geschlecht	+0.11	0.24			
	BMI	+0.06	0.56			

R² Bestimmtheitsmaß; p, Signifikanz; β , Regressionskoeffizient; r, Korrelationskoeffizient

3.7 Patienten mit Kontrastmittel-induziertem akuten Nierenversagen

Bei 7 von insgesamt 99 Serumkreatininwerten nach 20- 24h konnte ein Anstieg von mindestens 25% festgestellt werden. Bei 7 Patienten wurde somit ein KM-ANV diagnostiziert.

Es handelte sich um 3 Frauen und 4 Männer im Alter von 59 bis 86 (Median=72), der mediane Body-Mass- Index lag bei 25 kg/m². Der Blutdruck betrug im Mittel 165/70 mmHg bei einem Puls von 76/min. Mit Ausnahme einer Patientin, bei der eine Untersuchung der Beinarterien durchgeführt wurde, haben alle eine Herzkatheteruntersuchung erhalten. Eine Intervention wurde bei allen 7 Studienteilnehmern durchgeführt. Die mediane Kontrastmittelzufuhr belief sich auf 350 ml. Keiner der 7 wurde positiv auf einen Harnwegsinfekt getestet.

Tabelle 19: Deskriptive Statistik des ANV-Kollektivs - Basischarakteristika

Patient	26	48	79	141	143	180	195	n=7
Geschlecht	♀	♂	♂	♂	♀	♂	♀	♂:♀ = 4:3
Alter [Jahre]	76	59	70	72	83	86	69	Median = 72
BMI [kg/m²]	25.2	29.2	23.7	26.2	25	23	19.9	Median = 25
RR systolisch	170	170	140	190	165	160	160	Median = 165
RR diastolisch	60	100	80	60	60	86	70	Median = 70
Puls	75	76	88	72	77	52	85	Median = 76
Untersuchung	-----HK-----						PTA	HK:PTA = 6:1
Intervention	+	-			+			100%
KMV	320	nicht be- kannt	470	400	150	157	380	Median = 350

n=Anzahl; RR, Blutdruck; HK, Herzkatheteruntersuchung; PTA, Untersuchung der Beingefäße; BMI, Body-Mass-Index; KMV, Kontrastmittelvolumen.

In Bezug auf das kardiovaskuläre Risikoprofil hatten 3 der 7 Patienten (42.8%) einen Diabetes mellitus, von denen lediglich einer mit oralen Antidiabetika oder Insulin behandelt wurde. Anamnestisch konnte bei allen 7 Studienteilnehmern ein arterieller Hypertonus festgestellt werden. (Tab. 21 gibt einen Überblick über die jeweilige Medikation). Eine Hyperlipidämie wiesen 6 der Patienten auf, 4 wurden mit Statinen behandelt. 2 (28.6%) waren aktive Raucher, 4 (57.1%) hatten in der Vergangenheit geraucht. 6 (85.7%) litten unter einer koronaren Herzerkrankung, dabei handelte es sich jeweils dreimal um eine 2-Gefäßerkrankung und dreimal um eine 3-Gefäßerkrankung. Zudem bestand bei 2 Patienten (28.6%) die Diagnose einer peripheren arteriellen Verschlusskrankheit pAVK. 6 Patienten wiesen eine Herzinsuffizienz auf zwischen NYHA I bis IV auf. Bei 3 Patienten konnte ein Stadium 3 einer chronischen Nierenerkrankung festgestellt werden.

Tabelle 20: Deskriptive Statistik des ANV- Kollektivs - koronare Risikofaktoren und Vorerkrankungen

Patient	26	48	79	141	143	180	195	n=7
Diabetes	+	-	-	+		-	-	42.8%
Art. Hypertonie	+							100%
Hyperlipidämie	+	-	+					85.7%
KHK (1-2-3-Gefäßkrankung)	2	-	3	2	2	3	3	85.7%
PAVK	+	-					+	28.6
Herzinsuffizienz NYHA	III	-	I	I	II	IV	II	85.7%
CDK	-			3	3	-	3	42.8%
Raucher	-			+	-		+	28.6%
Ex-Raucher	+	+		-	+	-	-	57.1%

n=Anzahl; CDK, chronisches Nierenleiden; KHK, koronare Herzerkrankung; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; NYHA, New York Heart Association

Das Serumkreatinin lag vor der Kontrastmittelexposition zwischen 0.6 und 1.1 mg/dl (Median 0.8). Es wurde eine mediane Clearance von 72.4 ml berechnet. Der Median für Harnstoff-N lag mit 17mg/dl im Referenzbereich 7-18mg/dl). Es wurde bei 4 Patienten der Kalziumspiegel gemessen, der zwischen 2.18 und 2.45 mmol/l lag. Mit einer Ausnahme (3.9 mg/dl) lag der CRP- Wert durchweg im Referenzbereich <0.5mg/dl. Die Blutfette wurden bei 3 der 7 Patienten bestimmt. Der Median für das Gesamtcholesterin (246 mg/dl) liegt knapp über dem Referenzbereich. Triglyzeride (89) und HDL-Fraktion (65) waren im Normbereich. Das LDL-Cholesterin lag mit 169 oberhalb des Referenzbereichs.

Tabelle 21: Deskriptive Statistik des ANV- Kollektivs – individuelle Laborparameter

Patient	26	48	79	141	143	180	195	Median	Referenzbereich
Kreatinin[mg/dl]	0.6	0.8	0.9	1.1	0.9	0.6	0.7	0.8	0.7-1.3
Clearance [ml/min]	89.4	143.4	72.4	57.5	50.8	85.0	55.1	72.4	>60
P-NGAL	62.2	86	86.2	86.4	60	87.5	111.8	86.2	unbekannt
U-NGAL	49.0	24.9	24.9	24.9	24.9	36.8	24.9	24.9	unbekannt
S-CAF [ng/ml]	2.24	1.16	-	1.6	1.99	1.2	2.0	1.8	unbekannt
U-CAF [ng/ml]	3.63	4.83	0.56	2.48	7.15	3.61	-	3.62	unbekannt
Harnstoff-N mg/dl	15	16	20	-	18	18	15	17	7-18
Calcium gesamt [mmol/l]	2.45	2.4	-	-	2.4	2.18	-	2.4	2.2-2.65
CRP [mg/dl]	0.1	0.4	3.9	-	0.2	0.1	0.3	0.2	<0.5
Glukose[mg/dl]	190	115	-	-	118	-	-	118	70-110
Cholesterin gesamt	246	258	-	-	215	-	-	246	140-240
HDL-Cholesterin	56	65	-	-	93	-	-	65	>40
LDL-Cholesterin	169	176	-	-	104	-	-	169	<100
Triglyzeride	104	86	-	-	89	-	-	89	70-200

ANV, akutes Nierenversagen; CRP, C-reaktives Protein, HDL, High Density Lipoprotein; LDL, Low Density Lipoprotein, fehlende Werte wurden mit „-“ gekennzeichnet

4 Patienten wurden mit Diuretika therapiert. 6 Patienten nahmen Antihypertensiva, 5 Patienten β -Blocker und einer Vitamin-K- Antagonisten ein. 6 von 7 wurden mit Acetylsalicylsäure therapiert.

Tabelle 22: Deskriptive Statistik des ANV- Kollektivs - Medikation

Patient	26	48	79	141	143	180	195	n=7
Antidiabetika	+			-				14.3%
Diuretikum	-		+			-	-	57.1%
Statine		-			+			57.1%
Antihypertensiva*	-		+					85.7%
β -Blocker			+			-	-	71.4%
ASS	+	-		+				85.7%
Marcumar			-		+		-	14.3%

*ACE-Hemmer/AT1-Blocker; n=Anzahl; ASS, Acetylsalicylsäure; ANV, akutes Nierenversagen; HK, Herzkatheteruntersuchung; PTA, Untersuchung der Beinarterien; KHK, koronare Herzerkrankung; pAVK, periphere arterielle Verschlusskrankheit; BMI, Body-Mass-Index; KMV, Kontrastmittelvolumen.

3.7.1 Verlaufsanalysen von CAF, NGAL und Kreatinin im ANV-Kollektiv

Es konnte keine signifikante Dynamik der Ln-CAF-Werte im Serum festgestellt werden. ($p=0.18$ bis $p=0.66$). Bei der Analyse von Ln-NGAL im Plasma ergab sich nach 20-24h

ein signifikanter Unterschied mit $p=0.01$. Die durchschnittliche Abweichung vom Anfangswert vor KMB betrug 26%. Im Urin gab es keine signifikanten Ergebnisse. Den höchsten p-Wert hatte Ln-Kreatinin ($p<0.01$). Ln-Kreatininwerte waren nach KMB im Durchschnitt 33% höher als vor KMB. Bei der Interpretation der Ergebnisse betreffend Kreatinin, gilt zu beachten, dass sich das untersuchte Kollektiv der 7 Patienten über den Kreatininanstieg definiert wurde.

Tabelle 23: Individuelle Verlaufsanalyse für CAF, NGAL und Kreatinin- ANV Kollektiv

Messwert vor KMB	Messwert nach KMB	Abweichung in %	± SD	p	n
S-CAF 0	S-CAF I	-6	± 0.48	0.77	6
S-CAF 0	S-CAF II	+7	± 0.03	0.18	2
S-CAF 0	S-CAF III	+6	±0.27	0.63	5
U-CAF 0	U-CAF I	-60	± 0.82	0.18	5
U-CAF 0	U-CAF II	+48	± 1.2	0.56	3
U-CAF 0	U-CAF III	-44	± 2.3	0.66	6
P-NGAL 0	P-NGAL I	-6	± 0.48	0.77	6
P-NGAL 0	P-NGAL II	-4	±0.05	0.35	3
P-NGAL 0	P-NGAL III	+26	±0.17	0.01	6
U-NGAL 0	U-NGAL I	-14	± 0.25	0.22	6
U-NGAL 0	U-NGAL II	-15	±0.36	0.47	4
U-NGAL 0	U-NGAL III	+12	± 0.28	0.31	7
Kreatinin 0	Kreatinin III	+33	± 0.08	<0.01	7

KMB, Kontrastmittelbelastung; SD, Standardabweichung; p, Signifikanz; n, Anzahl; Ln, natürlicher Logarithmus

3.7.2 Untersuchung des ANV-Einflusses auf CAF und NGAL

Die ANV wurde über den Kreatininanstieg definiert. Im Folgenden wurde nun untersucht, ob es parallel zu den Kreatininwerten auch bei den Parametern CAF und NGAL zu einem signifikanten Anstieg gekommen war. Hierzu wurde ein Vergleich zwischen den Gruppen „ANV“ und „Non-ANV“ vorgenommen. Es wurde der Anstieg in 3 Messintervalle errechnet, das vierte Messintervall konnte, aufgrund fehlender Werte nicht eingeschlossen werden. Mittels Man-Whitney-U Test wurden die Verläufe der Parameter auf Unterschiede untersucht. Die Nullhypothese H_0 und die Alternativhypothese H_1 lauten:

H_0 : Die beiden Gruppen ANV vs. Non-ANV unterscheiden sich nicht bezüglich der gewählten Testvariable (CAF bzw. NGAL).

H1: Es existiert ein statistisch signifikanter Unterschied zwischen den Gruppen bezüglich der gewählten Testvariablen (CAF bzw. NGAL).

Es konnte im zeitlichen Verlauf kein signifikanter Unterschied der CAF-Werte im Blut oder Urin festgestellt werden. Der niedrigste p-Wert 0,13 ergab sich für die Analyse von U-CAF innerhalb der ersten 3-6 h. Die Annahme U-CAF-Werte hätten einen unterschiedlichen Verlauf in der ANV-Gruppe, als in der Non-ANV-Gruppe muss zum geforderten Signifikanzniveau von 5% folglich dennoch verworfen werden.

Die Untersuchung der NGAL-Werte im Blut erbrachte für die ersten beiden Intervalle keine signifikanten Ergebnisse. Allerdings war nach 20-24h ein signifikanter Unterschied zu erkennen, $p < 0.01$. Dies bedeutet, dass sich die ANV-Gruppe ($n=6$) von der Non-ANV-Gruppe ($n=79$) hinsichtlich der Testvariable P-NGAL tatsächlich unterscheidet. In Verbindung mit der T-Test Analyse (durchschnittlicher Anstieg 26%) darf davon ausgegangen werden, dass bei diesen 6 ANV Patienten ein P-NGAL-Anstieg zu verzeichnen ist, mit dem sie sich von der Non-ANV-Gruppe abhebt.

Das ANV hatte keinen signifikanten Einfluss auf NGAL-Werte im Urin.

Tabelle 24: Einfluss der akuten Niereninsuffizienz auf den Verlauf von CAF und NGAL

	Testvariable	n	p
Anstieg innerhalb der ersten 3-6 h	S-CAF	ANV 6	0.51
		Non-ANV 88	
	U-CAF	ANV 5	0.13
		Non-ANV 59	
P-NGAL	ANV 6	0.98	
	Non-ANV 87		
U-NGAL	ANV 6	0.91	
	Non-ANV 67		
Anstieg innerhalb der ersten 8- 12h	S-CAF	ANV 2	0.75
		Non-ANV 40	
	U-CAF	ANV 3	0.88
		Non-ANV 52	
P-NGAL	ANV 3	1	
	Non-ANV 34		
U-NGAL	ANV 4	0.82	
	Non-ANV 63		
Anstieg innerhalb der ersten 20- 24h	S-CAF	ANV 5	0.77
		Non-ANV 78	
	U-CAF	ANV 6	0.23
		Non-ANV 72	
	P-NGAL	ANV 6	<0.01
Non-ANV 79			
U-NGAL	ANV 7	0.54	
	Non-ANV 86		
KREATININ	ANV 7	<0.01	
	Non-ANV 92		

n, Anzahl; p, Signifikanz

4 Diskussion

4.1 CAF und die Nierenfunktion

Die zentrale Frage dieser Studie lautet: Kann das C-terminale Agrinfragment CAF einen renalen Schaden nach einer Kontrastmittelexposition detektieren, der von den etablierten Biomarkern Kreatinin und NGAL (neutrophile Gelatinase-assoziiertes Lipocalin) bestätigt wird?

Das diagnostische Potential von CAF bezüglich KM-ANV konnte durch die Ergebnisse dieser Studie nicht belegt werden. Jedoch bestätigten sich Zusammenhänge zu Kreatinin und Nierenfunktion, wie in den Vorreiterstudien beschrieben. Wenn CAF ein zukünftiger renaler Biomarker sein sollte, hätte es den Vorteil die Nierenfunktion in feineren Abstufungen als Kreatinin abzubilden. Betrachtet man beispielsweise die Kreatininwerte in der vorliegenden Studie, so ergab sich ein Median vor KMB von 1 mg/dl mit einem IQR von 0.8-1.2 mg/dl. Im Vergleich dazu ein medianer S-CAF 0 Wert von 1.77 ng/ml mit einem IQR von 1.34-2.36 ng/ml. Diese Studie erbrachte weitere Erkenntnisse.

Erstens konnte eine signifikante Korrelation von CAF mit Kreatinin, GFR und NGAL beobachtet werden. Zweitens fiel ein statistisch signifikanter Ln-S-CAF-Anstieg um durchschnittlich 4% 3-6h nach KMB auf. Allerdings zeigte sich hier weder der erwartete Anstieg des Serumkreatinins noch ein Anstieg der NGAL-Werte.

In dieser Studie erbrachte NGAL als von uns als „Positivkontrolle“ eingesetzter Marker, nicht die erhofften Ergebnisse, so dass die Interpretation von statistisch signifikant nachgewiesenem CAF-Anstieg nach KM erschwert wurde.

Drittens konnte in einem gesicherten KM-AKI Kollektiv, welches parallel einen signifikanten P-NGAL-Anstieg zu verzeichnen hatte, *kein* signifikanter Verlauf betreffend CAF beobachtet werden.

4.1.1 CAF als renaler Biomarker vor KMB

Hochsignifikante Zusammenhänge sowohl zwischen CAF und Kreatinin, als auch zwischen CAF und NGAL, bestärken die Vermutung, dass CAF ein neuer renaler Biomarker ist.

Im Blut

Im Blut korrelierten S-CAF vs. Kreatinin ebenso stark wie P-NGAL vs. Kreatinin ($r = 0.5$; $p < 0.01$). Korrelationen betreffend GFR und CAF zeigten deutlich höhere CAF-Werte in Abhängigkeit von einer sinkenden Nierenfunktion. Interessanterweise verstärkte sich der Zusammenhang für S-CAF vs. GFR statt Kreatinin $r = -0.59$ ($p < 0.01$), wohingegen P-NGAL vs. GFR einen schwächeren Zusammenhang aufzeigte, $r = -0.42$ ($p < 0.01$).

Bei der Berechnung der GFR wurden Alter, Geschlecht und BMI mit einbezogen und verstärkten das Korrelationsmodell im Vergleich zu Korrelationen vs. Kreatinin. Es stellt sich die Frage, weshalb NGAL vs. GFR nicht von einer Adjustierung profitierte. Möglicherweise ist dies ein Hinweis darauf, dass auch CAF von Alter, Geschlecht und/oder BMI beeinflusst wird. In experimentellen Studien konnte gezeigt werden, dass NGAL vorrangig durch eine systemisch-inflammatorische Konstellation und Sepsisparameter wie TNF- α und Interleukin-6 beeinflusst wird.

In der linearen Regression war es möglich Ln-Kreatininwerte zu einem Anteil von 42 % durch Ln-S-CAF-Werte zu schätzen ($R^2 = 0.42$; $p < 0.001$). Unter Berücksichtigung von Alter, Geschlecht und BMI stieg der Anteil auf 52% ($R^2 = 0.52$). Ln-P-NGAL konnte im Regressionsmodell nicht überzeugen. Die Verwendung von Ln-P-NGAL-Werten, führte zu einem ungenaueren Schätzwert ($R^2 = 0.37$; $p < 0.001$), der auch nach Adjustierung einer Bestimmung der Ln-Kreatininwerte durch Ln-CAF deutlich unterlag ($R^2 = 0.39$). In der Kreatininbestimmung vor KMB zeigte sich CAF im Blut somit überlegen gegenüber NGAL im Blut.

Die Adjustierung mittels Alter, Geschlecht und BMI hatte bezüglich CAF sowohl im Korrelations- als auch im Regressionsmodell einen günstigen Effekt. Hintergrund könnte ein CAF-Stoffwechsel sein, der ähnlich dem Kreatininstoffwechsel von diesen Parametern beeinflusst wurde. Wohingegen im NGAL-Stoffwechsel möglicherweise von einer geringeren Einflussnahme auszugehen ist. Außerdem gilt NGAL als Schadensmarker, wurde vor KMB aber per definitionem auch als Funktionsmarker analysiert. Da bei den Patienten vor der Untersuchung nicht von einem akuten Nierenschaden ausgegangen wurde, könnte dies ein Grund für das nicht-überzeugende Ergebnis von NGAL sein. Diese Überlegung steht auch im Einklang mit der deutlich stärkeren Korrelation nach KMB: P-NGAL II vs. Kreatinin III, $r = 0.69$ ($p < 0.01$; s.u. 3.2.2)

Im Urin

Auch in der Urindiagnostik korrelierte CAF signifikant mit Kreatinin ($r = 0.16$; $p = 0.04$). Während sich für U-NGAL weder mit Kreatinin, noch mit der GFR oder U-CAF signifikante Zusammenhänge ergaben. Die Nierenfunktion anhand einer Urinprobe bewerten zu können, wäre eine sehr attraktive Option im klinischen Alltag. Sie stellt ein nicht-invasives Verfahren dar, das beliebig oft wiederholt werden könnte, dem Personal keine besondere Kompetenzen abverlangt, keine Belastung für den Patienten bedeutet und somit besonders bei Kindern von Vorteil wäre.

Leider gelang der Rückschluss von Ln-U-CAF-Werten auf Ln-Kreatininwerte nur unzureichend (adjustiertes Regressionsmodell, $R^2 = 0.22$).

In einer bislang unveröffentlichten Studie der Universität Zürich konnten Hinweise gefunden werden, dass CAF glomerulär filtriert und teils durch den proximalen Tubulussystem reabsorbiert wird. Ein glomerulärer Schaden könnte dann mittels ansteigenden CAF-Werten im Blut detektiert werden, wohingegen eine erhöhte Ausscheidung für eine gestörte Tubulusfunktion spräche .

Auch wenn die Ergebnisse der vorliegenden Studie nicht die Schlussfolgerung auf eine gemeinsame Kausalität erlaubten, so konnte dennoch Folgendes festgehalten werden. Es gab Faktoren, die einen gemeinsamen Einfluss auf Kreatinin, NGAL und CAF ausübten. Eine mögliche metabolische Schnittstelle stellte der Muskelstoffwechsel dar. L. Steinbeck et al untersuchten die Rolle des C-terminalen Agrinfragments im Rahmen der Myolyse. Sie fanden Hinweise darauf, dass CAF ein potentieller Biomarker für den Muskelabbau bei chronischer Herzinsuffizienz ist . Eine positive Korrelation mit Kreatinin, dem Abbauprodukt des Muskelstoffwechsels wäre dann sehr wahrscheinlich zu erwarten. Weitere Studien untersuchten das diagnostische Potential von CAF bezüglich Sarkopenie und zur Evaluation von Skelettmuskeltraining .

4.1.2 CAF als renaler Biomarker nach KMB

Im Blut

Nach KMB zeigte sich im Serum reaktiv ein Anstieg der CAF-Konzentration innerhalb der ersten 3-6 h. Die T-Test Analyse errechnete eine durchschnittliche Erhöhung des Ln-Serum-CAF-Wertes um 4% ($p = 0.02$). Allerdings gab es auf Seiten der Kontrollmarker keine äquivalente Entwicklung. Ln-Serumkreatininwerte nach 24h hatten zwar

einen durchschnittlichen Anstieg von 2% zu verzeichnen, waren aber mit $p = 0.17$ nicht signifikant. Diese Resultate könnten folgendermaßen ausgelegt werden: Die Kontrastmittelgabe hat zu einer Belastung der Niere geführt. Jedoch war der Schaden so gering, dass die üblichen Marker ihn nicht detektieren konnten und CAF tatsächlich sensitiver reagierte. Leider findet diese Theorie keinerlei Unterstützung bei den weiteren Analysen. Bei insgesamt 121 Patienten konnte 3-6h nach Kontrastmittelexposition ein absoluter Anstieg des CAF im Blut zwischen 0.1% und 237.1% gemessen werden. Das Verhalten der Kreatininwerte wurde bei diesen 121 Patienten untersucht und zwar im Vergleich mit den 64 Patienten, die einen Abfall ihres initialen CAF-Wertes zwischen 0.3%-64% aufwiesen. Es konnten keine signifikanten Unterschiede betreffend der Kreatininwerte gemessen werden.

Es stellte sich demnach die Frage, ob eine andere Ursache, als die KMB für den CAF-Anstieg verantwortlich war. Denn es ist nicht von der Hand zu weisen, dass es einen reaktiven CAF-Anstieg zu verzeichnen gab. Die Analyse der CAF-Dynamik zeigte weiterhin, dass es mit 95% Sicherheit keine Veränderung der CAF-Konzentration vor KMB im Vergleich mit der CAF-Konzentration 8- 12h nach KMB gab. Der initiale Anstieg nach KMB war somit nur von kurzer Dauer und bestätigte die Beobachtung der Vorläuferstudie bezüglich einer kurzen Anschlagszeit, sowie zügigen Normalisierung von CAF .

Der Untersuchungsvorgang bietet eine Vielzahl an Optionen, die zum kollektiven CAF-Anstieg führen könnten. Die Suche nach einem Confounder schloss z.B. folgende Möglichkeiten ein: die Manipulation an den Koronararterien, eine reaktive Antwort auf die Stresssituation, die Flüssigkeitskarenz, die Strahlenexposition oder die Immobilität während und nach einer Sitzung. Darüber hinaus kommt es während einer Katheteruntersuchung zu multiplen lokalen Entzündungsprozessen, angefangen mit der Punktionsstelle in der Leiste bis hin zum behandelten Gefäßabschnitt. Analog zu NGAL könnte auch CAF durch die inflammatorischen Prozesse beeinflusst werden. Die Abnahme der initialen Blut- und Urinproben vor KMB erfolgte immer im Laufe des Vormittags, möglicherweise unterliegen S-CAF-Werte vormittags einem physiologischen Tiefpunkt.

Es konnte beobachtet werden, dass je höher die Kreatininkonzentration nach 24h war, desto höher auch die CAF-Werte zu allen vier zeitlich gestaffelten Messungen waren ($p = 0.03$ bzw. $p < 0.01$). Mit einer Einschränkung bezüglich des letzten Messintervalls

nach ca. 4 8h ($r = 0.05$; $p = 0.92$), traf dies auch auf die Korrelationen Kreatinin nach 24h vs. P-NGAL zu ($p < 0.01$).

Es fiel auf, dass Korrelationen mit Kreatinin nach KMB im Vergleich zu Korrelationen vor KMB für S-CAF schwächer wurden und für P-NGAL stärker. Als gemeinsamer Einflussfaktor wurde die KMB in Betracht gezogen. Da es aber keine signifikanten Ergebnisse in den individuellen Verlaufsanalysen von NGAL und Kreatinin gab, blieb der Hintergrund dieser Entwicklung weitgehend ungeklärt.

In der linearen Regression konnten Kreatininwerte nach 24h anhand von CAF- Konzentrationen nach 3-6h zu einem Anteil von 45 % ($R^2 = 0.45$; $p < 0.001$) berechnet werden. Nach Adjustierung von Alter, Geschlecht und BMI, waren es 52% ($R^2 = 0.52$). Die Prognose der Kreatininwerte nach 24h mittels NGAL II (nach 8-12h) gelang zu einem Anteil von 0.54 ($R^2 = 0.54$; $p < 0.001$) im Vergleich tendenziell besser. Im adjustierten Modell ergab sich das insgesamt stärkste Ergebnis mit $R^2 = 0.57$.

Zusammenfassend ließ sich bezüglich des Vergleichs von NGAL und CAF folgendes feststellen: Vor KMB zeigte S-CAF die stärkere Korrelation mit der Nierenfunktion und erbrachte in der Regressionsanalyse exaktere Ergebnisse beim Rückschluss auf Kreatininwerte. Nach KMB verhielt es sich umgekehrt. NGAL hatte nun den stärksten Zusammenhang mit Kreatinin und ermöglichte eine genauere Prognose der Kreatininkonzentration. CAF als diagnostischer Marker für ein KM-ANV hat sich in dieser Studie somit nicht bewährt.

Bei der Analyse der Kreatinindynamik fallen 24 Patienten auf, bei denen ein Abfall der Kreatininwerte zu verzeichnen ist. Es ist anzunehmen, dass es sich hierbei um Patienten handelt, die vor stationärem Aufenthalt durch eine geringe Trinkmenge initial höhere Kreatininwerte hatten und von der zusätzlichen Flüssigkeitszufuhr im Rahmen der prophylaktischen Maßnahmen profitiert haben. Eine andere Erklärung für sinkende Kreatininwerte fanden Prowle et al. Sie untersuchten den Verlauf von Kreatinin bei schwerkranken Patienten mit einem Intensivaufenthalt von mindestens 5 Tagen und beobachteten in der Patientengruppe, die kein ANV hatte, einen medianen Abfall der Kreatininwerte um 33% . Auch Patienten der vorliegenden Studien waren teilweise Intensivpatienten. Leider wurden weder der Grund, noch die Dauer des Aufenthalts auf der Intensivstation protokolliert. Es war daher nicht möglich zu untersuchen, ob die 24 Patienten einen Intensivaufenthalt hatten.

Im Urin

Im Urin konnte lediglich ein Zusammenhang zwischen CAF und Kreatinin nachgewiesen werden, zwischen U-NGAL und Kreatinin ergab sich kein signifikanter Zusammenhang.

Die Auswertung und Interpretation der Urinwerte war durch die prophylaktischen Maßnahmen der Flüssigkeitsgabe erschwert. Es war nicht möglich die Auswirkung der Volumentherapie zu quantifizieren, aber von einer verzerrenden Einflussnahme ist auszugehen.

Die Ausscheidung von CAF im Urin, korrelierte signifikant mit Serumkreatininwerten nach 24h. (U-CAF II, $r = 0.27$, $p = 0.04$; U-CAF III, $r=0.41$, $p<0.01$). Dies bedeutete, dass die Korrelationen zwischen U-CAF und Kreatinin nach KMB stärker waren als vor KMB ($r= 0.16$; $p = 0.04$). Aufgrund der signifikanten Korrelationen war es möglich ein lineares Regressionsmodell aufzustellen. U-CAF-Werte nach 24h konnten dabei zu einem Anteil von 28 % ($R^2 = 0.28$; $p<0.001$) Kreatininwerte nach 24h erklären. Eine Adjustierung verbesserte das Modell auf 38% ($R^2 = 0.38$). Insgesamt war ein Rückschluss auf Serumkreatininwerte anhand der CAF-Ausscheidung demnach nur eingeschränkt möglich.

Im Urin ergab sich für NGAL weder mit Kreatinin, noch mit CAF eine signifikante Korrelation. Für die Zeiträume I, III und IV wurden jeweils negative Korrelationskoeffizienten berechnet. Dieser Umstand bedeutet, dass ein Anstieg der Kreatininkonzentration im Blut mit einer geringeren NGAL- Ausscheidung einherging.

Die zeitgleiche Korrelation im Blut P-NGAL II vs. Kreatinin III zeigte einen der stärksten Zusammenhänge ($r = 0.69$; $p <0.01$). Betrachtet man diese beiden Verläufe gemeinsam, wäre ein Mechanismus denkbar, bei dem NGAL im Blut reaktiv nach KMB kumulierte, weil die Clearance zunächst sank und folglich auch die Ausscheidung abnahm. Wenn es nun einen Schwellenwert im Blut gäbe, ab dem die Ausscheidung wieder zunähme, ähnlich einer Glukosurie bei Hyperglykämie, wäre das eine mögliche Erklärung für den Vorzeichenwechsel der Korrelationskoeffizienten. Die NGAL-Konzentration im Blut wäre dann im Messintervall II nach 8-12h am höchsten gewesen. Leider konnte kein signifikanter Anstieg für NGAL im Blut bzw. Urin nachgewiesen werden.

Der durchschnittliche Abfall der NGAL-Konzentration im Urin nach 3-6 h um 17%, wurde vermutlich durch die präventive Infusionstherapie und die vergrößerte Trinkmenge nach KMB verursacht. Zusätzlich galt zu bedenken, dass das Testkriterium der Normalverteilung betreffend U-NGAL trotz Logarithmierung nur grenzwertig erfüllt war. Interessanterweise war auch im medianen Verlauf ein Abfall von initial 25.4 ng/ml vor KMB auf Werte unterhalb des Messbereichs zu beobachten (3.3).

4.1.3 Limitationen und Stärken der Studie

Eine der deutlichen Stärken dieser Studie ist, dass alle Arbeitsschritte standardisiert in hochqualifizierten Laboren (Abteilung für klinische Chemie Universitätsklinikum rechts der Isar, Neurotune Zürich, Schweiz) vorgenommen worden sind. Die zur Verfügung stehenden Mittel zur Aufbereitung der Proben entsprachen dem aktuellen Goldstandard. Nichtsdestotrotz sind Limitationen aufgetreten, die durchaus auf den Ausgang der Ergebnisse haben Einfluß nehmen können. Einigen Patienten war die Abgabe einer Urinprobe aus praktischen Gründen nicht möglich (Druckverband, kein Harndrang). Sowohl Studienteilnehmer, die eine Angiographie der Beinarterien PTA, als auch diejenigen die eine Angiographie der Koronargefäße PTCA erhalten haben, sind Patienten derselben kardiologischen Abteilung gewesen. Bezüglich kardiovaskulärer Risikoprofile, Vorerkrankungen und Indikation wiesen die Studienteilnehmer große Ähnlichkeiten auf. So wurde beispielsweise bei knapp 80% eine koronare Herzkrankheit und bei gut 80 % eine Hyperlipidämie festgestellt. Die Zusammensetzung des Kollektivs mit Patienten, die an einer Arteriosklerose der Beinarterien oder der Herzkranzgefäße leiden, schuf eine gewisse Inhomogenität. Jedoch spiegelt dieses Kollektiv die Realität wider, da Patienten im Stadium II nach Fontaine-Ratschow in ca. 50 % der Fälle zusätzlich koronare Stenosen aufweisen. Alle Untersuchungen wurden im kardiologischen Katheterlabor des Klinikum rechts der Isar durchgeführt. Der Ablauf der Untersuchung war somit betreffend Technik, Dauer, Durchleuchtungszeit und Nachsorge einheitlich.

Einen wichtigen Punkt der Studie stellen die Ausschlusskriterien dar. Auch, wenn formal jeder Patient aufgenommen wurde, der sich einverstanden erklärte, wurde bereits zuvor bei der stationären Aufnahme eine Selektion vorgenommen. Bei Patienten, die beispielsweise in der vorhergehenden Blutanalyse zu hohe Serumkreatinin oder TSH-

(Thyreoidea-stimulierendes Hormon) Werte hatten, wurde die Untersuchung teils verschoben oder abgesagt. Blutverdünnende Medikamente wie Vitamin K-Antagonisten oder orale Antidiabetika, wie Metformin, mussten vorher pausiert werden. War das nicht der Fall wurden diese Patienten nicht kathetert und folglich aus der Studie ausgeschlossen. Teilweise wurden Fälle bei denen von einer komplizierten und langwierigen Untersuchung ausgegangen wurde, für das nachmittägliche Programm geplant. Auf diese Weise entfiel vor allem bei diesen Studienteilnehmern die 8- 12h Probenentnahme, da diese in die frühen Morgenstunden fiel. In der Folge wäre es möglich, dass Patienten mit schwereren Begleiterkrankungen und potentiell schlechterem Outcome, systematisch ausgeschlossen worden sind.

Es wurde nicht unterschieden, ob die Kontrastmittelgabe aufgrund einer Untersuchung der Koronarien oder der Beinarterien notwendig war. Der direkte Weg vom kardialen Auswurftrakt in das arterielle Gefäßbett der Nieren könnte zu einer größeren Belastung geführt haben, da bei der PTA das venöse System zwischengeschaltet ist. Das applizierte KM-Volumen lag im medianen Mittel bei 150 ml (IQR 120-260). Die Belastung ist abhängig von der verabreichten Menge, in der vorliegenden Studie wurden die unterschiedlichen Volumina nicht berücksichtigt, sondern einheitlich behandelt.

Durch die deutliche Mehrheit männlicher Studienteilnehmer von 71.4%, ist nicht auszuschließen, dass geschlechterspezifische Eigenschaften von C-terminalem Agrin-fragment die Ergebnisse überlagern.

Prophylaktische Maßnahmen sind fester Bestandteil jedes klinischen Procedere, das eine Kontrastmittelexposition erforderlich macht. Diverse Metastudien haben dazu beigetragen den Zusammenhang von KM-ANV zu Mortalität und Langzeit Outcome zu erkennen . Die großzügige intravenöse Flüssigkeitszufuhr zur „Spülung“ der Nieren wurde in dieser Studie präventiv bereits vor der Untersuchung begonnen und im Anschluss weitergeführt. Insbesondere die Ergebnisse der Urindiagnostik sind daher im Hinblick auf Verdünnungseffekte vorsichtig zu interpretieren.

Die Messintervalle ließen eine mögliche zeitliche Varianz von 4h zu, die möglicherweise einen ungünstigen Einfluss auf eine zuverlässige KM-ANV Analyse ausgeübt hat.

4.1.4 Probenentnahme und Aufbereitung

Die Blutproben wurden fachmännisch entnommen und weiterverarbeitet. Allerdings bestehen trotzdem Unsicherheiten durch verschiedene Entnahmeverfahren. Denkbar wären Verdünnungseffekte durch mangelhaftes Abziehen bei bereits liegenden Dauerweilkanülen oder arteriellen Blutentnahmen.

Eine weitere mögliche Fehlerquelle ist der Mittelstrahlurin. Trotz sorgfältiger Anleitung der Studienteilnehmer, muss davon ausgegangen werden, dass Urinproben teilweise kontaminiert waren und zu eventuell falschen Resultaten bei der Analyse mittels Urin-teststreifen führten. Beispielsweise eine durch Fluor vorgetäuschten Leukozyturie bei Studienteilnehmerinnen. Eine Leukozyturie ist definiert über die Anzahl von mehr als 10 Leukozyten/ μl Urin . Der Urinestreifen begann seinen Messbereich aber erst ab einer Leukozyturie von mindestens 25 Leukozyten/ μl .

Zudem war die Feststellung einer Proteinurie anhand der U-Stixanalyse nur eingeschränkt möglich, da der Messbereich des Teststreifens im Makroalbuminbereich von 200 mg/dl lag. Das Auftreten einer isolierten Proteinurie wurde dazu verwendet innerhalb der Klassifikation für ein chronisches Nierenleiden (CKD) zwischen den Stadien 0 (erhöhtes Risiko einer Niereninsuffizienz) und 1 (Nierenschaden bei normaler Funktion) zu differenzieren, die beide eine $\text{GFR} \geq 90 \text{ ml/min}$ beinhalten. Eine illegitime Einteilung in das Stadium 1, aufgrund einer nicht-detektierten Proteinurie, wäre demnach möglich. Die weitere Zuordnung in die Klassen 3-5 erfolgte anhand der GFR, die mittels Cockcroft-Gault-Formel berechnet wurde. Da diese Formel die tubuläre Sekretion von Kreatinin unterschlägt, überschätzt sie die Kreatinin-Clearance, wodurch die Nierenfunktion der Patienten in dieser Studie eventuell besser eingestuft wurde, als sie tatsächlich war.

4.1.5 KM-ANV Kollektiv

Bei Studienteilnehmern mit einem Serumkreatininanstieg von mindestens 25% zum Ausgangswert, wurde per definitionem ein akutes Nierenversagen diagnostiziert. Die Diagnose wurde bei diesen Patienten durch einen signifikanten Anstieg des Schadensmarker NGAL um 26% nach 20-24h ($p=0.01$) bestärkt. Die Annahme, dass CAF eine reaktive Schädigung der Niere nachweist, ließe in einem gesicherten ANV-Kollektiv

einen signifikanten Anstieg der CAF-Werte nach Kontrastmittelbelastung erwarten. Jedoch zeigt sich, weder im T-Test ein Anstieg im individuellen Verlauf des CAF, noch im Man-Whitney-U Test ein Unterschied im Gruppenvergleich ANV vs. NON-ANV.

4.1.6 Problematik des ANV- Kollektivs

Die Messung des Serumkreatinin vor und nach KMB ermöglichte die Diagnose einer KM-ANV bei 7 Patienten. Im Vergleich mit dem Gesamtkollektiv handelt es sich hierbei um 3.5%. Nun wurde lediglich bei 99 von insgesamt 199 Patienten ein zweiter Kreatininwert nach 20- 24h erhoben. Die Aussage, 3.5 % der Teilnehmer entwickelten ein KM-ANV, brachte daher mehrere Probleme mit sich. Zum einen gab es 100 Patienten bei denen das Auftreten einer möglichen KM-ANV unerkannt geblieben ist, da keine Verlaufswerte für Kreatinin zur Verfügung standen. Berücksichtigt man diesen Aspekt steigt der prozentuale Anteil an Patienten mit konsekutiver KM-ANV auf 7.1% und bestätigt somit die Zahlen derzeitig führender Studien über KM-ANV . In der vorliegenden Studie war das Kriterium einer KM-ANV ein mindestens 25% Anstieg von Kreatinin innerhalb von 24h. Damit findet die gängige Definition der KM-ANV Verwendung . Das Acute Kidney Injury Network ANVN fordert beispielsweise einen absoluten Anstieg von 0.3mg/dl in Kombination mit einer Oligurie. Einigkeit herrscht jedoch über das Zeitfenster, das der Kreatininanstieg benötigt. Die KM-ANV kann anhand von Kreatinin erst nach einem Funktionsverlust erkannt werden, der frühestens nach 24h auftritt. Es muss demnach davon ausgegangen werden, dass zu den 100 Patienten mit unbekanntem Status, weitere Patienten aus der Gruppe der 99 eine unentdeckte KM-ANV entwickelten, die erst im Verlauf auftrat.

Differentialdiagnostisch besteht die Möglichkeit einer prärenalen Niereninsuffizienz, die nicht auf die Kontrastmittelbelastung zurückzuführen ist, sondern z.B. auf eine renale Minderperfusion aufgrund der Flüssigkeitskarenz. Ein Anstieg des Funktionsmarkers ist dann auch hier die Folge, während erhöhte Schadensmarker initial, aufgrund der fehlenden toxischen Genese nicht zu erwarten sind. Erst bei persistierender Problematik entsteht im Verlauf ein renaler Schaden mit eventuellem Anstieg von Schadensmarkern. Bei diesen 7 Patienten konnte jedoch für NGAL ein signifikanter Anstieg von durchschnittlich 26 % nach 24h beobachtet werden. Auch der Man-Whitney-U Test bestätigte einen Unterschied bezüglich NGAL zwischen der Gruppe mit KM-ANV und der Gruppe ohne KM-ANV ($p < 0.01$).

4.1.7 CAF als prognostischer Faktor für KM-ANV

Statistische Analysen von CAF innerhalb des ANV-Kollektivs (n=7) waren einheitlich nicht signifikant. Die Detektion der KM-ANV ist demnach nicht gelungen. Allerdings gilt es eines zu beachten. Die Definition des KM-ANV richtete sich in diesem Studienkollektiv letztlich nach dem Kreatininstoffwechsel. Falls CAF ein Schadensmarker ist, könnte er aber einem völlig anderen Pathomechanismus unterliegen. Denkbar wäre folgender Ablauf: ein schneller Anstieg von kurzer Dauer (wie hier im Gesamtkollektiv gemessen) aufgrund eines Schadens. Angenommen der Schaden führte nicht zu einer eingeschränkten Nierenfunktion, so wäre auch kein Kreatininanstieg zu erwarten. Im Rückschluss müsste im gesicherten KM-ANV-Kollektiv ein signifikanter Anstieg der CAF-Werte zu verzeichnen sein, was nicht der Fall war. Die geringe Anzahl von 7 Patienten hatte womöglich eine ungünstige Auswirkung auf die statistische Aussagekraft. Denn bei einfacher Betrachtung der Werte fiel ein absoluter CAF-Anstieg von 5.11% bis 29.59 % bei 4 von 6 Patienten auf.

Zusammenfassend konnte bei der Analyse des Gesamtkollektivs ein Zusammenhang mit dem renalen Stoffwechsel gezeigt werden. Die Ergebnisse lieferten keine Hinweise zur Erklärung des S-CAF Anstiegs nach 3-6h. Um den Ln-S-CAF Anstieg als Reaktion auf die KMB zu interpretieren, wären weitere Studien sinnvoll, um die Reproduzierbarkeit zu testen. Zusätzlich wäre ein Kontrollkollektiv von Vorteil um Normwerte, physiologische Schwankungen und weitere Charakteristika, wie Geschlechtsspezifität zu erkennen. Ohne die Grundlage eines gesicherten Prozesses in der Niere, sind Erklärungen über das beobachtete Verhalten des CAF, von spekulativem Charakter.

5 Zusammenfassung

Heutzutage werden in der Kardiologie diagnostische Fragestellungen bezüglich der Herzkranzgefäße routinemäßig mit einer transfemorale/transradialen Katheteruntersuchung beantwortet. Das hierbei verwendete Kontrastmittel (KM) belastet die Nierenfunktion und kann zu einem Kontrastmittel-induzierten Nierenversagen (KM-ANV) führen. Diese schwerwiegende iatrogene Komplikation entsteht durch eine direkte toxische Wirkung des KM auf die Tubuluszellen und führt zu deren Untergang. Das Auftreten eines KM-ANV im Rahmen einer Herzkatheteruntersuchungen ist dabei kein passageres Geschehen, sondern stellt meist die Weichen zu einer dauerhaft verschlechterten Nierenfunktion und hat nachweislich einen negativen Einfluss auf Morbidität, Mortalität, Dauer der stationären Behandlung und Kosten für das Gesundheitssystem .

Die Detektion des KM-ANV geschieht momentan über eine Messung des Serumkreatinins und stellt sich aus mehreren Gründen problematisch dar.

Erstens ist die Definition des KM-ANV uneinheitlich. Das Acute Kidney Network (AKIN) schreibt einen absoluten Anstieg des Serumkreatinins um 0.3 mg/dl in Kombination mit einer Oligurie vor. Andere Definitionen verlangen einen Anstieg um 25 % vom Ausgangswert letztere fand auch in der vorliegenden Arbeit Verwendung.

Zweitens ist der Kreatininspiegel im Blut einer Vielzahl an Einflüssen unterworfen, wie Alter, Geschlecht, körperliche Belastung. Er spiegelt damit nur ein ungenaues Bild der Nierenfunktion wider.

Drittens ist zu beachten, dass ein Anstieg von Kreatinin den Funktionsverlust aufgrund eines bereits entstandenen Schadens kennzeichnet und eine Latenzzeit von mindestens 24h hat. Eine frühzeitige Diagnostik, die bereits kleinere Schäden demaskiert bevor es zu einer Insuffizienz kommt, ist mit Kreatinin nicht möglich.

In den letzten Jahren erbrachten verschiedene Biomarker wie beispielsweise Cystatin C, KIM-1 (Kidney injury molecule-1), IL-18 (Interleukin 18) oder das Neutrophile Gelatinase-assoziierte Lipocalin (NGAL) vielversprechende Ergebnisse. Sie sollen die frühzeitige Detektion von Nierenschäden, noch vor dem Funktionsverlust, ermöglichen. Im klinischen Alltag konnte sich bisher allerdings keiner dieser Marker durchsetzen.

In dieser Studie wird das diagnostische Potential eines weiteren Kandidaten untersucht. Es handelt sich um das noch weitgehend unbekanntes C-terminales Agrinfragment. Ein Spaltprodukt von Agrin, einem großen Proteoglykan, das bereits in der Embryogenese bei der Entwicklung von neuromuskulären Endplatten eine wichtige Rolle spielt.

Steubl et al untersuchten das Verhalten von CAF in einer prospektive Studie mit 110 Patienten vor und nach einer Nierentransplantation. Sie konnten eine starke Korrelation zwischen CAF und Kreatinin beobachten und stellten unter anderem 19-Mal höhere CAF-Konzentrationen bei Patienten im Endstadium eines chronischen Nierenleidens, im Vergleich zu einem gesunden Kollektiv, fest. Nach erfolgreicher Nierentransplantation war ein deutliches Absinken der initial hohen CAF-Werte zu beobachten.

In der vorliegenden Studie wurde untersucht, inwiefern CAF das Auftreten eines KM-ANV nach einer Katheteruntersuchung bezüglich der Herzkranzgefäße oder der Bein-gefäße detektieren kann. Hierzu wurden bei einem kardiologischen Kollektiv von 199 Patienten Blut- und Urinproben vor Kontrastmittelbelastung (KMB) sowie zu 4 gestaffelten Zeitpunkten nach KMB gesammelt. Es erfolgte die Bestimmung des etablierten und gängigen Markers Kreatinin und des Schadensmarkers NGAL im Institut für Klinische Chemie und Pathobiochemie des Klinikum rechts der Isar. Die Bestimmung des neuen Biomarkers CAF erfolgte durch die Schweizer Firma Neurotune und deren speziell entwickelten Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) zur Detektion und Quantifizierung von CAF.

Vor der KMB korrelierten CAF-Werte im Serum (S-CAF) signifikant mit Serumkreatininwerten (S-Kreatinin) ($r = 0.5$; $p < 0.01$), der glomerulären Filtrationsrate (GFR) ($r = -0.59$; $p < 0.01$) und NGAL-Werten im Plasma (P-NGAL) mit $r = 0.41$ ($p < 0.01$). Auch CAF-Werte im Urin (U-CAF) wiesen einen signifikanten, wenn auch schwachen Zusammenhang zu Serumkreatinin auf ($r = 0.16$; $p = 0.04$). Somit zeigte sich eindeutig ein Zusammenhang zwischen dem renalen Stoffwechsel und CAF.

Die stärkste Korrelation nach KMB bestand im Blut zwischen S-CAF-Werten nach 3-6h Stunden und S-Kreatinin nach 24h ($r = 0.45$; $p < 0.01$). Im Urin ergab sich zwischen U-CAF nach 24h und Kreatinin nach 24h eine ähnlich starke Korrelation ($r = 0.41$; $p = 0.01$).

Außerdem fiel ein signifikanter Ln-S-CAF-Anstieg um durchschnittlich 4% 3-6h nach KMB auf. Für Ln-NGAL im Plasma ergab sich kein reaktiver Anstieg nach KMB. Die

Ln-NGAL-Werte im Urin sanken sogar nach 3-6 Stunden durchschnittlich um 17% unter den Anfangswert.

Leider konnte im untersuchten Kollektiv kein reaktiver Kreatininanstieg gemessen werden. Somit konnte die vermutete Beeinträchtigung der Nierenfunktion durch das Kontrastmittel nicht objektiv bestätigt werden. Möglicherweise sind hier Verdünnungseffekte durch die vorbeugenden Maßnahmen mittels forcierter intravenöser Volumengabe, ein zu kurzer Beobachtungszeitraum oder ein nicht ausreichend großes Patientenkollektiv verantwortlich. Letztlich bedeutete dies, dass der beobachtete Anstieg von S-CAF durch das nicht Ansprechen der Kontrollmarker Kreatinin und NGAL schwer einzuordnen war. Die Behauptung CAF sei tatsächlich ein sensiblerer Detektor und deshalb isoliert angestiegen wurde durch folgende Beobachtung eher entkräftet. In einem gesicherten KM-ANV Kollektiv (7 von 199 Patienten mit einem Kreatininanstieg $\geq 25\%$ innerhalb von 24h), das parallel sogar einen signifikanten P-NGAL-Anstieg (26% nach 24h im Vergleich zum Anfangswert, $p = 0.01$) zu verzeichnen hatte, konnte *kein* signifikanter Verlauf betreffend CAF beobachtet werden.

Es stellte sich somit unweigerlich die Frage, ob nicht ein anderer Faktor als KMB für den kollektiven Anstieg der S-CAF-Werte verantwortlich war. Die Messung von CAF-Werten in einem gesunden Normalkollektiv könnte diesbezüglich aufschlussreich sein und Auskunft über spezifische Charakteristika dieses neuen Biomarkers geben. Bis es gesicherte Erkenntnisse über die zellulären Prozesse gibt, bleiben die Erklärungen zum Verhalten von CAF Spekulation.

Nichtsdestotrotz sollte das diagnostische Potential von CAF weiter untersucht werden, da eine Rolle im Nierenstoffwechsel sicher scheint und mehrere Stärken und Vorteile von CAF gegenüber Kreatinin anzunehmen sind: der Anstieg der CAF-Konzentration 3-6 Stunden nach KMB deutete auf eine schnelle Reaktionszeit hin und könnte einen Ausweg aus dem zeitlichen Dilemma mit Kreatinin und dessen 24-stündiger Verzögerung bieten. Darüber hinaus erbrachte CAF als Nierenmarker nach Dialyseverfahren in einer Studie bereits aussichtsreiche Ergebnisse. Auch nach erfolgter Nierentransplantation scheint CAF zur frühen Detektion eines drohenden Transplantatversagens und Proteinurie einsetzbar zu sein. Im Vergleich mit Kreatinin zeichnete es sich in dieser Studie durch eine feinere Abstufung aus. (Medianer Wert von S-Kreatinin vor KMB von 1 mg/dl, IQR von 0.8-1.2 mg/dl. Im Vergleich dazu ein medianer S-CAF 0 Wert von 1.77 ng/ml, IQR von 1.34-2.36 ng/ml.)

Sollte sich CAF als Nierenmarker etablieren, besteht somit die Möglichkeit einer zeitnahen, empfindlichen und akkuraten Abbildung der Nierenfunktion. Der zeitliche Vorsprung durch die Früherkennung eines drohenden KM-ANV würde Patienten schneller die notwendigen therapeutischen Schritten zukommen zu lassen und somit die Prognose direkt verbessern.

6 Literaturverzeichnis

- Alessandri, N., L. Lanzi, C. M. Garante, F. Tersigni, R. Sergiacomi, M. Petrassi, A. Di Matteo, and F. Tufano. "Prevention of Acute Renal Failure Post-Contrast Imaging in Cardiology: A Randomized Study." *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 17 Suppl 1 (Feb 2013): 13-21.
- Alexopoulos, E., K. Spargias, S. Kyrzopoulos, A. Manginas, G. Pavlides, V. Voudris, S. Lerakis, D. S. McLean, and D. V. Cokkinos. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury in Patients with Renal Dysfunction Undergoing a Coronary Procedure and Receiving Non-Ionic Low-Osmolar Versus Iso-Osmolar Contrast Media." *Am J Med Sci* 339, no. 1 (Jan 2010): 25-30.
- Aydogdu, M., G. Gursel, B. Sancak, S. Yeni, G. Sari, S. Tasyurek, M. Turk, *et al.* "The Use of Plasma and Urine Neutrophil Gelatinase Associated Lipocalin (Ngal) and Cystatin C in Early Diagnosis of Septic Acute Kidney Injury in Critically Ill Patients." *Dis Markers* 34, no. 4 (2013): 237-46.
- Bartholomew, B. A., K. J. Harjai, S. Dukkupati, J. A. Boura, M. W. Yerkey, S. Glazier, C. L. Grines, and W. W. O'Neill. "Impact of Nephropathy after Percutaneous Coronary Intervention and a Method for Risk Stratification." *Am J Cardiol* 93, no. 12 (Jun 15 2004): 1515-9.
- Bennett, M., C. L. Dent, Q. Ma, S. Dastrala, F. Grenier, R. Workman, H. Syed, *et al.* "Urine Ngal Predicts Severity of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery: A Prospective Study." *Clin J Am Soc Nephrol* 3, no. 3 (May 2008): 665-73.
- Best, P. J., R. Lennon, H. H. Ting, M. R. Bell, C. S. Rihal, D. R. Holmes, and P. B. Berger. "The Impact of Renal Insufficiency on Clinical Outcomes in Patients Undergoing Percutaneous Coronary Interventions." *J Am Coll Cardiol* 39, no. 7 (Apr 3 2002): 1113-9.
- Bioporto, http://ngal.com/media/30866/the_ngal_test_roche_modular_p_ivd.pdf. [http](http://ngal.com/media/30866/the_ngal_test_roche_modular_p_ivd.pdf)
- Chertow, G. M., E. Burdick, M. Honour, J. V. Bonventre, and D. W. Bates. "Acute Kidney Injury, Mortality, Length of Stay, and Costs in Hospitalized Patients." *J Am Soc Nephrol* 16, no. 11 (Nov 2005): 3365-70.
- Daryadel, Arezoo, M. Haubitz, Marta Figueiredo, D. Steubl, M. Roos, Armin Mäder, S. Hettwer, and C. A. Wagner. "The C-Terminal Fragment of Agrin (Caf) Is Filtered and Reabsorbed by the Kidney." University of Zurich,, Zurich Switzerland.
- Drey, M., C. C. Sieber, J. M. Bauer, W. Uter, P. Dahinden, R. G. Fariello, J. W. Vrijbloed, and A. T. intervention group Fi. "C-Terminal Agrin Fragment as a Potential Marker for Sarcopenia Caused by Degeneration of the Neuromuscular Junction." *Exp Gerontol* 48, no. 1 (Jan 2013): 76-80.
- Fragala, M. S., A. R. Jajtner, K. S. Beyer, J. R. Townsend, N. S. Emerson, T. C. Scanlon, L. P. Oliveira, J. R. Hoffman, and J. R. Stout. "Biomarkers of Muscle Quality: N-Terminal Propeptide of Type Iii Procollagen and C-Terminal Agrin Fragment Responses to Resistance Exercise Training in Older Adults." *J Cachexia Sarcopenia Muscle* 5, no. 2 (Jun 2014): 139-48.
- Groffen, A. J., M. A. Ruegg, H. Dijkman, T. J. van de Velden, C. A. Buskens, J. van den Born, K. J. Assmann, *et al.* "Agrin Is a Major Heparan Sulfate Proteoglycan in the Human Glomerular Basement Membrane." *J Histochem Cytochem* 46, no. 1 (Jan 1998): 19-27.

- Haase-Fielitz, A., R. Bellomo, P. Devarajan, M. Bennett, D. Story, G. Matalanis, U. Frei, D. Dragun, and M. Haase. "The Predictive Performance of Plasma Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) Increases with Grade of Acute Kidney Injury." *Nephrol Dial Transplant* 24, no. 11 (Nov 2009): 3349-54.
- Hassinger, A. B., C. L. Backer, J. C. Lane, S. Haymond, D. Wang, and E. L. Wald. "Predictive Power of Serum Cystatin C to Detect Acute Kidney Injury and Pediatric-Modified Rife Class in Children Undergoing Cardiac Surgery." *Pediatr Crit Care Med* 13, no. 4 (Jul 2012): 435-40.
- Herold, Gerd. *Innere Medizin Eine Vorlesungsorientierte Darstellung ; Unter Berücksichtigung Des Gegenstandskataloges Für Die Ärztliche Prüfung ; Mit Icd 10-Schlüssel Im Text Und Stichwortverzeichnis* [in ger]. Köln: Herold, 2013.
- Hettwer, S., P. Dahinden, S. Kucsera, C. Farina, S. Ahmed, R. Fariello, M. Drey, C. C. Sieber, and J. W. Vrijbloed. "Elevated Levels of a C-Terminal Agrin Fragment Identifies a New Subset of Sarcopenia Patients." *Exp Gerontol* 48, no. 1 (Jan 2013): 69-75.
- Jaffe, A. S., L. Babuin, and F. S. Apple. "Biomarkers in Acute Cardiac Disease: The Present and the Future." *J Am Coll Cardiol* 48, no. 1 (Jul 4 2006): 1-11.
- James, M. T., S. M. Samuel, M. A. Manning, M. Tonelli, W. A. Ghali, P. Faris, M. L. Knudtson, N. Pannu, and B. R. Hemmelgarn. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury and Risk of Adverse Clinical Outcomes after Coronary Angiography: A Systematic Review and Meta-Analysis." *Circ Cardiovasc Interv* 6, no. 1 (Feb 2013): 37-43.
- Karlsberg, R. P., S. Y. Dohad, R. Sheng, and C. T. A. Study Investigator Panel Iodixanol Peripheral. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury (Ci-Aki) Following Intra-Arterial Administration of Iodinated Contrast Media." *J Nephrol* 23, no. 6 (Nov-Dec 2010): 658-66.
- Keaney, J. J., C. M. Hannon, and P. T. Murray. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury: How Much Contrast Is Safe?". *Nephrol Dial Transplant* (Feb 14 2013).
- Kini, A. S., K. Sarkar, O. C. Rafael, M. Jakkula, D. Kaplish, P. Lee, J. Suleman, *et al.* "Serum Creatinine Ratio: A Novel Predictor of Mortality after Percutaneous Coronary Intervention in Patients with Normal and Abnormal Renal Function." *Catheter Cardiovasc Interv* 74, no. 1 (Jul 1 2009): 49-55.
- Kuhlmann, Ulrich, and Dominik Mark Alscher. *Nephrologie Pathophysiologie - Klinik - Nierenersatzverfahren ; 252 Tabellen* [in de]. 5., ©*berarb. und erw. Aufl. ed. Stuttgart u.a.: Thieme, 2008.
- L. Steinbeck, N. Ebner, M. Valentova, A. Sandek, T. Bekfani, W. Doehner, S.D. Anker, S. Von Haehling. "C-Terminal Agrin-Fragment as a Novel Diagnostic Marker for Muscle Wasting in Patients with Chronic Heart Failure: Results from the Studies Investigating Co-Morbidities Aggravating Heart Failure." (2013).
- Lassnigg, A., D. Schmidlin, M. Mouhieddine, L. M. Bachmann, W. Druml, P. Bauer, and M. Hiesmayr. "Minimal Changes of Serum Creatinine Predict Prognosis in Patients after Cardiothoracic Surgery: A Prospective Cohort Study." *J Am Soc Nephrol* 15, no. 6 (Jun 2004): 1597-605.
- Lattanzio, M. R., and N. P. Kopyt. "Acute Kidney Injury: New Concepts in Definition, Diagnosis, Pathophysiology, and Treatment." *J Am Osteopath Assoc* 109, no. 1 (Jan 2009): 13-9.

- Levey, A. S., L. A. Stevens, C. H. Schmid, Y. L. Zhang, A. F. Castro, 3rd, H. I. Feldman, J. W. Kusek, *et al.* "A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate." *Ann Intern Med* 150, no. 9 (May 5 2009): 604-12.
- Liu, Z. Z., K. Schmerbach, Y. Lu, A. Perlewitz, T. Nikitina, K. Cantow, E. Seeliger, *et al.* "Iodinated Contrast Media Cause Direct Tubular Cell Damage, Leading to Oxidative Stress, Low Nitric Oxide, and Impairment of Tubuloglomerular Feedback." *Am J Physiol Renal Physiol* 306, no. 8 (Apr 15 2014): F864-72.
- McCullough, P. A. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury." *J Am Coll Cardiol* 51, no. 15 (Apr 15 2008): 1419-28.
- McCullough, P. A., and J. R. Brown. "Effects of Intra-Arterial and Intravenous Iso-Osmolar Contrast Medium (Iodixanol) on the Risk of Contrast-Induced Acute Kidney Injury: A Meta-Analysis." *Cardiorenal Med* 1, no. 4 (2011): 220-34.
- Mehta, R. L., J. A. Kellum, S. V. Shah, B. A. Molitoris, C. Ronco, D. G. Warnock, A. Levin, and Network Acute Kidney Injury. "Acute Kidney Injury Network: Report of an Initiative to Improve Outcomes in Acute Kidney Injury." *Crit Care* 11, no. 2 (2007): R31.
- Mishra, J., C. Dent, R. Tarabishi, M. M. Mitsnefes, Q. Ma, C. Kelly, S. M. Ruff, *et al.* "Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) as a Biomarker for Acute Renal Injury after Cardiac Surgery." *Lancet* 365, no. 9466 (Apr 2-8 2005): 1231-8.
- Myers, G. L., W. G. Miller, J. Coresh, J. Fleming, N. Greenberg, T. Greene, T. Hostetter, *et al.* "Recommendations for Improving Serum Creatinine Measurement: A Report from the Laboratory Working Group of the National Kidney Disease Education Program." *Clin Chem* 52, no. 1 (Jan 2006): 5-18.
- Neurotune.
["Http://Www.Neurotune.Com/TL_Files/Neurotune/Pdf/Ntcaf_Elisa_Manual.Pdf."](http://www.Neurotune.Com/TL_Files/Neurotune/Pdf/Ntcaf_Elisa_Manual.Pdf)
 "
[http://www.neurotune.com/tl_files/neurotune/pdf/NTCAF_ELISA_Manual.pdf.](http://www.neurotune.com/tl_files/neurotune/pdf/NTCAF_ELISA_Manual.pdf)
- Neyra, J. A., S. Shah, R. Mooney, G. Jacobsen, J. Yee, and J. E. Novak. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury Following Coronary Angiography: A Cohort Study of Hospitalized Patients with or without Chronic Kidney Disease." *Nephrol Dial Transplant* (Apr 12 2013).
- Otto, G. P., M. Busch, M. Sossdorf, and R. A. Claus. "Impact of Sepsis-Associated Cytokine Storm on Plasma Ngal During Acute Kidney Injury in a Model of Polymicrobial Sepsis." *Crit Care* 17, no. 2 (Mar 19 2013): 419.
- Poggio, E. D., P. C. Nef, X. Wang, T. Greene, F. Van Lente, V. W. Dennis, and P. M. Hall. "Performance of the Cockcroft-Gault and Modification of Diet in Renal Disease Equations in Estimating Gfr in Ill Hospitalized Patients." *Am J Kidney Dis* 46, no. 2 (Aug 2005): 242-52.
- Prowle, J. R., I. Kolic, J. Purdell-Lewis, R. Taylor, R. M. Pearse, and C. J. Kirwan. "Serum Creatinine Changes Associated with Critical Illness and Detection of Persistent Renal Dysfunction after Aki." *Clin J Am Soc Nephrol* 9, no. 6 (Jun 6 2014): 1015-23.
- Raats, C. J., J. van den Born, M. A. Bakker, B. Oppers-Walgreen, B. J. PISA, H. B. Dijkman, K. J. Assmann, and J. H. Berden. "Expression of Agrin, Dystroglycan, and Utrophin in Normal Renal Tissue and in Experimental Glomerulopathies." *Am J Pathol* 156, no. 5 (May 2000): 1749-65.
- Rhoades, Rodney, and David R. Bell. *Medical Physiology : Principles for Clinical Medicine*. 4th ed. Philadelphia: Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2013.

- Rienstra, H., K. Katta, J. W. Celie, H. van Goor, G. Navis, J. van den Born, and J. L. Hillebrands. "Differential Expression of Proteoglycans in Tissue Remodeling and Lymphangiogenesis after Experimental Renal Transplantation in Rats." *PLoS One* 5, no. 2 (2010): e9095.
- Ronco, C., F. Stacul, and P. A. McCullough. "Subclinical Acute Kidney Injury (Aki) Due to Iodine-Based Contrast Media." *Eur Radiol* 23, no. 2 (Feb 2013): 319-23.
- Schilcher, G., W. Ribitsch, R. Otto, R. H. Portugaller, F. Quehenberger, M. Truschnig-Wilders, R. Zweiker, *et al.* "Early Detection and Intervention Using Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) May Improve Renal Outcome of Acute Contrast Media Induced Nephropathy: A Randomized Controlled Trial in Patients Undergoing Intra-Arterial Angiography (Anti-Cin Study)." *BMC Nephrol* 12 (2011): 39.
- Sendeski, M. M., A. B. Persson, Z. Z. Liu, J. F. Busch, S. Weikert, P. B. Persson, S. Hippenstiel, and A. Patzak. "Iodinated Contrast Media Cause Endothelial Damage Leading to Vasoconstriction of Human and Rat Vasa Recta." *Am J Physiol Renal Physiol* 303, no. 12 (Dec 15 2012): F1592-8.
- Shemin, D., and L. D. Dworkin. "Neutrophil Gelatinase-Associated Lipocalin (Ngal) as a Biomarker for Early Acute Kidney Injury." *Crit Care Clin* 27, no. 2 (Apr 2011): 379-89.
- Shlipak, M. G., S. G. Coca, Z. Wang, P. Devarajan, J. L. Koyner, U. D. Patel, H. Thiessen-Philbrook, *et al.* "Presurgical Serum Cystatin C and Risk of Acute Kidney Injury after Cardiac Surgery." *Am J Kidney Dis* 58, no. 3 (Sep 2011): 366-73.
- Spahillari, A., C. R. Parikh, K. Sint, J. L. Koyner, U. D. Patel, C. L. Edelstein, C. S. Passik, *et al.* "Serum Cystatin C- Versus Creatinine-Based Definitions of Acute Kidney Injury Following Cardiac Surgery: A Prospective Cohort Study." *Am J Kidney Dis* 60, no. 6 (Dec 2012): 922-9.
- Stephan, A., J. M. Mateos, S. V. Kozlov, P. Cinelli, A. D. Kistler, S. Hettwer, T. Rulicke, *et al.* "Neurotrypsin Cleaves Agrin Locally at the Synapse." *FASEB J* 22, no. 6 (Jun 2008): 1861-73.
- Steubl, D., S. Hettwer, P. Dahinden, P. Wolf, P. Lupp, C. A. Wagner, C. Kuchle, *et al.* "Influence of High-Flux Hemodialysis and Hemodiafiltration on Serum C-Terminal Agrin Fragment Levels in End-Stage Renal Disease Patients." *Transl Res* (May 16 2014).
- Steubl, D., S. Hettwer, W. Vrijbloed, P. Dahinden, P. Wolf, P. Lupp, C. A. Wagner, *et al.* "C-Terminal Agrin Fragment--a New Fast Biomarker for Kidney Function in Renal Transplant Recipients." *Am J Nephrol* 38, no. 6 (2013): 501-8.
- Steubl, D., A. Vogel, S. Hettwer, S. Tholen, P. B. Lupp, I. C. Rondak, L. Renders, U. Heemann, and M. Roos. "Early Postoperative C-Terminal Agrin Fragment (Caf) Serum Levels Predict Graft Loss and Proteinuria in Renal Transplant Recipients." *Clin Chem Lab Med* 54, no. 1 (Jan 1 2016): 63-72.
- Tehrani, D. M., and A. H. Seto. "Third Universal Definition of Myocardial Infarction: Update, Caveats, Differential Diagnoses." *Cleve Clin J Med* 80, no. 12 (Dec 2013): 777-86.
- Tehrani, S., C. Laing, D. M. Yellon, and D. J. Hausenloy. "Contrast-Induced Acute Kidney Injury Following Pci." *Eur J Clin Invest* 43, no. 5 (May 2013): 483-90.
- Thomsen, H. S., and Radiology European Society of Urogenital. "European Society of Urogenital Radiology Guidelines on Contrast Media Application." *Curr Opin Urol* 17, no. 1 (Jan 2007): 70-6.

- Valette, X., J. J. Parienti, B. Plaud, P. Lehoux, D. Samba, and J. L. Hanouz. "Incidence, Morbidity, and Mortality of Contrast-Induced Acute Kidney Injury in a Surgical Intensive Care Unit: A Prospective Cohort Study." *J Crit Care* 27, no. 3 (Jun 2012): 322 e1-5.
- Verbrugge, F. H., M. Dupont, Z. Shao, K. Shrestha, D. Singh, M. Finucan, W. Mullens, and W. H. Tang. "Novel Urinary Biomarkers in Detecting Acute Kidney Injury, Persistent Renal Impairment, and All-Cause Mortality Following Decongestive Therapy in Acute Decompensated Heart Failure." *J Card Fail* 19, no. 9 (Sep 2013): 621-8.
- Waikar, S. S., K. D. Liu, and G. M. Chertow. "Diagnosis, Epidemiology and Outcomes of Acute Kidney Injury." *Clin J Am Soc Nephrol* 3, no. 3 (May 2008): 844-61.
- Wi, J., Y. G. Ko, J. S. Kim, B. K. Kim, D. Choi, J. W. Ha, M. K. Hong, and Y. Jang. "Impact of Contrast-Induced Acute Kidney Injury with Transient or Persistent Renal Dysfunction on Long-Term Outcomes of Patients with Acute Myocardial Infarction Undergoing Percutaneous Coronary Intervention." *Heart* 97, no. 21 (Nov 2011): 1753-7.
- Wiedermann, C. J., and M. Joannidis. "Increasing Evidence Base for Sodium Bicarbonate Therapy to Prevent Contrast Media-Induced Acute Kidney Injury: Little Role of Unpublished Studies." *Nephrol Dial Transplant* 25, no. 3 (Mar 2010): 650-4.
- Xu, S. Y., K. Pauksen, and P. Venge. "Serum Measurements of Human Neutrophil Lipocalin (HnI) Discriminate between Acute Bacterial and Viral Infections." *Scand J Clin Lab Invest* 55, no. 2 (Apr 1995): 125-31.
- Zarbock, A., S. John, A. Jorres, and D. Kindgen-Milles. "[New Kidney Guidelines on Acute Kidney Injury. Practical Recommendations]." *Anaesthesist* 63, no. 7 (Jul 2014): 578-88.

Danksagung

Ich möchte Univ.-Prof. Dr. med. Karl-Ludwig Laugwitz und seinen Mitarbeitern in der I. Medizinische Klinik und Poliklinik für Kardiologie, Angiologie, Pneumologie und interistische Intensivmedizin für die ausgezeichnete Zusammenarbeit bei der Rekrutierung des Patientenkollektivs danken.

Darüber hinaus bedanke ich mich bei den Mitarbeitern des Instituts für Medizinische Statistik und Epidemiologie des Klinikum rechts der Isar der TU München Petra Wolf und Ina-Christine Rondak für die umfassende Beratung und vortreffliche Betreuung in statistischen Angelegenheiten.

Mein herzlicher Dank gilt dem Institut für Klinischen Chemie und Pathobiochemie des Klinikum rechts der Isar unter der Leitung von Herrn Professor Dr. med. Peter Luppä für eine hervorragende Beratung bezüglich laborchemischer Fragen und die engagierte Unterstützung von Frau Ursula Huber, Frau Michaela Glos und Frau Sandra Reuwand bei der Analyse von NGAL.

Ganz besonderer Dank gilt Herrn PD Dr. med. Marcel Roos, der mir die Möglichkeit gab diese Studie unter seiner großartigen Leitung und exzellenten Betreuung durchzuführen.

Meiner Familie widme ich diese Arbeit. Ohne die uneingeschränkte Unterstützung meiner Eltern und Geschwister wären mein Studium und diese Dissertation nicht möglich gewesen.

Famulaturen
2010-2011
Abteilung für diagnostische und interventionelle Radiologie des Klinikums Neuperlach, München; Abteilung für Innere Medizin, Diabetologie, Endokrinologie und Angiologie des Klinikums Neuperlach, München; Praxis für Allgemeinmedizin, Jochen Pöller, München; Abteilung für Unfallchirurgie des Klinikums Neuperlach, München

Berufliche Erfahrung

seit 2015 Assistenzärztin in Weiterbildung zur Fachärztin der Inneren Medizin am Karl-Olga-Krankenhaus Stuttgart

2014 Wissenschaftliche Mitarbeiterin der Frauenklinik des Klinikums rechts der Isar, München; Studentische Aushilfskraft am Institut für Medizinische Mikrobiologie, Immunologie und Hygiene der Technischen Universität München

2013 - 2014 Studentische Aushilfskraft bei diversen Prüfungen der medizinischen Fakultät der Technischen Universität München

2011 Studentische Aushilfskraft in der Allgemeinarztpraxis von Jochen Pöller

2007 Nachtwache im Schlaflabor des St. Katharinen Krankenhauses, Köln

Interessen

Musik: GiO– Gospel Chor Stuttgart, Ärzte-Bigband Groove Hospital München, Bigband der Hochschule München

Auslandsaufenthalte: Tansania, 8 Wochen innerhalb des praktischen Jahres, Chirurgietertial

Reisen: USA, Kanada, Indonesien, Syrien, Jordanien, Eritrea, Sudan