

Universitätsklinikum Ulm  
Zentrum für Chirurgie  
Aus der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie  
Ärztlicher Direktor: Prof. Dr. med. Andreas Liebold  
Sektion für Gefäßchirurgie  
Leiter: Prof. Dr. med. Karl-Heinz Orend

**Prospektive Beobachtungsstudie zur  
Beurteilung der Nierenfunktion mittels  
Cystatin-C und NGAL bei Patienten nach  
Kontrastmittelexposition im Rahmen einer  
diagnostischen/interventionellen Angiografie**

DISSERTATION

zur Erlangung des Doktorgrades der Medizin (Dr. med.)  
der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm

vorgelegt von

**LUKAS HAHN**

aus Tübingen

2016

*Amtierender Dekan: Prof. Dr. Thomas Wirth*

*1. Berichterstatter: Prof. Dr. Bernd Mühling*

*2. Berichterstatter: Prof. Dr. Christoph Dehner*

*Tag der Promotion: 10.02.2017*

*Meiner lieben Familie gewidmet.*

# Inhaltsverzeichnis

<b>Abkürzungsverzeichnis .....</b>	<b>VI</b>
<b>1 Einleitung .....</b>	<b>1</b>
1.1 Die akute Nierenschädigung: Epidemiologie, Definition und Klassifikation .....	1
1.2 Die Angiografie in der Gefäßchirurgie.....	3
1.2.1 Röntgenkontrastmittel .....	4
1.2.2 Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN).....	5
1.3 Biomarker zur Beurteilung der Nierenfunktion und Nierenschädigung .....	6
1.3.1 Kreatinin .....	6
1.3.2 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nach MDRD2.....	8
1.3.3 Cystatin-C.....	9
1.3.4 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL).....	11
1.4 Ziele der Studie und Fragestellung .....	12
<b>2 Patienten, Material und Methoden.....</b>	<b>15</b>
2.1 Studienart.....	15
2.2 Auswahlkriterien .....	15
2.3 Studienaufbau, -ablauf .....	16
2.4 Laborparameter.....	17
2.4.1 Kreatinin im Serum .....	18
2.4.2 GFR nach MDRD2.....	19
2.4.3 Cystatin-C im Serum.....	19
2.4.4 NGAL im Urin.....	20
2.5 Statistische Methoden .....	20
2.5.1 Statistische Verfahren.....	20
2.5.2 Auswertung der präinterventionellen Messwerte .....	21
2.5.3 Auswertung der postinterventionellen Messwerte .....	21
<b>3 Ergebnisse .....</b>	<b>23</b>
3.1 Demographische Daten.....	23
3.2 Präinterventioneller Vergleich der renalen Biomarker .....	24
3.3 Postinterventioneller Vergleich der renalen Biomarker .....	26
3.4 Studienverlauf der renalen Biomarker .....	27
<b>4 Diskussion.....</b>	<b>30</b>
4.1 Ziele der Studie .....	30
4.2 Vergleich der präinterventionell gemessenen renalen Biomarker .....	31

4.2.1 Cystatin-C und Kreatinin .....	31
4.2.2 Cystatin-C und die GFR nach MDRD2 .....	32
4.3 Vergleich der postinterventionell gemessenen renalen Biomarker .....	34
4.3.1 Kreatinin und die GFR nach MDRD2 .....	34
4.3.2 Kreatinin und Cystatin-C .....	36
4.3.3 Kreatinin und NGAL .....	38
4.4 Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN) .....	40
4.5 Studienlimitation .....	43
<b>5 Zusammenfassung .....</b>	<b>46</b>
<b>6 Literaturverzeichnis .....</b>	<b>48</b>
<b>Anhang .....</b>	<b>58</b>
Abbildungsverzeichnis .....	58
Tabellenverzeichnis .....	58
Fragebögen und Studienprotokolle .....	59
<b>Danksagung .....</b>	<b>64</b>
<b>Lebenslauf .....</b>	<b>65</b>

# Abkürzungsverzeichnis

ADQI	Acute Dialysis Quality Initiative
AHT	Arterielle Hypertonie
AKI	Acute kidney injury (Akute Nierenschädigung)
AKIN	Acute kidney injury network
ARF	Acute renal failure (Akutes Nierenversagen)
AVK	Arterielle Verschlusskrankheit
BMI	Body-Mass-Index
CI-AKI	Contrast induced-acute kidney injury
CIN	Contrast induced nephropathy
CKD	Chronic kidney disease
CMIA	Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay
COPD	Chronisch obstruktive Lungenerkrankung
CT	Computertomographie
DM	Diabetes Mellitus
ESKD	End stage kidney disease
ESUR	European Society of Urogenital Radiology
g	Erdbeschleunigung (Schleuderziffer)
GFR, eGFR	Glomeruläre Filtrationsrate, berechneter (estimated) Wert
h	Stunde
HLP	Hyperlipoproteinämie
Int	Intervention
KDIGO	“Kidney Disease – Improving Global Outcome“-Initiative
KHK	Koronare Herzerkrankung
KM	Kontrastmittel
MDRD	“Modification of Diet in Renal Disease“-Studienformel
MESNA	2-Mercaptoethansulfonat-Natrium
MR	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl der Patienten
NGAL	Neutrophil gelatinase-associated lipocalin
OP	Operation

pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PETIA	Partikel-verstärkter turbidimetrischer Immunoassay
Post-Int	Postinterventionell
Prä-Int	Präinterventionell
RIFLE	Einteilung der akuten Nierenschädigung in die Stadien Risk, Injury, Failure, Loss of kidney function, End-stage kidney disease
RRT	Nierenersatztherapie
SD	Schilddrüse

# 1 Einleitung

## 1.1 Die akute Nierenschädigung: Epidemiologie, Definition und Klassifikation

Die akute Nierenschädigung (AKI), früher bezeichnet als akutes Nierenversagen (ARF), ist eine häufige und schwerwiegende Komplikation bei hospitalisierten Patienten, im Besonderen bei Intensivpatienten.

Über die vergangenen Jahrzehnte konnte eine steigende Inzidenz unter hospitalisierten Patienten beobachtet werden [117]. Diese variiert je nach Studiendesign und den zugrundeliegenden Diagnosekriterien für die akute Nierenschädigung und wird in prospektiven Single-Center-Studien zwischen 5% und 7% angegeben [42, 79].

Trotz der steigenden Inzidenz und einer zunehmenden Komorbidität ist die Mortalität der akuten Nierenschädigung in den letzten Jahrzehnten zurückgegangen [117, 120]. Die Gesamtmortalität von Patienten mit AKI bleibt dennoch zwischen 20% und 40% inakzeptabel hoch [50].

Das Fehlen einer allgemein anerkannten Definition für die akute Nierenschädigung stellte lange Zeit eine bedeutende Einschränkung dar. Im Jahr 2002 fanden mehr als 35 verschiedene Definitionen in der medizinischen Literatur Verwendung. Diese sorgten für viel Verwirrung und machten es schwer, Informationen verschiedener Studien und Populationen miteinander zu vergleichen [45].

Im Rahmen einer Konsensuskonferenz der Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) im Jahr 2004 wurden die auf Evidenz und Expertenmeinung basierenden RIFLE-Kriterien erarbeitet (Tabelle 1) [44]. Diese erlauben seither eine einheitliche Definition und Stadieneinteilung für die akute Nierenschädigung.

RIFLE steht dabei für die fünf verschiedenen Stadien der akuten Nierenschädigung (Risk, Injury, Failure, Loss, End-stage). Die Stadieneinteilung beruht auf einem Anstieg des Serumkreatinins oder einem Abfall der glomerulären Filtrationsrate (GFR), jeweils ausgehend von einem gemessenen oder berechneten Basiswert oder der Menge der Urinausscheidung [8]. Die Inzidenz für eine akute Nierenschädigung nach den RIFLE-Kriterien unter hospitalisierten Patienten wird

mit etwa 20% angegeben [114, 118]. Unter Intensivpatienten geht man sogar von einer Inzidenz von bis zu 67% aus [41].

Die Mortalität steigt, ausgehend von einer normalen Nierenfunktion über die Stadien Risk – Injury – Failure, beinahe linear an [114]. Je schlechter das RIFLE Stadium, umso höher die Mortalität, umso länger die Aufenthaltsdauer auf der Intensivstation bzw. der Krankenhausaufenthalt allgemein [41].

Die Definition der akuten Nierenschädigung nach den RIFLE-Kriterien wurde 2007 nochmals überarbeitet und vereinfacht – die AKIN-Kriterien (Acute Kidney Injury Network) waren das Ergebnis (Tabelle 1) [70].

Sowohl in den RIFLE-, als auch in den AKIN-Kriterien finden neben Kreatinin im Serum, der GFR und der Urinausscheidung keine weiteren Faktoren für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung Berücksichtigung. So bleiben neuere Biomarker der Nierenfunktion und Nierenschädigung wie Cystatin-C oder NGAL (Neutrophil gelatinase-associated lipocalin) bisher leider außen vor.

*Tabelle 1: Definition und Stadieneinteilung des AKI nach den RIFLE- sowie AKIN-Kriterien. Modifiziert nach Bellomo et al. und Mehta et al. [8, 70]; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, ESKD: End Stage Kidney Disease, ARF: Akutes Nierenversagen, h: Stunde, RRT: Nierenersatztherapie, AKIN: Acute kidney injury network*

<b>Akute Nierenschädigung (AKI) - Stadien</b>			
<b>RIFLE</b>	<b>AKIN</b>	<b>Kreatinin/GFR Kriterien</b>	<b>Urinausscheidung</b>
<b>Risk</b>	1	Kreatininanstieg $\geq$ 1,5-fach zur Baseline oder Abfall der GFR $\geq$ 25%  <u>AKIN:</u> Kreatininanstieg $\geq$ 0,3 mg/dl innerhalb 48h	< 0,5 ml/kg KG/h $\geq$ 6h
<b>Injury</b>	2	Kreatininanstieg $\geq$ 2-fach zur Baseline oder Abfall der GFR $\geq$ 50%	< 0,5 ml/kg KG/h $\geq$ 12h
<b>Failure</b>	3	Kreatininanstieg $\geq$ 3-fach zur Baseline oder Abfall der GFR $\geq$ 75% oder Kreatinin $\geq$ 4 mg/dl bei einem akuten Anstieg $\geq$ 0,5 mg/dl  <u>AKIN:</u> RRT	< 0,3 ml/kg KG/h $\geq$ 24h oder Anurie $\geq$ 12h
<b>Loss</b>	-	persistierendes ARF=kompletter Verlust der Nierenfunktion > 4 Wochen	
<b>ESKD</b>	-	terminales, dialysepflichtiges Nierenversagen > 3 Monate	

Die Ursachen für eine im Krankenhaus erworbene akute Nierenschädigung sind dabei vielfältig. Neben einer verminderten renalen Perfusion und der Einnahme nephrotoxischer Medikamente sind Kontrastmittel zunehmend für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung verantwortlich [79]. Steigende Zahlen an Untersuchungen auf Basis eines Kontrastmittels tragen zu dieser Entwicklung maßgeblich bei. Der Wert dieser Arzneimittel ist unbestritten. Trotzdem sind Kontrastmittel eine wesentliche Ursache für die akute Nierenschädigung.

## **1.2 Die Angiografie in der Gefäßchirurgie**

Die Angiografie dient dem Nachweis funktioneller morphologischer Gefäßveränderungen. Durch diese bildliche Gefäßdarstellung ist es möglich Gefäßerkrankungen zu diagnostizieren. Auch kann anhand des Verlaufs relevanter Blutgefäße eine exakte Operationsplanung erfolgen. Sollte während eines Eingriffs eine Gefäßintervention erforderlich sein, so kann für die Darstellung des Gefäßverlaufs eine intraoperative Angiografie durchgeführt werden.

Neben konventionellen Angiografien (Röntgen) finden zunehmend auch Bildgebungsverfahren wie CT-Angiografie und MR-Angiografie Verwendung. Diese Verfahren erlauben allerdings keine gleichzeitige Intervention.

Die übersichtlichste Darstellung gelingt dabei durch die Injektion von Kontrastmitteln in das Gefäßsystem.

In der Regel werden bei der konventionellen Angiografie intraarteriell eingeführte Katheter zur Kontrastmittel-Applikation verwendet. Bei der CT- und MR-Angiografie wird das Kontrastmittel dagegen intravenös appliziert. Nur in Ausnahmefällen erfolgt eine direkte Punktion der Arterie mit Injektion des Kontrastmittels über die Nadel (Feinnadelangiografie).

In der Gefäßchirurgie kommen häufig röntgenpositive Kontrastmittel zur Anwendung (wasserlösliche Jodverbindungen). Diese absorbieren Röntgenstrahlen stärker als das umliegende Gewebe.



*Abbildung 1: Angiografie und Intervention bei Beckenachsenstenose links bei AVK IIB (arterielle Verschlusskrankheit, Stadium IIB), männlicher Patient, Jahrgang 1943 (mit freundlicher Genehmigung von Prof. Dr. Mühling, Sana Klinikum Biberach).*

### **1.2.1 Röntgenkontrastmittel**

Röntgenkontrastmittel dienen der Darstellung von Gefäßstrukturen während diagnostischen und interventionellen Verfahren. Aufgrund steigender Zahlen kontrastmittelverstärkter Untersuchungen sind diese Arzneimittel im medizinischen Alltag heutzutage beinahe unverzichtbar geworden.

Verabreichte Kontrastmittelmengen konnten in den letzten Jahren durch Verbesserungen in der radiologischen Bildgebung zwar reduziert werden, doch die starke Zunahme an Kontrastmitteluntersuchungen, im Besonderen bei älteren und komorbiden Patienten, hat die Anzahl an Nebenwirkungen steigen lassen [106]. Auch die Kontrastmittel selbst wurden weiterentwickelt. So weisen die neueren Kontrastmittel ein geringeres Nebenwirkungsprofil auf als ihre Vorgänger (geringere Nephrotoxizität) und sind sicherer in der Anwendung geworden [18]. Ebenso kann durch eine Dosisanpassung bei der Kontrastmittelapplikation sowie nephroprotektive Maßnahmen Einfluss auf das spätere Outcome genommen werden. Verwendung finden heute üblicherweise wasserlösliche nichtionische iso- oder niedrig-osmolare jodhaltige Kontrastmittel.

### 1.2.2 Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN)

Die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN) ist eine Form der akuten Nierenschädigung (AKI), die im Rahmen einer intravaskulären Kontrastmittelexposition auftritt. Durch die Zunahme an Kontrastmitteluntersuchungen steigt die Inzidenz dieser iatrogen bedingten Nierenfunktionsverschlechterung, die auch unter dem Begriff der Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung (CI-AKI) in der Literatur beschrieben wird.

Es wird geschätzt, dass die CIN mit 11% aller Fälle die dritthäufigste Ursache für die akute Nierenschädigung in der Klinik ist [79]. Die Inzidenz ist in der Allgemeinbevölkerung zwischen 1 und 2% eher niedrig [52], kann jedoch bei vorbestehender Nierenfunktionseinschränkung vor allem in Kombination mit weiteren Risikofaktoren merklich ansteigen [66, 68, 96]. Weiterhin geht die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie mit einer erhöhten Morbidität, einer verlängerten Krankenhausaufenthaltsdauer und damit erhöhten Kosten einher [66].

Eine allgemein anerkannte Definition der CIN existiert nicht. Die am häufigsten verwendete Definition in klinischen Studien beinhaltet einen Anstieg des Serumkreatinins um absolut  $\geq 0,5$  mg/dl oder relativ  $\geq 25\%$  zum Ausgangswert innerhalb von 48 Stunden nach Kontrastmittelgabe [31, 66].

Gemäß den Leitlinien der European Society of Urogenital Radiology (ESUR) spricht man von Kontrastmittel-induzierter Nephropathie, wenn die Nierenfunktion innerhalb von drei Tagen nach intravaskulärer Kontrastmittelgabe zurückgeht, ohne dass dies durch eine andere Ätiologie erklärbar ist. Ein Anstieg des Serumkreatinins um absolut  $\geq 0,5$  mg/dl oder relativ  $\geq 25\%$  zur Baseline spricht demnach für eine CIN [75].

Ähnlich wie die CIN Consensus Working Panel, die die CIN in Zukunft anhand der RIFLE-Klassifikation definieren wollen [64], empfiehlt die ‚Kidney Disease – Improving Global Outcome‘-Initiative (KDIGO) in ihren Leitlinien die CIN entsprechend der drei AKIN-Stadien zu klassifizieren [46]. Demnach liegt eine CIN bereits nach einem Anstieg des Serumkreatinins um mindestens 0,3 mg/dl innerhalb von 48 Stunden (oder auf mindestens das 1,5-Fache eines bekannten oder angenommenen Ausgangswerts innerhalb von sieben Tagen) nach KM-Gabe vor.

## **1.3 Biomarker zur Beurteilung der Nierenfunktion und Nierenschädigung**

Die Inzidenz sowohl von akuten als auch chronischen Nierenerkrankungen steigt ständig. Frühe therapeutische Interventionen könnten Morbidität und Mortalität wesentlich senken. Das Fehlen von frühen, nicht invasiven Biomarkern führt jedoch zu einer oft späten Diagnose der akuten Nierenschädigung, was den Beginn einer rechtzeitigen, wirksamen und geeigneten Behandlung verzögert und so nachteilige Auswirkungen bedingt.

In der aktuellen klinischen Praxis wird eine akute Nierenschädigung typischerweise durch die Messung von Kreatinin im Serum diagnostiziert. Gerade während akuten Veränderungen der Nierenfunktion ist Kreatinin jedoch ein unzuverlässiger Indikator [7]. Der Fokus liegt daher mittlerweile auf anderen, neueren Biomarkern und ihrem möglichen klinischen Einsatz um eine frühere und genauere Diagnostik zu ermöglichen.

Die derzeit gültigen RIFLE- und AKIN-Kriterien zur Diagnose und Klassifikation der akuten Nierenschädigung basieren jedoch weiterhin auf Bestimmungen der GFR, der Höhe bzw. der Änderung des Serumkreatinins und der Urinausscheidung [8].

Folgend wird näher auf die studienrelevanten Biomarker zur Beurteilung der Nierenfunktion und Nierenschädigung eingegangen. Im Einzelnen sind dies die etablierten Marker Kreatinin im Serum und die berechnete GFR nach MDRD2. Aber auch die neuen, aussichtsreichen Marker Cystatin-C im Serum und NGAL im Urin werden beschrieben und es wird über ihren möglichen klinischen Einsatz berichtet.

### **1.3.1 Kreatinin**

Kreatinin ist ein Polypeptid mit einem Molekulargewicht von 113 Dalton. Es ist ein harnpflichtiges, stark basisches Stoffwechselprodukt und entsteht als Abbauprodukt des Kreatins im Muskel. Kreatin wird in Leber und Niere synthetisiert und in Skelett- und Herzmuskel transferiert, wo es als Kreatinphosphat und freies Kreatin vorliegt. Ca. 1-2% des Kreatins wird in Form des Dehydrats Kreatinin täglich abgebaut bzw. ausgeschieden [32].

Durch sein niedriges Molekulargewicht ist Kreatinin frei filtrierbar und wird daher nahezu vollständig renal eliminiert. Lediglich bei Patienten mit schwerer Nieren-

insuffizienz stellt die extrarenale Ausscheidung über das Colon und die Galle einen zunehmenden Anteil dar [102, 107]. Diese Steigerung steht vorwiegend im Zusammenhang mit dem Abbau von Kreatinin durch Darmbakterien und kann durch die Anwendung von Antibiotika beeinträchtigt werden [84].

Kreatinin wird neben der Filtration auch durch tubuläre Sekretion aus dem Kreislauf in den Urin eliminiert [12]. Steigt die Serumkonzentration von Kreatinin, steigt auch der Anteil der tubulären Sekretion. Dies führt zu einer Überschätzung der Kreatininclearance bei Patienten mit einem mäßig bis starken Abfall der GFR [84]. Trotz einer wesentlich reduzierten GFR kann der Wert für die Serumkreatininkonzentration im Normalbereich bleiben [55]. Serumkreatinin ist damit ein unsensibler Marker der GFR, da seine Konzentration trotz einer wesentlich reduzierten Nierenfunktion von 50% oder mehr normal bzw. nahezu normal sein kann [84, 102]. Erst ab einer Verringerung der GFR auf 40-60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> steigt die Serumkonzentration an, was einer verbleibenden Nierenfunktion von etwa 50% entspricht. Es resultiert ein „kreatininblinder Bereich“, in dem eine allmählich beginnende Einschränkung der Nierenfunktion nicht erkannt wird.

In der Literatur finden sich noch weitere Einflussfaktoren die eine Veränderung des Kreatininspiegels hervorrufen können. So hängt die Kreatininkonzentration im Serum nicht nur von der Ausscheidung über die Nieren, sondern auch von der Produktionsrate und dem Verteilungsvolumen im Körper ab [51]. Die Kreatininkonzentration ist linear abhängig von der Muskelmasse [115], welche den entscheidenden Faktor für die Größe des Kreatin-Pools und damit der Kreatinin-Produktion darstellt [39]. Alter und Geschlecht haben aufgrund ihres Einflusses auf die Muskelmasse ebenfalls starke Auswirkungen auf die Kreatinin-Produktion.

Auch Veränderungen im Volumenstatus können die Serumkreatininkonzentration beeinflussen [74]. Eine genaue Abbildung der Nierenfunktion durch die Serumkreatininkonzentration während akuten Veränderungen der glomerulären Filtration ist nur im Gleichgewichtszustand zwischen Produktion und Exkretion möglich. Im Anschluss an eine akute Nierenfunktionsverschlechterung kann es jedoch einige Tage dauern bis sich ein neuer Gleichgewichtszustand eingestellt hat [7].

Zur Diagnostik einer akuten Nierenschädigung bzw. Nierenfunktionsänderung ist Kreatinin aufgrund vieler limitierender Faktoren kein optimaler Marker. Es ist dennoch ein kostengünstiger, standardisierter Parameter, der rund um die Uhr in

jedem klinischen Labor erhältlich ist. Er findet daher weiterhin breite Anwendung in der klinischen Routinediagnostik.

### **1.3.2 Glomeruläre Filtrationsrate (GFR) nach MDRD2**

Die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) ist der wichtigste klinische Laborparameter zur Beurteilung der Nierenfunktion. Die GFR ist nicht direkt messbar, sondern kann nur anhand der Clearance eines idealen Filtrationsmarkers bestimmt werden.

Dabei wird zur exakten Messung der GFR die Clearance exogener Substanzen herangezogen. Inulin ist ein perfekter exogener Filtrationsmarker, was seinen Nutzen als „Goldstandard“ für die Messung der GFR rechtfertigt [25]. Inulin ist nicht an Plasmaproteine gebunden, nicht toxisch, physiologisch inaktiv, wird frei filtriert und durch die renalen Tubuli weder reabsorbiert, sezerniert, noch metabolisiert [84]. Diese Methode ist sehr präzise, jedoch arbeitsintensiv, relativ teuer und zeitaufwendig. Aufgrund der Notwendigkeit einer intravenösen Infusion und der schwierigen laborchemischen Analyse ist sie daher ungeeignet für den routinemäßigen klinischen Einsatz.

Daher werden zur Abschätzung der Nierenfunktion meistens das Serumkreatinin, die Kreatininclearance und Kreatinin-basierte Näherungsformeln verwendet. Kreatinin ist der am häufigsten verwendete endogene Filtrationsmarker in der klinischen Praxis und ein guter Indikator zur Abschätzung der GFR. Kreatinin erfüllt viele, aber nicht alle Kriterien für einen perfekten Filtrationsmarker. Es liegt nicht proteingebunden vor, wird frei filtriert, nicht metabolisiert und ist physiologisch inaktiv [84]. Ein beträchtlicher Teil der Kreatinin-Ausscheidung durch die Niere ist jedoch das Resultat der proximalen tubulären Sekretion [12]. So übersteigt die Kreatininclearance regelmäßig die Inulinclearance bei gesunden Individuen [23]. Auch ist die gemessene Kreatininclearance gerade bei älteren Patienten aufgrund der zeitlich festgelegten Urinsammlung oft fehlerhaft und irreführend (unzureichende Blasenentleerung, unvollständiges Auffangen des Urins, Harninkontinenz, Vergesslichkeit).

Daher wurden verschiedene Formeln, basierend auf der Serumkreatininkonzentration, zur Bestimmung der GFR entwickelt.

Die MDRD-Formel nach der gleichnamigen „Modification of Diet in Renal Disease“-Studie [57] wurde 1999 anhand der Daten von 1628 Patienten mit CKD entwickelt und veröffentlicht. Sie schätzt die GFR bezogen auf eine Körperoberfläche von 1,73m<sup>2</sup> und basiert auf sechs Variablen: Alter, Geschlecht, Ethnie sowie den Serumkonzentrationen von Kreatinin, Harnstoff und Albumin [57]. Bei Gesunden unterschätzt die von Patienten mit einer CKD abgeleitete MDRD-Formel die GFR allerdings um 29% [98].

Die Gleichung der MDRD-Studie wurde 2005 vereinfacht, um die Benutzung von international standardisierten Analyseverfahren und Referenzmethoden für Serumkreatinin zu erlauben und basiert auf vier Variablen [54]:

$$GFR \text{ (ml/min/1.73 m}^2\text{)} = 175 \times (\text{Serumkreatinin})^{-1.154} \times (\text{Alter})^{-0.203} \times (0.742 \text{ für Frauen}) \times (1.212 \text{ für Schwarzafrikaner})$$

Auch die vereinfachte MDRD2-Formel ist bei Patienten mit CKD weitaus besser und genauer als bei Patienten ohne eine CKD [16]. So unterschätzt diese die GFR im Besonderen bei Individuen mit einer GFR > 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> [56].

Im Allgemeinen ist das Abschätzen der GFR durch Gleichungen basierend auf endogenen Filtrationsmarkern einfacher, billiger und leichter in der Praxis anzuwenden. Da allerdings die Serumkreatininkonzentration in die Berechnung miteinfließt, müssen auch die aufgeführten Nachteile von Kreatinin als Marker der Nierenfunktion beachtet werden.

### 1.3.3 Cystatin-C

Cystatin-C ist ein endogener Cysteinprotease-Inhibitor mit einem Molekulargewicht von 13000 Dalton und wird mit einer stabilen Bildungsrate von allen kernhaltigen Zellen produziert [2].

Die Cystatin-C-Konzentration ist weitgehend unabhängig von Größe, Geschlecht, Alter und Muskelmasse [78].

Es findet sich in relativ hoher Konzentration in vielen Körperflüssigkeiten und sein niedriges Molekulargewicht sowie die positive Ladung bei physiologischem pH-Wert des Blutes ermöglichen seine freie glomeruläre Filtration [33]. Cystatin-C wird fast vollständig proximal tubulär rückresorbiert und zu Aminosäuren abgebaut

[33], unterliegt keiner tubulären Sekretion und erscheint im Urin allein durch Filtration [108].

Höhere Serumkonzentrationen von Cystatin-C sind mit erhöhtem Alter, männlichem Geschlecht, erhöhtem BMI, Zigarettenrauchen und einem erhöhten CRP-Level assoziiert [49]. Bei der Behandlung von Nierentransplantierten mit einer sehr hohen Dosis an Glukokortikoiden wurde ein Anstieg des Cystatin-C gefunden [93]. Geringe und mittlere Dosen scheinen hingegen keinen Einfluss auf die Cystatin-C-Produktion zu haben [9]. Auch eine Schilddrüsenfunktionsstörung nimmt Einfluss auf die Cystatin-C-Konzentration [30]. So ist die Cystatin-C-Konzentration im hypothyreoten Zustand geringer und im hyperthyreoten Zustand höher im Vergleich zur euthyreoten Lage [30, 62]. Falsch hohe Werte können außerdem in der Schwangerschaft beobachtet werden [4]. Die Einnahme von Statinen scheint die Serumkonzentration von Cystatin-C dagegen zu verringern [3]. Außerdem wird Cystatin-C während arterieller Katheterisierung aus atherosklerotischen Läsionen freigesetzt [82].

Es gibt jedoch auch Berichte, wonach die Serumkonzentration von Cystatin-C nicht durch Entzündungen und Fieber beeinflusst wird [86].

In der Diagnostik akuter Nierenfunktionsstörungen ist Cystatin-C Kreatinin überlegen. Studien zeigen in diesem Zusammenhang sowohl zeitliche als auch prognostische Vorteile. In der Intensivmedizin zeigt Cystatin-C eine akute Nierenschädigung im Stadium RIFLE-R 1 bis 2 Tage früher an als Kreatinin [38]. Auch als früher Marker einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie nach Koronarangiografie steigt es eher an als Kreatinin [101].

Da die Serumkonzentration nicht maßgeblich durch Alter, Geschlecht, Rasse oder Muskelmasse beeinflusst wird, ist es bei Patienten mit CKD ein besserer Prädiktor der GFR als Kreatinin [22].

Cystatin-C erlaubt die frühe Identifizierung einer herabgesetzten glomerulären Filtrationsrate und dadurch die frühere Diagnose einer akuten Nierenfunktionsstörung. Insbesondere für milde bis mäßige Verschlechterungen der GFR weist Cystatin-C Vorteile gegenüber Kreatinin auf.

### **1.3.4 Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL)**

NGAL ist ein Protease resistentes Polypeptid mit einem Molekulargewicht von etwa 25000 Dalton. Es ist Mitglied einer Superfamilie an Trägerproteinen, den Lipocalinen [29] und wurde zunächst beschrieben als Protein, welches kovalent an die Gelatinase neutrophiler Granulozyten gebunden ist [48]. In geringen Konzentrationen findet es sich in verschiedenen menschlichen Geweben wie den Nieren, der Trachea, der Lunge, in Magen und Darm [17].

NGAL ist an Wachstum und Differenzierung von renalen Epithelzellen beteiligt [77], agiert als natürlicher Eisenträger, welcher zelluläres und perizelluläres Eisen bindet und so seine Verfügbarkeit für das Bakterienwachstum reduziert [28] und hemmt die Angiogenese im Rahmen von Neoplasien unterschiedlicher Genese [112]. Es reguliert als NGAL-Siderophoren-Eisenkomplex den intrarenalen Eisenstoffwechsel und fördert die Proliferation und Epithelialisierung im Sinne einer renalen Reparaturfunktion [73].

Die NGAL-Expression wird in beschädigten Geweben deutlich hochreguliert. In der Niere wird NGAL als eines der ersten Proteine nach einer ischämischen oder nephrotoxischen Nierenschädigung (z.B. Kontrastmittelexposition, Cisplatingabe) freigesetzt und kann leicht in Blut sowie Urin bestimmt werden [77].

NGAL steigt sowohl im Urin als auch im Plasma bereits 30 Minuten nach renaler Schädigung proportional zu Schwere und Dauer des Nierenschadens an [72]. Einem Abklingen des Nierenschadens folgt ein schneller Abfall der NGAL Konzentration [34]. Nach Durchführung einer Angiografie kehren die NGAL Werte in Serum und Urin bereits innerhalb von 48 Stunden wieder auf ihren Ausgangswert zurück [5].

Es ist im Vergleich zu Cystatin-C und Kreatinin kein Marker der Nierenfunktion, sondern ein spezifischer Biomarker für Nierentubulusschäden und damit einer Nierenschädigung.

Die Wertigkeit von NGAL als neuen Marker zur frühen Erkennung einer akuten Nierenschädigung wurde bereits von Mishra et al. hervorgehoben [71].

Es konnte gezeigt werden, dass die NGAL-Werte im Serum bereits 2, 4 und 8 Stunden nach Koronarangiografie signifikant ansteigen. Gleiches konnte bei Bestimmung der Werte im Urin nach 4, 8 und 24 Stunden beobachtet werden [6].

Bei Kindern die sich einer elektiven Herzkatheter-Untersuchung unterzogen, war das NGAL im Urin bereits 2 Stunden nach Kontrastmittelgabe signifikant erhöht und korrelierte mit dem Auftreten einer akuten Nierenschädigung [40].

Auch in der adulten Herzchirurgie konnten bei Patienten mit postoperativem Nierenversagen bereits eine Stunde nach Aufnahme auf die Intensivstation signifikant erhöhte Werte für NGAL im Urin gemessen werden [116].

Allerdings ist die NGAL-Konzentration im Serum bei akuten bakteriellen Infektionen, Patienten mit Asthma, COPD und Lungenemphysem erhöht [119]. Auch das Alter und verschiedene Krankheiten, wie Entzündungen und chronische Herzkrankungen, nehmen Einfluss auf die NGAL-Konzentration [61, 85]. Darüber hinaus wird das Gen für NGAL durch eine Vielzahl an tumorfördernden Substanzen induziert [20]. Dies kann erklären warum NGAL bei einer Vielzahl menschlicher Karzinome deutlich erhöht ist. NGAL ist außerdem ein Akute-Phase-Protein und kann von Neutrophilen, Makrophagen und anderen Immunzellen freigesetzt werden [59]. Weiterhin ist die Konzentration von NGAL in arteriosklerotischen Plaques erhöht und kann dadurch während einer Angiografie ebenfalls in die Zirkulation freigesetzt werden [37].

NGAL ist einer der vielversprechendsten Biomarker für die Früherkennung einer akuten Nierenschädigung. Es ist bereits kurze Zeit nach einer Nierenschädigung erhöht in Plasma und Urin nachweisbar und scheint ein Biomarker mit hohem prädiktivem und prognostischem Wert zu sein. Das Fehlen eines einheitlichen Grenzbereichs wie auch seine begrenzte laborchemische Verfügbarkeit schränken den klinischen Nutzen bisher jedoch maßgeblich ein. In Zukunft könnte NGAL dennoch einen frühen, sensitiven und nicht invasiven Biomarker für einen ischämischen oder nephrotoxischen Nierenschaden repräsentieren.

## **1.4 Ziele der Studie und Fragestellung**

Patienten, die in der Klinik für Gefäßchirurgie erscheinen, benötigen oft eine rasche radiologische Diagnostik oder sogar ein interventionelles Verfahren, deren Aussagekraft bzw. Durchführbarkeit im Wesentlichen von der Verwendung eines Kontrastmittels abhängt. Diese Patienten weisen häufig eine vorbestehende Nierenfunktionseinschränkung auf, die im „kreatininblinden Bereich“ unbeachtet

bleibt und prädisponieren somit für Komplikationen, wie den Übergang in eine akute Nierenschädigung.

Als wichtigstes Ausscheidungsorgan des Körpers spielt die Niere eine zentrale Rolle im Stoffwechsel. Durch ihre Funktion als Eliminationsorgan für harnpflichtige Substanzen und Medikamente ist die Niere in hohem Maße der potentiellen Nephrotoxizität von Arzneimitteln ausgesetzt.

Es ist daher von besonderer Wichtigkeit, Patienten mit vorbestehenden oder im Verlauf auftretenden Nierenfunktionseinschränkungen zu identifizieren, um eine frühzeitige Therapie einleiten und nachteilige Folgen minimieren zu können.

Als valide Marker zur Überwachung der Nierenfunktion finden in der Klinik vor allem das Kreatinin im Serum sowie die berechnete GFR nach MDRD2 Verwendung.

Zur Detektion einer Nierenfunktionsstörung oder Nierenschädigung existieren daneben jedoch auch neue Marker wie Cystatin-C und NGAL die mittlerweile ebenfalls Eingang in die klinische Diagnostik gefunden haben.

Der Nutzen dieser neuen Nierenparameter wird in der Fachliteratur kontrovers diskutiert. Klare Aussagen über die Anwendung bei gefäßchirurgischen Patienten finden sich bisher jedoch nur vereinzelt.

In der vorliegenden Studie wurde nun durch die Bestimmung dieser klinischen Parameter die Nierenfunktion nach Kontrastmittelgabe im Verlauf beurteilt. Primäre Zielgröße der Studie ist also die Nierenfunktion bzw. die Änderung der Nierenfunktion postinterventionell.

Ziel der Studie ist es, die Wertigkeit der Cystatin-C- und NGAL-Messung im Vergleich zur Messung von etablierten Parametern der Nierenfunktion (Kreatinin im Serum, GFR nach MDRD2) vor allem bei der Detektion einer bestehenden oder neu aufgetretenen akuten Nierenschädigung in einem gefäßchirurgischen Patientengut zu untersuchen. Hier im speziellen bei Patienten, die für eine Angiografie (diagnostisch/interventionell) in der Klinik erscheinen.

Folgende Hypothesen wurden im Rahmen der vorliegenden Studie bearbeitet:

1. Zur Detektion einer postinterventionellen akuten Nierenschädigung wie auch einer im Verlauf auftretenden Kontrastmittel-induzierten Nephropathie

gibt es sensiblere Biomarker als Kreatinin im Serum. Untersucht werden Cystatin-C im Serum, NGAL im Urin und die GFR nach MDRD2.

2. Zur Erkennung bereits präinterventionell bestehender renaler Funktionsstörungen ist Cystatin-C im Serum ein sensiblerer Marker als Kreatinin im Serum.
3. Cystatin-C ist bei der Erkennung präinterventioneller renaler Funktionsstörungen vergleichbar mit der GFR nach MDRD2 und dieser nicht unterlegen.

## **2 Patienten, Material und Methoden**

### **2.1 Studienart**

Bei der vorgelegten Studie handelt es sich um eine klinische, prospektive Beobachtungsstudie. Die Wahl dieser Studienart erlaubte gezielte Untersuchungen durch definierte Mess- und Beobachtungsmethoden, um Zusammenhänge zwischen den Biomarkern einerseits und in Bezug auf die Nierenfunktion andererseits bestmöglich zu erkennen und zu bewerten.

Bei gefäßchirurgischen Patienten finden neuere Biomarker der Nierenfunktion und Nierenschädigung, wie Cystatin-C und NGAL, in der Fachliteratur bisher nur wenig Beachtung. Inwieweit sie sich, verglichen mit etablierten Markern, bei gefäßchirurgischen Patienten zur Detektion einer Nierenfunktionseinschränkung oder Nierenschädigung eignen, sollte in der vorliegenden Studie untersucht werden.

Aufgenommen wurden 43 Patienten zwischen dem 09.02.2011 und dem 16.12.2011, die sich einer diagnostischen und/oder interventionellen Angiografie unterzogen haben.

Die Patienten wurden in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Ulm (Sektion Gefäßchirurgie) in Kooperation mit der Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie rekrutiert.

Im Vorfeld des Studienbeginns hatte sich die Ethikkommission der Medizinischen Fakultät der Universität Ulm beraten und im März 2008 die Zustimmung zur Durchführung der Studie erteilt (Antragsnummer 14/08).

### **2.2 Auswahlkriterien**

In die Studie aufgenommen wurden Patienten mit einer normalen Nierenfunktion, definiert als Serumkreatininwert  $< 120 \mu\text{mol/L}$ . Außerdem wurden nur Patienten eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Aufnahme mindestens 18 Jahre, höchstens aber 85 Jahre alt gewesen sind. Weiterhin erforderlich waren das schriftliche Einverständnis der Patienten nach vorheriger Aufklärung, die anschließende

Teilnahme an einer Angiografie (diagnostisch/interventionell) sowie eine Nachkontrolle über möglichst drei Tage.

Ausgeschlossen wurden dagegen Patienten mit einer bestehenden Dialysepflicht. Weitere Ausschlusskriterien waren das Vorliegen einer bekannten Malignom-erkrankung und Patienten mit einer bestehenden Infektion.

## **2.3 Studienaufbau, -ablauf**

Zu Beginn ihres stationären Aufenthaltes in der Klinik für Thorax- und Gefäßchirurgie wurden die Patienten anamnestisch aufgenommen. Alle relevanten Risikofaktoren, vor allem Erkrankungen des kardiovaskulären und pulmonalen Systems, wurden erfasst und ein persönliches Risikoprofil erstellt. Zeitgleich wurde geprüft, ob die bisherige präinterventionelle Behandlung, einschließlich der Medikation, ausreichend oder durch spezifische Maßnahmen noch zu verbessern war.

Waren die Patienten aufgrund der resultierenden Befunde für die Teilnahme an der Studie geeignet, wurden sie diesbezüglich befragt. Die Patienten wurden hierbei ausführlich über den zeitlichen Ablauf, die Zielsetzung der Studie sowie den persönlichen Nutzen informiert. Im Anschluss gaben die Patienten ihr schriftliches Einverständnis. Hierfür mussten eine Einwilligungserklärung zum Datenschutz sowie ein Übereignungsvertrag für die Verwendung der Körpermaterialien (Blut, Urin) unterschrieben werden (siehe Anhang).

Am Ende des Gesprächs bekamen die Probanden ein Informationsblatt mit einer Zusammenfassung der wichtigsten Punkte ausgehändigt.

Bei erfolgter Aufnahme in die Studie wurden folgende Daten fortlaufend in einer Excel-Tabelle dokumentiert: Name, Geburtsdatum, Gewicht, Größe, Neben-erkrankungen sowie die Operationsindikation.

Zur Überwachung und Beurteilung der Nierenfunktion wurden den Patienten während ihres klinischen Aufenthalts zu festgelegten Zeitpunkten venöses Blut für die Bestimmung von Kreatinin im Serum und Cystatin-C im Serum sowie Spontanurin für die Bestimmung von NGAL im Urin entnommen.

Die Probenabnahmen fanden präinterventionell, höchstens sieben Tage vor dem geplanten Eingriff, sowie postinterventionell, möglichst am ersten, zweiten und dritten Tag nach dem erfolgten Eingriff statt.

Die betreuenden Ärzte und Studenten wie auch das Klinikpersonal waren angehalten die Blutabnahmen morgens im Rahmen des Routinelabors durchzuführen. So konnte meist ein „mehrmaliges Stechen“ der Patienten vermieden werden. Sämtliche labormedizinischen Befunde wie auch die Berechnung der GFR nach MDRD2 wurden ebenfalls in einer Excel-Tabelle dokumentiert.

Die Patienten der Beobachtungsgruppe wurden – wie in der Klinik für Gefäßchirurgie üblich – auf die Angiografie vorbereitet.

So erfolgten vor Durchführung der KM-Exposition nephroprotektive Maßnahmen (Vollelektrolytlösung 1000ml i.v. Infusion + Applikation von Mesna prä- und post-interventionell).

Postinterventionell wurden der letztendlich durchgeführte Eingriff wie auch das Datum des Eingriffs und die verabreichte Kontrastmittelmenge in die Excel-Tabelle eingetragen.

## 2.4 Laborparameter

Tabelle 2 zeigt die vier verschiedenen Messzeitpunkte an denen jeweils venöses Blut sowie Spontanurin abgenommen wurden.

*Tabelle 2: Überblick Labordiagnostik; Prä-Int.: Präinterventionell, Post-Int. Tag: Postinterventioneller Tag, GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, MDRD: Formel nach der „Modification of Diet in Renal Disease“-Studie, NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

	Prä-Int.	1. Post-Int. Tag	2. Post-Int. Tag	3. Post-Int. Tag
<b>Klinische Chemie</b>		→ Kreatinin im Serum		
<b>Standort Safranberg</b>		→ Cystatin-C im Serum		
		→ Berechnete GFR nach MDRD2		
<b>Im Kühlschrank gelagert für externes Labor</b>		→ Spontanurin zur Bestimmung von NGAL		

Die Abnahme der Blutproben erfolgte in Lithium-Heparin-Monovetten. Diese wurden am Tag der Abnahme umgehend in die klinische Chemie am Standort Safranberg des Universitätsklinikums Ulm transportiert und dienten der Diagnostik

von Kreatinin und Cystatin-C. Ebenso wurde dort die berechnete GFR nach MDRD2 bestimmt.

Für die Bestimmung von NGAL aus dem Spontanurin war eine externe Laborarztpraxis innerhalb Ulms verantwortlich (Laborarztpraxis PD Dr. med. Milorad Susa, 89077 Ulm).

Die Urinproben, die für das externe Labor bestimmt waren, wurden in regelmäßigen Abständen (spätestens 72h nach Abnahme) von einem Kurierdienst am Safranberg abgeholt. In der Zwischenzeit wurden sie vom Zeitpunkt der Abnahme bis zur Abholung im Kühlschrank der klinischen Chemie aufbewahrt.

Bei einem Gesamtkollektiv von n=37 Patienten zeigt Tabelle 3, bei wie vielen Patienten die Parameter am jeweiligen Messzeitpunkt durch gewonnene Blut- und Urinproben bestimmt werden konnten.

*Tabelle 3: Anzahl der gesammelten Parameter am jeweiligen Messzeitpunkt; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, MDRD: Formel nach der „Modification of Diet in Renal Disease“-Studie, NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin, Post-Int. Tag: Post-interventioneller Tag*

	<b>Präinterventionell</b>	<b>1. Post-Int. Tag</b>	<b>2. Post-Int. Tag</b>	<b>3. Post-Int. Tag</b>
<b>Kreatinin im Serum</b>	37	35	27	19
<b>GFR nach MDRD2</b>	37	35	27	19
<b>Cystatin-C im Serum</b>	37	35	27	19
<b>NGAL im Urin</b>	36	34	26	20

#### **2.4.1 Kreatinin im Serum**

Die Bestimmung von Kreatinin erfolgte anhand eines cobas c Systems der Firma Roche/Hitachi. Grundlage ist ein In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von Kreatinin in Humanserum mit Hilfe einer enzymatischen Methode.

Diese Methode beruht auf der Umwandlung des Kreatinins mit Hilfe der Enzyme Creatininase, Creatinase, Sarcosinoxidase und Peroxidase. Nach mehreren Reaktionsschritten und unter Zugabe von 4-Aminophenazon und 2,4,6-Trijod-3-hydroxybenzoesäure entsteht ein Chinoniminfarbstoff. Die Farbintensität des

gebildeten Farbstoffes ist direkt proportional zur Kreatininkonzentration im Reaktionsgemisch und kann photometrisch bestimmt werden.

Erfasst werden kann ein Messbereich von 5-2700 µmol/L (0,06-30,5 mg/dL) im Serum/Plasma.

Die Normbereiche für das Serumkreatinin sind geschlechtsabhängig und betragen für Frauen 45-84 µmol/L (0,51-0,95 mg/dL) und für Männer 59-104 µmol/L (0,67-1,17 mg/dL). Für Kinder gelten je nach Alter entsprechende Referenzwerte [94].

### 2.4.2 GFR nach MDRD2

Für die Berechnung der GFR wird in der klinischen Chemie am Standort Safranberg des Universitätsklinikums Ulm die MDRD2-Formel als Näherungsformel verwendet [54]:

$$GFR \text{ (ml/min/1.73m}^2\text{)} = 175 \times (\text{Serumkreatinin})^{-1.154} \times (\text{Alter})^{-0.203} \times (0.742 \text{ für Frauen})$$

Auf die Berechnung der glomerulären Filtrationsrate nach MDRD2 wurde unter 1.3.2 bereits näher eingegangen.

Der Faktor für Patienten mit schwarzer Hautfarbe ist in dieser Formel nicht aufgeführt. Einerseits wurde für die Studie kein Patient afroamerikanischer Herkunft rekrutiert, des Weiteren findet am Labor Safranberg keine Erhebung der Daten über die ethnische Herkunft der Patienten statt.

### 2.4.3 Cystatin-C im Serum

Die Bestimmung von Cystatin-C erfolgte anhand eines cobas c Systems der Firma Roche/Hitachi. Grundlage ist ein In-vitro-Test zur quantitativen Bestimmung von Cystatin-C in Humanserum mit Hilfe eines Partikel-verstärkten turbidimetrischen Immunoassay (PETIA).

Humancystatin-C agglutiniert mit Latexpartikeln, die mit Anti-Cystatin-C-Antikörpern beschichtet sind. Das Aggregat wird turbidimetrisch bei 546nm bestimmt.

Erfasst wird ein Messbereich von 0,4 – 8,0 mg/L.

Der Normbereich liegt unabhängig vom Geschlecht für Erwachsene zwischen 0,47 und 1,09 mg/L [95].

#### **2.4.4 NGAL im Urin**

Die Bestimmung von NGAL erfolgte mit dem ARCHITECT Urine NGAL (Abbott Laboratories). Dies ist ein Chemilumineszenz-Mikropartikelimmunoassay (CMIA) zur quantitativen Bestimmung von neutrophilen Gelatinase-assoziiertem Lipocalin (neutrophil gelatinase-associated lipocalin, NGAL) in Humanurin.

Der ARCHITECT Urine NGAL ist ein Zwei-Schritt-Immunoassay und verwendet zum Nachweis von NGAL Mikropartikel, die mit monoklonalem Antikörper beschichtet wurden. Diese mit anti-NGAL beschichteten Mikropartikel werden einer vorverdünnten Probe zugegeben und binden das NGAL ebenso wie das anti-NGAL akridiniummarkierte Konjugat. Nach einem Waschzyklus und der Zugabe der Pre-Trigger- sowie Triggerlösung findet eine Chemilumineszenzreaktion statt. Die Menge an NGAL in der Probe ist zu den vom optischen System des ARCHITECT i Systems gemessenen relativen Lichteinheiten proportional.

Der Messbereich für den ARCHITECT Urin NGAL Assay liegt zwischen 10,0 ng/ml und 1500 ng/ml.

Der Normalwert für NGAL ist bei beiden Geschlechtern identisch und sollte weniger als 130 ng/ml betragen [1].

### **2.5 Statistische Methoden**

Alle in der Studie erhobenen Daten wurden bis zum 19.12.2011 in einer Excel-Tabelle gesammelt.

Anschließend erfolgte nach Beratung durch Herrn Prof. Dr. Rainer Muehe vom Institut für Epidemiologie und Medizinische Biometrie der Universität Ulm die Auswahl der statistischen Tests und Berechnungen.

#### **2.5.1 Statistische Verfahren**

Für die Auswertung der präinterventionellen Messwerte wurde der McNemar-Test angewandt. Mit Hilfe dieses Tests war es möglich aufzuzeigen, ob durch den Vergleich der verschiedenen Biomarker pathologisch erhöhte Messwerte signifikant unterschiedlich häufig auftraten. Die Berechnungen für diese Analysen wurden unter Verwendung des Computerprogramms SigmaStat 3.5 durchgeführt.

Für die Auswertung der postinterventionellen Messwerte dienten einfache Zahlenwerte als Grundlage. Bei den verschiedenen Biomarkern wurde untersucht, wie oft es zu einem postinterventionellen Anstieg auf das 1,5-Fache des präinterventionellen Wertes kam, beziehungsweise bei der GFR zu einem Abfall auf das 0,75-Fache des Ausgangswertes.

Weiterhin wurde untersucht, wie oft es bei den Werten für Kreatinin, Cystatin-C und NGAL im Verlauf zu einem Anstieg um  $\geq 25\%$  kam.

### **2.5.2 Auswertung der präinterventionellen Messwerte**

Für die Auswertung der präinterventionellen Messwerte wurde nun für jeden der drei Parameter (GFR, Kreatinin, Cystatin-C) gezählt, wie oft die Werte hierfür erhöht beziehungsweise normwertig waren.

Als normwertig definiert wurden im Folgenden Werte für Kreatinin im Serum von  $< 120 \mu\text{mol/L}$ , für Cystatin-C im Serum von  $< 0,96 \text{ mg/L}$  und für die GFR nach MDRD2 ein Wert  $> 90 \text{ ml/min}$ .

Nach dem Auszählen wurden die Werte graphisch in einer Vierfeldertafel dargestellt.

Abschließend untersuchten wir die Häufigkeiten der erhöhten Werte für Cystatin-C gegenüber Kreatinin sowie Cystatin-C gegenüber erniedrigten Werten der GFR nach MDRD2 auf statistische Signifikanz. Dazu diente der McNemar-Test mit einer Signifikanz ab  $p < 0.05$  (5% Irrtumswahrscheinlichkeit).

### **2.5.3 Auswertung der postinterventionellen Messwerte**

Für die Auswertung der postinterventionellen Messwerte wurde untersucht, ob ein postinterventioneller Anstieg der Biomarker im Vergleich zum präinterventionellen Ausgangswert beobachtet werden kann.

Im Hinblick auf die Detektion einer akuten Nierenschädigung dienten hierbei die RIFLE-Kriterien als Grundlage, insbesondere die Definition der akuten Nierenschädigung nach RIFLE-R (Tabelle 1). Demnach liegt eine akute Nierenschädigung bei einem postinterventionellen Anstieg des Serumkreatinins auf das 1,5-Fache des präinterventionellen Wertes vor. Weiterhin Berücksichtigung in der Einteilung nach RIFLE-R findet die GFR. Bei einem Abfall der

GFR auf das 0,75-Fache des Ausgangswertes liegt definitionsgemäß ebenfalls eine akute Nierenschädigung vor [8].

Die weiteren in unserer Studie erhobenen Biomarker (Cystatin-C, NGAL) werden in den RIFLE-Kriterien nicht aufgeführt. Eine einheitliche Definition der akuten Nierenschädigung nach diesen Nierenparametern gibt es somit nicht.

Analog eines postinterventionellen Anstiegs von Serumkreatinin auf das 1,5-Fache des Ausgangswertes für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung, legten wir diese Definition auch für Cystatin-C und NGAL zugrunde.

Schlussendlich wurde untersucht, wie oft die Werte von Kreatinin im Serum, Cystatin-C im Serum und NGAL im Urin postinterventionell auf das 1,5-Fache angestiegen sind, beziehungsweise wie oft es bei der GFR zu einem Abfall auf das 0,75-Fache des Ausgangswertes kam.

Weiterhin diente diese Beobachtung dem spezifischen Auftreten einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie (CIN). Als Grundlage hierfür dienten die Leitlinien der European Society of Urogenital Radiology (ESUR). Ein Anstieg des Serumkreatinins um relativ  $\geq 25\%$  zur Baseline spricht demnach für eine CIN [75]. Zur besseren Vergleichbarkeit der Parameter legten wir diese Definition auch für Cystatin-C und NGAL zugrunde.

Schließlich wurde für die Detektion einer CIN untersucht, wie oft es im Verlauf zu einem Anstieg von  $\geq 25\%$  bei den Werten für Kreatinin, Cystatin-C und NGAL kam.

## 3 Ergebnisse

### 3.1 Demographische Daten

In die klinische Studie wurden 43 Patienten aufgenommen (30 Männer und 13 Frauen). Aufgrund der festgelegten Ausschlusskriterien wurden sechs Patienten von der Studie ausgeschlossen. Bei vier Patienten war bereits präinterventionell ein erhöhter Wert für Kreatinin im Serum ( $> 120 \mu\text{mol/L}$ ) aufgefallen. Zwei weitere Patienten waren zum Zeitpunkt der Aufnahme schon älter als 85 Jahre.

Die Daten dieser sechs Patienten wurden daher auch nicht in der statistischen Auswertung berücksichtigt.

Es wurden schließlich die Daten von 37 Patienten in die statistische Auswertung einbezogen. Das Patientenkollektiv setzte sich zu etwa zwei Dritteln aus Männern (26 oder 70%) und zu etwa einem Drittel aus Frauen (11 oder 30%) zusammen.

Zum Zeitpunkt der Aufnahme waren die Patienten zwischen 19 und 84 Jahren alt. Der Altersdurchschnitt im Gesamtkollektiv betrug 66,8 Jahre. Der Altersmedian lag bei 69 Jahren. Insgesamt waren 14 Patienten (38%) jünger als 65 Jahre und 23 Patienten (62%) 65 Jahre oder älter.

Der BMI (Body-Mass-Index) - definiert als Quotient aus Körpergewicht (kg) und Körpergröße zum Quadrat ( $\text{m}^2$ ) - der gesamten Studienpopulation bewegte sich zwischen  $19,6 \text{ kg/m}^2$  und  $39,2 \text{ kg/m}^2$ . Bei einem durchschnittlichen BMI von  $27 \text{ kg/m}^2$  und einem Median von  $26,75 \text{ kg/m}^2$ . (Ein Patient konnte in dieser Statistik nicht berücksichtigt werden, da weder Körpergröße noch Körpergewicht erfasst wurden).

Dokumentiert wurden weiterhin die kardiovaskulären Risikofaktoren wie auch andere relevante Nebendiagnosen. So haben 76% (28/37) eine arterielle Hypertonie (AHT), 38% (14/37) eine chronisch-obstruktive Lungenerkrankung (COPD), 27% (10/37) eine Hyperlipoproteinämie (HLP), 22% (8/37) einen Diabetes Mellitus (DM), 22% (8/37) eine Schilddrüsenfunktionsstörung, 19% (7/37) eine koronare Herzkrankheit (KHK), und 30% (11/37) rauchen.

Die pAVK stellte mit 51% (19/37) die häufigste Indikation zur Angiografie bzw. Intervention. Weitere Indikationen bestanden bei 19% (7/37) der Patienten auf-

grund eines Aneurysmas, bei 11% (4/37) aufgrund einer Arterienstenose und bei 5% (2/37) aufgrund einer Aortenstenose.

41% (15/37) der Eingriffe wurden aus rein diagnostischer Sicht durchgeführt. Die anderen 59% (22/37) beinhalteten zusätzlich noch eine oder gegebenenfalls auch mehrere Interventionen.

Bei 78% (29/37) der Studienpatienten wurde die verabreichte Kontrastmittelmenge dokumentiert. Diese variierte zwischen 30ml und 300ml bei einem durchschnittlichen Wert von 124ml und einem Median von 100ml. Für die MR-Angiografien wurde Magnograf (Gadopentetat-Dimeglumin) als Kontrastmittel verwendet. Für die anderen diagnostischen und interventionellen Angiografien war Solutrast (Iopamidol), ein nichtionisches, iodiertes Kontrastmittel, Mittel der Wahl.

*Tabelle 4: Beschreibung der Studienpopulation; AHT: arterielle Hypertonie, KHK: Koronare Herzkrankheit, COPD: chronisch obstruktive Lungenerkrankung, DM: Diabetes Mellitus, HLP: Hyperlipoproteinämie, SD: Schilddrüse, pAVK: periphere arterielle Verschlusskrankheit, Int: Intervention*

<b>Studienpopulation</b>	
<b>Altersmedian</b>	69 Jahre
<b>Geschlecht</b>	26 Männer, 11 Frauen
<b>Kardiovaskuläre Risikofaktoren/ Nebendiagnosen</b>	AHT: 76%, Rauchen: 30%, KHK: 19%, COPD: 38%, SD-Funktionsstörung: 30%, DM: 22%, HLP: 27%
<b>Indikation für den Eingriff</b>	pAVK: 51%, Aneurysma: 19%, Arterienstenose: 11%, Aortenstenose: 5%, Andere: 14%
<b>durchgeführter Eingriff</b>	Becken-Bein Angio (+Int): 27%, Feinnadelangio (+Int): 24%, Intraoperative Angio: 24%, Angio abdominaler Gefäße (+Int): 14%, MR-Angio: 5,5%, Angio Armgefäße (+Int): 5,5%

### **3.2 Präinterventioneller Vergleich der renalen Biomarker**

Von n=37 Patienten wurden präinterventionell die Konzentrationen von Kreatinin im Serum, Cystatin-C im Serum und NGAL im Urin gemessen. Tabelle 5 zeigt die für die einzelnen Parameter zugrunde gelegten Referenzbereiche anhand derer die ermittelten Messwerte in die Gruppen normwertig und erhöht eingeteilt wurden.

Ebenso wurde ein Wert für die berechnete GFR nach MDRD2 bestimmt und entsprechend des Referenzbereichs aus Tabelle 5 der Gruppe normwertig oder erniedrigt zugeteilt.

*Tabelle 5: Normbereiche der verschiedenen Parameter; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, MDRD: Formel nach der „Modification of Diet in Renal Disease“-Studie, NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

Parameter	Referenzbereich
Kreatinin im Serum	< 120 µmol/L
Cystatin-C im Serum	< 0,96 mg/L
GFR nach MDRD2	> 90 ml/min
NGAL im Urin	< 130 ng/ml

Im Anschluss wurden die Häufigkeiten der präinterventionell pathologisch erhöhten Werte für die Gruppen Cystatin-C gegenüber Kreatinin sowie für Cystatin-C gegenüber erniedrigten Werten der GFR nach MDRD2 auf statistische Signifikanz untersucht.

*Tabelle 6: Präinterventioneller Vergleich von Kreatinin im Serum und Cystatin-C im Serum (n=37)*

	Cystatin-C erhöht	Cystatin-C normwertig
Kreatinin erhöht	0	0
Kreatinin normwertig	26	11

Aus den Berechnungen ergibt sich, dass Cystatin-C im Serum präinterventionell signifikant häufiger ( $p=0.001$ ) erhöht ist als Kreatinin im Serum.

*Tabelle 7: Präinterventioneller Vergleich der GFR nach MDRD2 und Cystatin-C im Serum (n=37)*

	Cystatin-C erhöht	Cystatin-C normwertig
GFR erniedrigt	21 (22)	6
GFR normwertig	5 (4)	5

Mit einem p-Wert von 1.000 besteht präinterventionell kein signifikanter Unterschied der Häufigkeiten von erhöhtem Cystatin-C im Serum und einer erniedrigten GFR nach MDRD2.

### 3.3 Postinterventioneller Vergleich der renalen Biomarker

Als Grundlage zur Diagnostik und Einteilung der akuten Nierenschädigung dienten die RIFLE-Kriterien, insbesondere die Definition nach dem Stadium RIFLE-R. Eine akute Nierenschädigung wird dabei sowohl durch einen Anstieg des Serumkreatinins auf das 1,5-Fache des Ausgangswertes als auch durch einen Abfall der GFR um mindestens 25% gekennzeichnet.

Wir beobachteten, bei wie vielen Patienten Entsprechendes und damit eine postinterventionelle akute Nierenschädigung auftrat (Tabelle 8).

Für Cystatin-C im Serum und NGAL im Urin legten wir analog der RIFLE-Klassifikation einen 1,5-fachen Anstieg für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung zugrunde.

*Tabelle 8: Prozentsatz bzw. Anzahl der Patienten mit postinterventioneller akuter Nierenschädigung beruhend auf den RIFLE-Kriterien; GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, MDRD: Formel nach der „Modification of Diet in Renal Disease“-Studie, NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

Parameter	Akute Nierenschädigung
Kreatinin im Serum	0% (0/37)
GFR nach MDRD2	2,7% (1/37)
Cystatin-C im Serum	0% (0/37)
NGAL im Urin	48,6% (18/37)

Bei keinem der n=37 Patienten trat im postinterventionellen Verlauf ein Anstieg des Serumkreatinins auf das 1,5-Fache des präinterventionellen Wertes und damit eine akute Nierenschädigung nach der RIFLE-Klassifikation auf.

Ein postinterventioneller Abfall der GFR nach MDRD2 um mindestens 25%, was einer akuten Nierenschädigung im Stadium RIFLE-R entspricht, konnte bei einem Patienten beobachtet werden.

Weiterhin hatte kein Patient postinterventionell einen Anstieg von Cystatin-C im Serum auf das 1,5-Fache des Ausgangswertes, jedoch 18 Patienten (48,6%) einen entsprechenden Anstieg von NGAL im Urin.

Als Grundlage zur Diagnostik der Kontrastmittel-induzierten Nephropathie dienten die Leitlinien der ESUR. Hierbei wird eine CIN durch einen Anstieg des Serumkreatinins um relativ  $\geq 25\%$  zur Baseline gekennzeichnet.

Wir beobachteten, bei wie vielen Patienten Entsprechendes und damit eine Kontrastmittel-induzierte Nephropathie auftrat (Tabelle 9).

Für Cystatin-C im Serum und NGAL im Urin legten wir analog der ESUR-Leitlinien einen Anstieg von relativ  $\geq 25\%$  zur Baseline für die Diagnose einer CIN zugrunde.

*Tabelle 9: Prozentsatz bzw. Anzahl der Patienten mit im Verlauf auftretender Kontrastmittel-induzierter Nephropathie beruhend auf den ESUR-Leitlinien; NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin*

Parameter	Kontrastmittel-induzierte Nephropathie
Kreatinin im Serum	8% (3/37)
Cystatin-C im Serum	8% (3/37)
NGAL im Urin	57% (21/37)

Bei drei der n=37 Patienten (8%) trat im Verlauf ein Anstieg des Serumkreatinins  $\geq 25\%$  zur Baseline und damit eine Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN) gemäß den ESUR-Leitlinien auf.

Ebenso zeigten drei Patienten (8%) im Verlauf einen Anstieg von Cystatin-C im Serum auf  $\geq 25\%$  zur Baseline. Bei NGAL im Urin konnte dieser Anstieg sogar bei 21 Patienten (57%) beobachtet werden.

Die Diagnose einer allgemeinen akuten Nierenschädigung anhand der RIFLE-Kriterien liefert in unserer Studie demnach vergleichbare Ergebnisse wie die etwas spezifischere Diagnose einer Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung gemäß den Leitlinien der ESUR.

### 3.4 Studienverlauf der renalen Biomarker

Die unten dargestellten Diagramme zeigen für die einzelnen Parameter den Verlauf über die vier Messzeitpunkte. Jede Linie kennzeichnet einen Patienten.

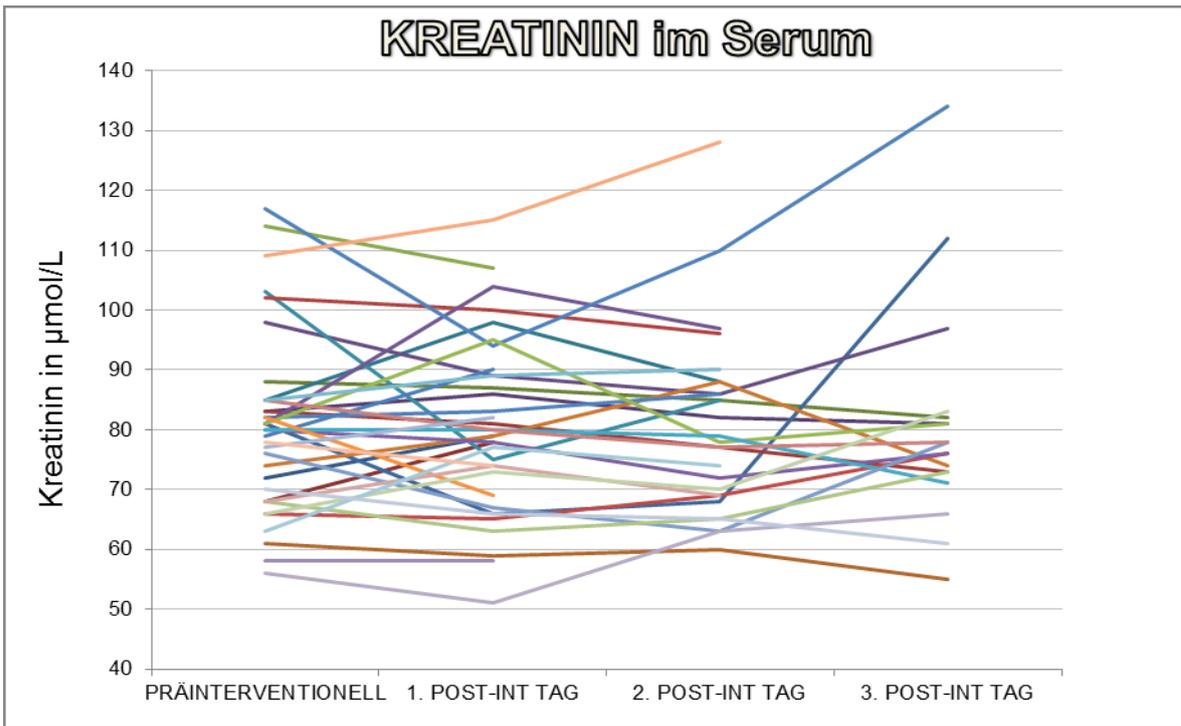


Abbildung 2: Messreihen aller Patienten von Kreatinin im Serum über den gesamten Beobachtungszeitraum; POST-INT Tag: Postinterventioneller Tag (Universitätsklinik Ulm, 2011)

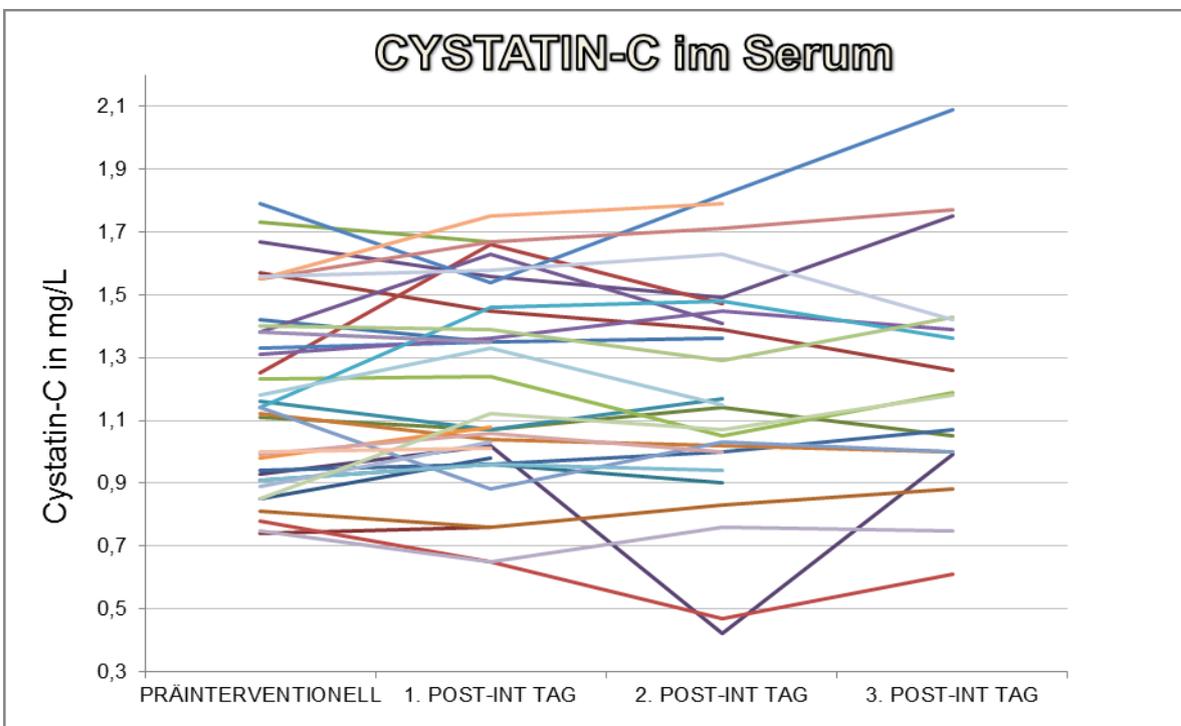


Abbildung 3: Messreihen aller Patienten von Cystatin-C im Serum über den gesamten Beobachtungszeitraum; POST-INT Tag: Postinterventioneller Tag (Universitätsklinik Ulm, 2011)

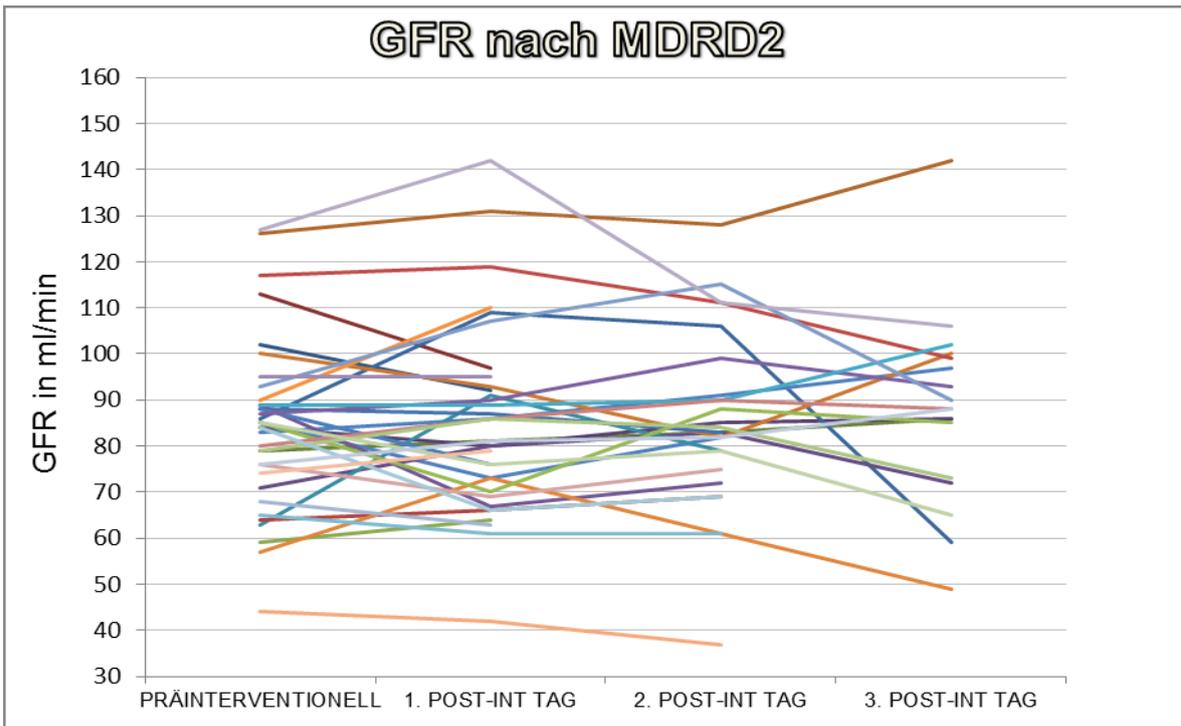


Abbildung 4: Messreihen aller Patienten der GFR nach MDRD2 über den gesamten Beobachtungszeitraum; Post-INT Tag: Postinterventioneller Tag, GFR: Glomeruläre Filtrationsrate, MDRD: Formel nach der „Modification of Diet in Renal Disease“-Studie (Universitätsklinik Ulm, 2011)

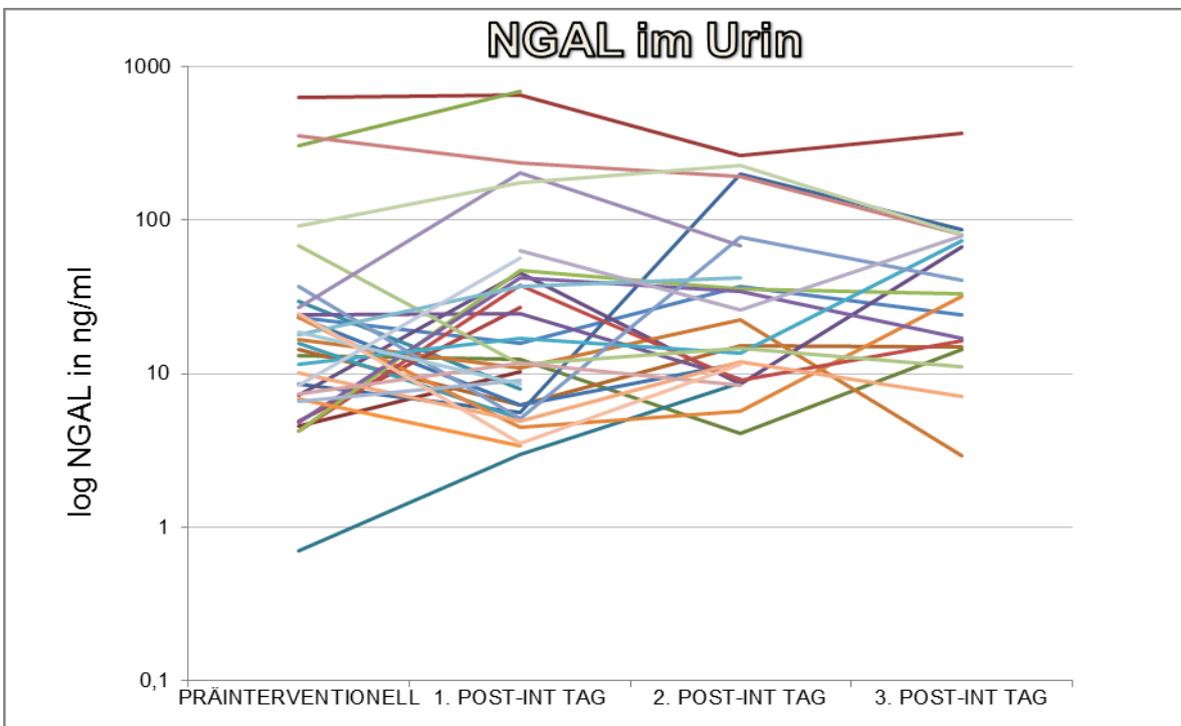


Abbildung 5: Messreihen aller Patienten von NGAL im Urin über den gesamten Beobachtungszeitraum; POST-INT Tag: Postinterventioneller Tag, NGAL: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (Universitätsklinik Ulm, 2011)

## 4 Diskussion

### 4.1 Ziele der Studie

Über einen Zeitraum von elf Monaten wurde bei 37 Patienten, die sich in der Klinik für Herz-, Thorax- und Gefäßchirurgie der Universität Ulm vorstellten, aufgrund ihrer gefäßchirurgischen Grunderkrankung eine diagnostische und/oder interventionelle Angiografie durchgeführt.

Unter potentiell nephrotoxischer Medikation (Röntgenkontrastmittel) wurden im Verlauf die Wertigkeiten verschiedener renaler Biomarker zur Detektion einer bestehenden oder neu aufgetretenen Nierenfunktionseinschränkung oder einer akuten Nierenschädigung in einem gefäßchirurgischen Patientengut untersucht.

Die Daten wurden prospektiv erfasst, um so gezielt Zusammenhänge zwischen den Biomarkern einerseits und in Bezug auf die Nierenfunktion andererseits erkennen und bewerten zu können.

Hierzu wurden folgende Hypothesen bearbeitet:

1. Zur Detektion einer postinterventionellen akuten Nierenschädigung wie auch einer im Verlauf auftretenden Kontrastmittel-induzierten Nephropathie, gibt es sensiblere Biomarker als Kreatinin im Serum. Untersucht werden Cystatin-C im Serum, NGAL im Urin und die GFR nach MDRD2.
2. Zur Erkennung bereits präinterventionell bestehender renaler Funktionsstörungen ist Cystatin-C im Serum ein sensiblerer Marker als Kreatinin im Serum.
3. Cystatin-C ist bei der Erkennung präinterventioneller renaler Funktionsstörungen vergleichbar mit der GFR nach MDRD2 und dieser nicht unterlegen.

## **4.2 Vergleich der präinterventionell gemessenen renalen Biomarker**

### **4.2.1 Cystatin-C und Kreatinin**

Im Vergleich der beiden renalen Biomarker zeigt sich, dass Cystatin-C im Serum präinterventionell signifikant häufiger erhöht ist als Kreatinin im Serum ( $p=0.001$ ). Cystatin-C deckt damit bereits geringe Funktionsveränderungen der Niere auf, die bei der präinterventionellen Risikoevaluation von entscheidender Bedeutung sein können.

Die Serumkreatininkonzentration ist eine der am häufigsten verwendeten Messungen zur Beurteilung der Nierenfunktion und wird weitgehend als Maß der glomerulären Filtrationsrate (GFR) interpretiert. Shemesh et al. konnten in ihrer Studie jedoch aufzeigen, dass die Kreatininkonzentration bei einem erheblichen Teil der Patienten mit stark beeinträchtigter GFR innerhalb des Referenzbereichs verbleibt. Dabei steigt die Kreatininkonzentration nicht an bzw. ist erst nach einem Abfall der GFR auf 50% des Ausgangswerts auf Werte oberhalb des Referenzbereichs erhöht („kreatininblinder Bereich“) [102]. Demzufolge führt der Gebrauch von Kreatinin als Marker zur Beurteilung der Nierenfunktion bei Patienten mit Glomerulopathie zu einer Überschätzung der GFR. Diese Beobachtung stellt den Wert des Serumkreatinins stark in Frage, insbesondere in der frühen Diagnostik einer Nierenfunktionsstörung.

Chronisch kranke, malnutrierte und ältere Patienten weisen präinterventionell häufig Serumkreatininwerte im Normbereich auf, obwohl bereits eine akute Nierenschädigung vorliegt. Den Einfluss der mit zunehmendem Alter abnehmenden Muskelmasse spiegelt eine Studie an ambulanten Patienten wieder, in der Kreatinin bei 14% versagte eine reduzierte Nierenfunktion ( $GFR \leq 50\text{ml/min}$ ) zu diagnostizieren. Bei 1,2% zwischen 40 und 59 Jahren, bei 12,6% zwischen 60 und 69 Jahren und bei 47,3%  $\geq 70$  Jahren [26]. Das Serumkreatinin kann hier die Nierenfunktion stark überschätzen, da eine verminderte Muskelmasse das Serumkreatinin auf einem normalen oder nahezu normalen Level hält, trotz des altersbedingten Abfalls der Nierenfunktion [110].

Der Altersmedian in unserer Studie liegt bei 69 Jahren. Fast zwei Drittel der Patienten sind älter als 65 Jahre und daher anfällig für eine Überschätzung der Nierenfunktion durch Kreatinin.

Obgleich gezeigt werden konnte, dass Kreatinin gerade bei älteren Patienten und milden Nierenfunktionseinschränkungen nicht sensibel genug reagiert, spielt es in der präinterventionellen Risikoabschätzung für die Entwicklung einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie (CIN) eine Rolle. Patienten mit normalem Wert für Serumkreatinin ( $\leq 1,3$  mg/dl für Frauen,  $\leq 1,4$  mg/dl für Männer) haben beinahe kein Risiko eine CIN zu entwickeln [13]. Schon bei Patienten mit einem Serumkreatinin von  $>1,2$  mg/dl besteht jedoch eine deutliche Zunahme des Risikos [90]. Bei Patienten mit Kreatininwerten von  $>1,5$  mg/dl zeigte sich sogar ein über 20-fach erhöhtes Risiko für ein CIN im Vergleich zu Patienten mit normaler Nierenfunktion [97].

Cystatin-C wurde als alternativer endogener Marker der GFR vorgeschlagen, da es eine hohe Übereinstimmung mit den Standard Clearance Methoden wie der Inulin oder Iohexol Clearance zeigt [113]. Cystatin-C wird als Marker sowohl bei chronischen als auch akuten Veränderungen der GFR benutzt und ist im Anzeigen dieser dem Kreatinin überlegen [22, 81].

Seine Synthese erfolgt weitgehend unabhängig von Größe, Geschlecht, Alter und Muskelmasse [78]. Es steigt bei einem akuten Abfall der GFR schneller an [38] und weist somit auf Nierenfunktionsstörungen hin, die keinen Kreatininanstieg hervorrufen und damit von Kreatinin unentdeckt bleiben.

Denkbar wäre es, die Messung der Cystatin-C-Konzentration in die präinterventionelle Risikoeinschätzung der Patienten aufzunehmen. Risikopatienten für eine akute Nierenschädigung könnten so selektiert und besser auf die bevorstehende Intervention vorbereitet werden. Dabei könnten eine gesonderte Infusionstherapie oder andere spezifische Maßnahmen hilfreich sein.

#### **4.2.2 Cystatin-C und die GFR nach MDRD2**

Ein weiteres Ergebnis unserer Studie zeigt, dass präinterventionell kein signifikanter Unterschied der Häufigkeiten von erhöhtem Cystatin-C im Serum und einer erniedrigten GFR nach MDRD2 besteht ( $p=1.000$ ). Dies könnte Ausdruck dafür sein, dass Cystatin-C bei der Erkennung präinterventioneller renaler Funktionsstörungen vergleichbar mit der GFR nach MDRD2 und dieser nicht unterlegen ist.

Die Messung der GFR durch verschiedene Clearance-Techniken wird als bester Index für das Niveau der Nierenfunktion bei Gesunden und Erkrankten angesehen [80]. Allerdings ist die direkte Messung der GFR durch ideale Marker der Filtration wie Inulin in der Klinik meist nicht praktikabel.

Einfacher ist die GFR-Messung mit einem Indikator, der schon normalerweise im Plasma vorhanden ist, dem Kreatinin. Die Messung der Kreatininclearance durch eine zeitlich festgelegte Urinsammlung ist jedoch belastend für den Patienten und gerade bei älteren Patienten oft fehlerhaft, was in einer dementsprechend oft irreführenden Kreatininclearance resultiert.

Deshalb wurden unzählige Formeln entwickelt, welche die Kreatininclearance anhand der Serumkreatininkonzentration abschätzen.

Die GFR nach MDRD2 stellt eine Vereinfachung der MDRD-Formel dar [54, 57]. Faktoren die mit der Ausscheidung von Kreatinin assoziiert sind, wie Alter, Geschlecht und ethnische Herkunft, sind in der Gleichung zur Berechnung der GFR nach MDRD2 enthalten und tragen zur Genauigkeit bei. Die Muskelmasse, welche von Alter, Geschlecht und Hautfarbe abhängt und ihr Einfluss auf die Serumkreatininkonzentration werden so ebenfalls in der Berechnung berücksichtigt. Einschränkungen, die die alleinige Benutzung von Serumkreatinin bzw. die Kreatininclearance mitbringen, werden so übergangen.

Inwieweit die Cystatin-C-Konzentration durch andere Faktoren als die Nierenfunktion beeinflusst wird, steht noch zur Diskussion. Es wird jedoch beschrieben, dass die Synthese unabhängig von Größe, Geschlecht, Alter und Muskelmasse erfolgt [78]. Cystatin-C wird zudem frei filtriert und von Zellen am proximalen Tubulus abgebaut. Es ist daher im Abschätzen der GFR Kreatinin überlegen [53]. Ausgewählte Patientengruppen, wie beispielsweise Kinder, ältere Menschen und Patienten mit reduzierter Muskelmasse, profitieren im Besonderen [27].

In unserer Studie war Cystatin-C in der Erkennung präinterventioneller renaler Funktionsstörungen der GFR nach MDRD2 nicht unterlegen. Zu beachten gilt jedoch, dass die von Patienten mit einer CKD abgeleitete MDRD-Formel die GFR bei Gesunden um 29% unterschätzt [98]. Auch liegt sie bei nur ca. 80% der Patienten im Bereich von 30% des Werts der gemessenen GFR [56]. Durch die Verwendung von Kreatinin zur Berechnung der GFR resultieren weitere Einschränkungen. Eine genaue Abbildung der Nierenfunktion durch die Serumkreatininkonzentration ist nur im Gleichgewichtszustand zwischen Produk-

tion und Exkretion möglich [7]. Auch kann die Serumkreatininkonzentration trotz einer wesentlich reduzierten GFR im Normalbereich bleiben [55] und steigt zudem nur langsam an [74]. Ein beträchtlicher Anstieg des Serumkreatinins innerhalb von 48-72 Stunden nach einem Nierenschaden wird also oft gar nicht erkannt. Auch kann ein bedeutender Nierenschaden vorliegen, welcher keine oder nur eine minimale Veränderung der Kreatininkonzentration hervorruft.

Dennoch war Cystatin-C in der Erkennung präinterventioneller renaler Funktionsstörungen der GFR nach MDRD2 auch nicht überlegen. Eventuell wäre dies eine nach Cystatin-C berechnete GFR, die den Einfluss von Kofaktoren verringert.

Zur Selektion von Risikopatienten mit einer vorbestehenden Nierenfunktions Einschränkung scheinen sowohl Cystatin-C als auch die GFR nach MDRD2 sinnvolle Screening-Parameter zu sein. Die Überlegenheit eines Parameters konnte durch die Ergebnisse unserer Studie nicht nachgewiesen werden.

### **4.3 Vergleich der postinterventionell gemessenen renalen Biomarker**

#### **4.3.1 Kreatinin und die GFR nach MDRD2**

Betrachtet man das Auftreten einer postinterventionellen akuten Nierenschädigung nach RIFLE-R, so konnte diese bei einem von 37 Patienten nach dem zugrundeliegenden GFR-Kriterium beobachtet werden. Keiner der 37 Patienten erfüllte dagegen die Kreatinin-Kriterien für eine solche Diagnose.

Die GFR nach MDRD2 scheint gegenüber der alleinigen Bestimmung von Kreatinin im Serum ein sensiblerer Marker der Nierenfunktion zu sein.

Die Kreatininkonzentration im Serum dient der groben Abschätzung der GFR und wird daher häufig als Screening Parameter zur Beurteilung der Nierenfunktion benutzt. Allerdings üben eine Reihe von Faktoren Einfluss auf die Serumkreatininkonzentration aus. Dies geschieht unter anderem durch Alter, Geschlecht und Muskelmasse [84].

Kreatinin, welches im Urin ausgeschieden wird, ist außerdem nicht allein das Ergebnis der glomerulären Filtration, sondern auch der tubulären Sekretion [12]. Diese steigt mit zunehmendem Abfall der GFR, was zu einem geringen Anstieg der Serumkreatininkonzentration führt [24]. Veränderungen des Serumkreatinins unterschätzen damit den wahren Abfall der GFR. Patienten können so trotz einer

wesentlich erniedrigten GFR normale Serumkreatininwerte aufweisen, was die Erkennung einer Nierenfunktionsstörung bedeutend erschwert.

Beim akuten Nierenversagen mit Anstieg des Körperwassers kommt es weiterhin zu einer Erhöhung des Verteilungsvolumens von Kreatinin. Dadurch wird der Anstieg der Serumkreatininkonzentration gedämpft oder sogar unterdrückt [74]. Es ist also zu erwarten, dass die Serumkonzentration von Kreatinin langsam ansteigt und zwar so lange bis sich ein neues Gleichgewicht eingestellt hat [11]. Obwohl eine Verschlechterung der GFR nach Kontrastmittelexposition beinahe unmittelbar beobachtet werden kann [60], dauert es daher 24 bis 48 Stunden bis sich der Abfall der GFR in einem Kreatininanstieg widerspiegelt.

In einer Studie von Katholi et al. [43] fiel die gemessene Kreatininclearance 48 Stunden nach Kontrastmittelexposition bei 33 von 35 Patienten ab. Der absolute Wert von Kreatinin im Serum hat sich im Vergleich jedoch nicht signifikant verändert. Diese Diskrepanz kann erklären, warum man bei Patienten mit initial normaler GFR eine akute Nierenfunktionsänderung oft nur verzögert oder gar nicht anhand einer Veränderung von Kreatinin im Serum erkennt.

Zur Detektion einer akuten Veränderung der Nierenfunktion ist Kreatinin ein unzuverlässiger Marker da es nur unzureichend bzw. verspätet ansteigt.

Gleichungen zur Abschätzung der GFR beinhalten neben dem Serumkreatinin stellvertretend für die Muskelmasse Variablen wie Alter, Geschlecht, Rasse und Körpergröße. Damit können sie einige Einschränkungen gegenüber der alleinigen Nutzung von Serumkreatinin aufheben.

In die Formel nach der MDRD-Studie [54] fließen neben der Serumkreatininkonzentration noch Kofaktoren, wie Alter und Geschlecht, in die Berechnung ein. Damit wird die GFR nach MDRD2 weniger durch extrarenale Faktoren beeinflusst und bildet Funktionsveränderungen der Niere stärker ab als Kreatinin alleine. Da die Formel an Patienten mit CKD entwickelt wurde, sind Ungenauigkeit und systematische Unterschätzung der gemessenen GFR bei höheren Werten wesentliche Haupteinschränkungen.

Die Abschätzung der GFR nach MDRD2 zur klinischen Beurteilung der Nierenfunktion scheint dennoch gegenüber der alleinigen Messung von Kreatinin im Serum sensibler zu sein. Eine eindeutige Aussage lässt sich mit den Ergebnissen unserer Studie allerdings nicht treffen.

### 4.3.2 Kreatinin und Cystatin-C

Bei keinem der 37 Patienten konnte postinterventionell ein 1,5-facher Anstieg weder von Cystatin-C im Serum noch von Kreatinin im Serum beobachtet werden. Ob Cystatin-C zur Detektion einer postinterventionellen akuten Nierenschädigung ein sensiblerer Marker als Kreatinin ist, lässt sich somit durch die Ergebnisse unserer Studie nicht eindeutig belegen.

Bereits 2004 konnten Herget-Rosenthal et al. zeigen, dass bei Patienten, die eine akute Nierenschädigung entwickeln, der Cystatin-C-Plasmaspiegel 1 bis 2 Tage vor dem Kreatinin-Plasmaspiegel ansteigt [38]. Maßgebend für die Diagnose waren die RIFLE-Kriterien. Wie in unserer Studie wurde ein 1,5-facher Anstieg von Cystatin-C für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung zugrunde gelegt.

Auch Rickli et al. verglichen Cystatin-C und Kreatinin. Von den untersuchten 41 Patienten wurden die Werte vor und 5, 24 und 48 Stunden nach Kontrastmittelapplikation im Rahmen einer Koronarangiografie gemessen. Der Anstieg von Cystatin-C erreichte sein Maximum nach 24 Stunden und ging innerhalb von 48 Stunden wieder auf den Ausgangswert zurück. Damit war es dem Kreatinin überlegen, welches nach 48 Stunden immer noch anstieg [91]. Kreatinin erreicht sein Maximum für gewöhnlich erst 3 bis 5 Tage nach Kontrastmittelexposition und kehrt innerhalb von 1 bis 3 Wochen auf seinen Ausgangswert zurück [31, 65].

Wir verfolgten unsere Studienpatienten unabhängig vom Auftreten einer akuten Nierenschädigung nur bis maximal drei Tage nach dem Eingriff. Der verspätete Anstieg von Kreatinin nach Kontrastmittelapplikation ist ein möglicher Grund eine akute Nierenschädigung zu übersehen, speziell bei Patienten mit einem kurzen Klinikaufenthalt. Es gibt also keine Gewissheit, dass eine akute Nierenschädigung ausgeschlossen werden kann, wenn die Werte für Kreatinin in den ersten Stunden nach Kontrastmittelgabe stabil bleiben bzw. bei der Entlassung nach 2 bis 3 Tagen nur mäßig erhöht sind wie das in unserer Studie der Fall war.

Die zugrundeliegenden Mechanismen, weshalb Kreatinin und Cystatin-C ihre Maxima zu unterschiedlichen Zeiten erreichen, sind dabei unklar. Cystatin-C wird an den Glomerula frei filtriert und in den Tubuli abgebaut. Kreatinin wird ebenso an den Glomerula frei filtriert, aber im Vergleich zu Cystatin-C wird ein kleiner Teil während normaler oder leicht eingeschränkter Nierenfunktion von den Tubuli sezerniert. Dies könnte zumindest in Teilen den früheren Anstieg von Cystatin-C zu

Beginn einer Nierenfunktionseinschränkung im Vergleich zu Kreatinin erklären. Die kürzere Halbwertszeit von Cystatin-C (1,5h) verglichen mit Kreatinin trägt zu einem schnelleren Anstieg und einer früheren Einstellung eines neuen Steady-State bei [104]. Cystatin-C verteilt sich im Extrazellulärvolumen [108], wohingegen sich Kreatinin im ganzen Körperwasser verteilt [99], ein Volumen welches dreimal so groß ist. Daher ist die Halbwertszeit von Kreatinin verglichen mit Cystatin-C dreimal so lang und die Zeit zum Erreichen eines neuen Steady-State steigt proportional.

Cystatin-C scheint Kontrastmittel-induzierte Veränderungen der Nierenfunktion also besser anzuzeigen als Kreatinin [47]. Es reagiert vermutlich schneller und sensibler auf Veränderungen der Nierenfunktion und zeigt eine akute Nierenschädigung früher an.

Demgegenüber stehen Beobachtungen von Ribichini et al., welche die diagnostische Genauigkeit von Serumkreatinin und Cystatin-C als frühe Marker einer CIN untersuchten. Ihren Ergebnissen zufolge liefern absolute Veränderungen des Serumkreatinins (Ausgangswert zum 12h Wert) eine höhere diagnostische Genauigkeit eine CIN in einem frühen Stadium vorherzusagen als ähnliche Veränderungen von Cystatin-C [87]. In einer weiteren Studie konnten sie außerdem zeigen, dass bereits geringfügige prozentuale Veränderungen des Serumkreatinins 12 Stunden nach Kontrastmittelexposition das Auftreten einer CIN wie auch eines bleibenden Nierenschadens mit hoher Sensitivität und Spezifität vorhersagen [88].

Den Autoren zufolge werden allgemein verfügbare Biomarker wie Serumkreatinin oft unterschätzt. Im Besonderen wenn Veränderungen von absoluten Werten herangezogen werden. Sie fordern daher für die frühe Diagnose einer CIN die Routinemessung von absoluten Werten durch die Messung von prozentualen Veränderungen im Vergleich zum Ausgangswert zu ersetzen [89].

Zahlreiche Studien zeigen dass Cystatin-C in der frühen Erkennung einer beeinträchtigten Nierenfunktion eine bessere diagnostische Genauigkeit besitzt als Serumkreatinin [15, 38]. Inwiefern eine solch beeinträchtigte Nierenfunktion klinisch von Bedeutung ist und sich in einer beeinträchtigten GFR widerspiegelt, muss in weiteren Studien geklärt werden. Ein Vergleich mit der durch Inulin gemessenen GFR wäre hierfür bestens geeignet.

### 4.3.3 Kreatinin und NGAL

Wie bereits oben erwähnt weist kein Patient einen 1,5-fachen postinterventionellen Anstieg des Serumkreatinins auf. Durch Anwendung des gleichen Kriteriums für das gemessene NGAL im Urin konnte dieser jedoch bei nahezu 50% der Patienten beobachtet werden.

Kreatinin gilt als unzuverlässiger Indikator gerade während akuten Veränderungen der Nierenfunktion [7]. Tierstudien konnten zeigen, dass obgleich die akute Nierenschädigung durch verschiedene Maßnahmen verhindert und/oder behandelt werden kann, diese sehr früh nach der Schädigung angewandt werden müssen, lange bevor es zu einem Anstieg des Serumkreatinins kommt [21]. Auch Untersuchungen am Menschen kamen zu dem Ergebnis, dass eine frühe Intervention die Chance auf eine Verbesserung der Nierenfunktion steigert [100].

Neueste Daten zeigen, dass NGAL in der Lage ist Patienten mit einer nur subklinischen oder mäßigen Nierenschädigung zu erkennen [36]. Eine Schädigung, welche bei anderen Nierenfunktionsparametern wie dem Serumkreatinin und der GFR keine wesentlichen Veränderungen hervorruft, aber dennoch mit einem negativen Ausgang assoziiert ist.

Bei Kindern, die sich einer herzchirurgischen Operation unterzogen, besaß die Urinkonzentration von NGAL 2 Stunden nach der OP eine Genauigkeit von nahezu 100% für die korrekte Erkennung einer akuten Nierenschädigung 24-72 Stunden nach dem Eingriff [71].

Auch Bachorzewska et al. untersuchten die Wertigkeit von NGAL als neuen Marker der akuten Nierenschädigung. Bei Patienten mit initial normalem Serumkreatininwert konnten sie zeigen, dass bereits 4 Stunden nach Kontrastmittelgabe die Werte für NGAL im Urin anstiegen und diese im Vergleich zur Baseline bis 8 Stunden danach wesentlich erhöht bleiben [5]. Die Werte für Serumkreatinin waren im gleichen Zeitraum unverändert.

Verglichen mit diesen Werten war die Zeitspanne zwischen dem Ende des Eingriffs und der Uringewinnung zur NGAL-Messung in unserer Studie deutlich länger. So wurde der Urin erst am Folgetag der Intervention gewonnen. Die zu dieser fortgeschrittenen Zeit bestimmte NGAL-Konzentration spiegelt damit nicht mehr die Akutphase der Schädigung wieder.

Diskussionswürdig bleibt darüber hinaus die Tatsache, einen postinterventionellen Anstieg der NGAL-Konzentration auf das 1,5-Fache des Ausgangswerts für die Diagnose einer akuten Nierenschädigung vorauszusetzen. Zur besseren Vergleichbarkeit und aufgrund fehlender Alternativen wandten wir die Klassifikation nach RIFLE-R auch auf NGAL im Urin an.

Ein Blick in die Fachliteratur zeigt jedoch, dass beispielsweise Erwachsene auf der Intensivstation mit einer nachgewiesenen akuten Nierenschädigung (definiert als Verdopplung der Serumkreatininkonzentration in weniger als fünf Tagen), einen mehr als 100-fachen Anstieg der Werte für NGAL im Urin im Vergleich zur Kontrollgruppe aufweisen [77].

Auch in der adulten Kardiochirurgie konnte bei Patienten mit postoperativem Nierenversagen (diagnostiziert anhand der RIFLE-R-Klassifikation) ein Anstieg der Werte für NGAL im Urin von im Mittel 112 ng/ml auf im Mittel 5994 ng/ml beobachtet werden. Dies entspricht einer Erhöhung um mehr als das fünfzigfache [116]. Sogar bei Patienten die kein postoperatives Nierenversagen entwickelten, konnte im Verlauf eine vervierzigfachung der Werte für NGAL im Urin beobachtet werden [116].

Das Fehlen eines einheitlich angemessenen Grenzbereichs genauso wie das Fehlen einer eindeutigen Cutoff-NGAL-Konzentration für den Nachweis einer akuten Nierenschädigung limitieren bisher den klinischen Nutzen von NGAL.

Haase et al. definierten anhand einer Metaanalyse von 19 ausgewählten Artikeln lediglich 150 ng/ml als möglichen Cut-Off-Wert [35].

Da jede Erhöhung der NGAL-Konzentration im Urin Ausdruck einer minimalen tubulären Schädigung sein kann, ohne dass diese durch einen entsprechenden Kreatininanstieg zur Definition einer akuten Nierenschädigung führt, ist dies kritisch zu betrachten. Die klinische Signifikanz solcher NGAL Anstiege, bzw. ab welcher Konzentration bzw. welchem Konzentrationsanstieg man von einer akuten Nierenschädigung spricht, wurde bislang leider noch nicht eingehend untersucht. Für Patienten mit bereits bestehenden Funktionseinschränkungen und Schädigungen der Niere, vor allem in Kombination mit weiteren Risikofaktoren, können solche Schädigungen dennoch von großer Relevanz sein.

In unserer Studie konnte bei fast der Hälfte der Patienten ein 1,5-facher Anstieg von NGAL im Urin im Vergleich zum Ausgangswert beobachtet werden. Dies

deutet darauf hin, dass NGAL renale Schädigungen sehr sensibel anzeigt, auch wenn die klinische Relevanz dieser Schädigungen unklar bleibt.

Zur Evaluation dieser sind weitere Studien mit einem größeren Patientenkollektiv nötig. Wichtig ist dabei auf eine zeitnahe und zu festgelegten Zeitpunkten erfolgende Bestimmung der NGAL-Konzentration zu achten. Wie in der Fachliteratur beschrieben sind dabei die ersten 2-8h nach erfolgter Intervention von besonderer Relevanz. Auch ist der Vergleich mit Kreatinin nicht sinnvoll, da Kreatinin gerade während akuten Veränderungen der Nierenfunktion ein unzuverlässiger Marker ist und zudem einen verspäteten Anstieg aufweist. Als Alternative wäre hier der Vergleich mit der durch Inulin gemessenen GFR möglich. Ein entsprechender Anstieg der NGAL-Konzentration bis zum Eintritt einer relevanten Nierenfunktionsstörung könnte so detektiert werden. Um Störfaktoren wie Flüssigkeitshaushalt und Diurese, die Einfluss auf die Urinkonzentration der ausgeschiedenen Stoffe nehmen, zu umgehen, könnte das NGAL-Kreatinin Verhältnis im Urin bestimmt werden.

#### **4.4 Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN)**

In den vergangenen Jahrzehnten hat das wachsende Verlangen nach hochentwickelter Diagnostik in allen Gebieten der Medizin den Bedarf an kontrastmittelverstärkter Bildgebung stetig wachsen lassen [111]. Während kontrastmittelverstärkte Verfahren in der gesunden Bevölkerung ziemlich sicher in der Anwendung sind, tendieren Patienten mit einer vorbestehenden Beeinträchtigung der Nieren- oder Herzfunktion dazu, eine akute Nierenschädigung aufgrund einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie zu entwickeln und haben so ein höheres Sterberisiko [105, 109].

Laut einem Review [67] sehen viele Studien eine GFR von 60 ml/min/1,73m<sup>2</sup> als Grenze für die Entwicklung eines CIN. Es ist daher wichtig, Patienten mit vorbestehenden oder nach Kontrastmittelapplikation auftretenden Nierenfunktionseinschränkungen zu erkennen und Strategien zur Prävention zu entwickeln.

Gemäß den Leitlinien der ESUR spricht man bei einem Anstieg des Serumkreatinins um absolut  $\geq 0,5$  mg/dl oder relativ  $\geq 25\%$  zur Baseline innerhalb von 72 Stunden nach Kontrastmittelgabe von Kontrastmittel-induzierter Nephropathie [75].

Bei keinem Patienten unseres Kollektivs konnte ein Anstieg des Serumkreatinins um absolut  $\geq 0,5$  mg/dl zum Ausgangswert beobachtet werden. Auch wenn die Patienten unserer Studie einem oft hohen KM-Volumen und damit einem wichtigen Risikofaktor ausgesetzt waren, gibt es Gründe warum keiner ein CIN nach dieser Definition entwickelte. So wurden präinterventionell alle Patienten auf eine bestehende Nierenfunktionseinschränkung untersucht (Kreatinin-Messung). Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion oder bestehender CKD wurden anschließend von der Studie ausgeschlossen. Das Vorliegen einer CKD gilt neben einem Diabetes Mellitus und dem KM-Volumen bekanntlich als wichtigster Risikofaktor [31, 69]. Weiterhin erfolgten präventive Flüssigkeitsgaben sowie die Applikation von Mesna prä- und postinterventionell.

Für die Diagnose einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie (CIN) wählten wir daher einen Anstieg des Serumkreatinins von relativ  $\geq 25\%$  zum Ausgangswert als maßgebend. Diese Definition ist weitaus sensitiver und kann ferner auch für Cystatin-C und NGAL angewandt werden.

Drei von 37 Patienten zeigten folglich einen Anstieg für Kreatinin im Serum  $\geq 25\%$  zur Baseline. Ebenso war bei drei Patienten der Wert für Cystatin-C  $\geq 25\%$  zum Ausgangswert erhöht. Ein Anstieg von NGAL  $\geq 25\%$  zum Ausgangswert konnte dagegen bei 21 Patienten beobachtet werden. NGAL reagiert möglicherweise bereits auf subklinische Schädigungen der Niere, die durch andere Parameter völlig unerkant bleiben.

In einer Studie von Bachorzewska et al. war für die Diagnose einer CIN bei Patienten mit Koronarintervention ebenfalls ein Anstieg von Cystatin-C und NGAL  $\geq 25\%$  maßgebend. NGAL konnte hier eine CIN mit guter Sensitivität und Spezifität voraussagen, viel früher als Kreatinin und sogar Cystatin-C [6].

In epidemiologischen und interventionellen Studien werden verschiedene Definitionen der CIN verwendet. Diese basieren entweder auf absoluten oder relativen Veränderungen der Serumkreatininkonzentration innerhalb verschiedener Zeiträume nach Kontrastmittelgabe. Serumkreatinin beginnt meist innerhalb von 24 Stunden nach Kontrastmittelgabe anzusteigen, der Peak wird allerdings erst nach 3 bis 5 Tagen erreicht. Die Rückkehr zur Baseline erfolgt nach 1 bis 3 Wochen [31, 65]. Da die Patienten meist spätestens 2 bis 3 Tage nach der Angiografie entlassen werden, kann ein späterer Anstieg des Serumkreatinins und damit eine potenzielle CI-AKI nicht mehr registriert werden.

Im Hinblick auf die Tatsache, dass eine akute Nierenschädigung nach angiografischen Untersuchungen mit Kontrastmittelgabe Morbidität sowie Mortalität erhöht, ist dies kritisch zu betrachten. In einer großen retrospektiven Analyse von 16248 Patienten unter Kontrastmittelexposition betrug die Mortalität unter Patienten die ein CI-AKI entwickelten 34%, verglichen mit 7% einer Kontrollgruppe, die auch Kontrastmittel erhalten, aber kein CI-AKI entwickelt hat [58].

Unsere Studie zeigt, dass es neben dem Kreatinin weitere, neuere renale Biomarker gibt, die in der Lage sind Funktionseinschränkungen bzw. Schädigungen der Niere anzuzeigen.

Sollte eine Risikoeinschätzung aufgrund fehlender Laborbestimmungen nicht möglich sein, kann in Zukunft ebenso auf die Entwicklung neuer Risikoscores zurückgegriffen werden [68]. Diese finden viel Beachtung, jedoch bisher wenig Verwendung im klinischen Alltag.

Praktikabler noch als die Anwendung von Risikoscores in der Prävention einer CI-AKI ist die Reduktion bzw. Begrenzung des Kontrastmittelvolumens. So konnte durch Weiterentwicklungen in der Bildgebung das applizierte Kontrastmittelvolumen gesenkt werden. Auch gewichtsbasierte Kontrastmittelapplikationen werden in diesem Zusammenhang diskutiert [46]. Darüber hinaus finden bestimmte Formeln und Verhältnisse für das richtige Kontrastmittelvolumen und die Einschätzung des CIN-Risikos immer wieder Erwähnung [14, 83, 103].

Dies trägt der Tatsache Rechnung, dass der nephrotoxische Effekt von Kontrastmitteln dosisabhängig ist und höhere Dosen mit einem höheren Risiko einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie (CIN) verbunden sind [76, 92, 96].

Dieser Effekt wurde von McCullough et al. [66] an Patienten, die sich einer Koronarangiografie unterzogen, beobachtet. Demzufolge steigern höhere Kontrastmittelvolumen (>100ml) bei Risikopatienten den Anteil an Patienten mit dialysepflichtigem Nierenversagen. Auch Briguori et al. definierten bei Patienten mit beeinträchtigter Nierenfunktion (Serumkreatinin  $\geq 1,2$ mg/dl und/oder eGFR < 70ml/min) ein Kontrastmittelvolumen von  $\geq 140$ ml als besten Cut-Off Wert für die Vorhersage einer CIN [10]. Die CIN Consensus Working Panel empfiehlt daher, gerade bei vorbestehender Nierenkrankheit, die Dosis des schädigenden Kontrastmittels zu vermindern bzw. nach Möglichkeit unter dem Wert von 100ml zu bleiben [19]. Allerdings schließt auch diese Maßnahme das Auftreten eines Kontrastmittel-induzierten Nephropathie keineswegs vollends aus. Manske et al.

konnten schon vor Jahren zeigen, dass gerade bei Hochrisikopatienten auch kleinere Dosen die Nierenfunktion beeinträchtigen können [63].

Eine Risikoabschätzung für die Entwicklung einer Kontrastmittel-induzierten Nephropathie sollte daher bei allen Patienten vor Untersuchungen mit intravasculärer Gabe von jodhaltigem Kontrastmittel durchgeführt werden. Hierzu zählt insbesondere das Screening auf eine präexistierende Einschränkung der Nierenfunktion (z.B. Serumkreatininbestimmung). Auch die Anamnese bezüglich eines vorbestehenden Diabetes Mellitus, kardiovaskulären Erkrankungen und einer chronischen Nierenerkrankung sollte evaluiert werden.

Ist die Applikation eines Kontrastmittels erforderlich, sollte zur Risikominimierung die Dosis so gering wie möglich gehalten werden. Auch ist auf eine ausreichende Flüssigkeitssubstitution zu achten. Gegebenenfalls sollten alternative Methoden der Bildgebung ohne Kontrastmittel in Betracht gezogen werden.

Durch die weltweite Zunahme an Untersuchungen auf Basis eines Kontrastmittels ist die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie mittlerweile ein wichtiges klinisches Problem. In Zukunft wird daher die Risikominimierung anhand der oben genannten Maßnahmen immer größere Bedeutung erlangen. Auch die Suche nach neuen Biomarkern wird voranschreiten und so eventuell die Definition und Klassifikation der CIN verfeinern.

#### **4.5 Studienlimitation**

Ein großes Plus unserer Studie ist sicherlich, dass wir eine klinische, prospektive Beobachtungsstudie durchführten. Diese erlaubte es, die Wertigkeit der Messung von neuen Nierenparametern im Vergleich zu etablierten Parametern der Nierenfunktion in einem gefäßchirurgischen Patientengut bestens zu untersuchen.

Allerdings weist sie aber auch einige Einschränkungen auf.

Allen voran die geringe Anzahl an Studienpatienten. Sechs Patienten wurden bereits präinterventionell von der Studie ausgeschlossen, sodass letztendlich die Daten von 37 Patienten in die statistische Auswertung einbezogen wurden.

Auch wenn der Beobachtungszeitraum auf bis zu drei Tage nach erfolgter Intervention festgelegt wurde, war es bei einigen Patienten nicht möglich eine vollständige Messreihe über die genannten vier Messzeitpunkte zu erheben. Un erwartet frühzeitige Entlassungen aufgrund einer guten Genesung oder Ähnlichem

machten es unmöglich eine weitere Kontrolle der Nierenfunktion mittels der genannten Parameter durchzuführen. Letztlich konnten ‚nur‘ bei 17 Patienten vollständige Messreihen mit Werten bis einschließlich dem 3. postinterventionellen Tag erhoben werden. Aufgrund der bekannten Unterschiede der Nierenfunktionsparameter sowohl zwischen den Geschlechtern als auch mit zunehmendem Alter wäre eine größere Studienpopulation mit einer homogenen Verteilung von Alter und Geschlecht zur genaueren Detektion einer Nierenfunktionseinschränkung unter Applikation einer nephrotoxischen Medikation nötig gewesen.

Ein Mangel bei der Bestimmung des NGAL war die bei einigen Proben ungenügende Vorbereitung für die Analyse. Die Proben sollten hierfür so schnell wie möglich innerhalb von 24 Stunden nach der Entnahme in Zentrifugenröhrchen überführt und mindestens 5 Minuten lang bei  $\geq 400 \times g$  zentrifugiert werden. Da die Urinproben von einem externen Labor ausgewertet wurden, war es nicht immer möglich dieses Zeitfenster einzuhalten. Auch wurde der Urin zur NGAL Messung in unserer Studie erst am Tag nach der Intervention gewonnen, was verglichen mit der Fachliteratur sehr spät ist. Ein weiterer Störfaktor ist die alleinige Messung von NGAL im Urin. Neben dem Flüssigkeitshaushalt und bestimmten Medikamenten nehmen auch verschiedene Erkrankungen Einfluss auf die Konzentration von NGAL im Urin. Die Bestimmung des NGAL-Kreatinin-Verhältnisses im Urin wäre in diesem Zusammenhang die genauere Methode gewesen. Vergleichende Werte für NGAL im Serum wurden von uns gar nicht gemessen.

Weiterhin haben wir das Serumkreatinin nur bis maximal 72 Stunden nach KM-Gabe gemessen. Der Peak der Kreatininkonzentration wird aber erst nach 3 bis 5 Tagen erreicht. Die Rückkehr zur Baseline erfolgt nach ca. 1 bis 3 Wochen. Ein späterer Anstieg des Serumkreatinins wurde von uns somit nicht registriert.

Alle von uns erhobenen Parameter haben wir mit Kreatinin verglichen. Durch einen Vergleich mit der Inulin-GFR hätten wir bessere Aussagen über die tatsächliche Änderung der Nierenfunktion treffen können.

Wie viele Studien in der Literatur haben auch wir Patienten mit einer vorbestehenden chronischen Nierenkrankheit (CKD) ausgeschlossen. Ebenso war in unserer Studie ein erhöhter Wert für Kreatinin ein Ausschlusskriterium. Unsere Studie ist also nur repräsentativ für nierengesunde Patienten.

Für die klinische Auswertung der Daten in unserer Studie haben wir die RIFLE-Kriterien zugrunde gelegt. Diese aber nicht mit anderen Klassifikationssystemen für eine akute Nierenschädigung verglichen.

Außerdem haben wir die RIFLE-Kriterien, hier einen postinterventionellen 1,5-fachen Anstieg, auch für die Parameter Cystatin-C und NGAL angewandt, ohne zu wissen, ob diese Definition in dieser Form überhaupt anwendbar ist. Auch die ESUR-Kriterien, hier einen Anstieg  $\geq 25\%$  zum Ausgangswert, wandten wir für Cystatin-C und NGAL zur Detektion einer CIN an.

Zu guter Letzt führten wir nur eine Single-Center-Studie durch, was die Generalisierbarkeit der Ergebnisse einschränkt.

Dennoch zeigt unsere Studie, dass Cystatin-C und NGAL bei Patienten nach Kontrastmittelexposition im Rahmen einer Angiografie einen diagnostischen und prognostischen Wert aufweisen und so in Zukunft eventuell zur Überwachung der Nierenfunktion sowie zur Frühdiagnostik und Verlaufsbeobachtung von Funktionseinschränkungen oder Schädigungen der Niere beitragen können.

## 5 Zusammenfassung

Die akute Nierenschädigung (AKI), ehemals als Akutes Nierenversagen (ARF) bezeichnet, ist ein bedeutendes klinisches Problem mit steigender Inzidenz und hoher Mortalität. Kreatinin als üblicher Marker der Nierenfunktion scheint in der Frühdiagnostik nicht sensitiv genug eine grenzwertig bis leicht eingeschränkte Nierenfunktion anzuzeigen. Patienten mit einer vorbestehenden Nierenfunktionseinschränkung prädisponieren somit unter Kontrastmittelapplikation für Komplikationen, wie den Übergang in eine akute Nierenschädigung. Die Kontrastmittel-induzierte Nephropathie (CIN) ist damit mittlerweile eine der führenden Ursachen für eine Nierenfunktionsstörung in der Klinik.

In der vorliegenden prospektiven, klinischen Beobachtungsstudie mit 37 Patienten untersuchten wir, inwieweit eine Beurteilung der Nierenfunktion und Nierenschädigung mittels Bestimmung von Cystatin-C im Serum, Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) im Urin oder der berechneten glomerulären Filtrationsrate nach der vereinfachten „Modification of Diet in Renal Disease“-Studienformel (GFR nach MDRD2) genauso oder besser möglich ist als mit Hilfe der Bestimmung von Kreatinin im Serum. Unsere Studienpopulation setzte sich aus einem gefäßchirurgischen Patientengut zusammen. Die Patienten waren für eine diagnostische/interventionelle Angiografie in der Klinik und hatten aufgrund der nephrotoxischen Medikation (Röntgenkontrastmittel) ein erhöhtes Risiko für eine postinterventionelle akute Nierenschädigung. Zur Bestimmung der Biomarker wurden von den Patienten präinterventionell sowie am ersten, zweiten und dritten Tag nach der Intervention Blut- und Urinproben gesammelt.

Wir untersuchten, ob zur Erkennung bereits präinterventionell bestehender renaler Funktionsstörungen das Cystatin-C im Serum den etablierten Markern Kreatinin im Serum und der GFR nach MDRD2 überlegen ist. Die Auswertung der präinterventionellen Messwerte sollte zeigen, ob durch den Vergleich der verschiedenen Biomarker pathologisch erhöhte Messwerte signifikant unterschiedlich häufig auftraten. Wir verglichen Cystatin-C gegenüber Kreatinin sowie gegenüber der GFR nach MDRD2. Weiterhin untersuchten wir die Hypothese, dass es zur Detektion einer postinterventionellen akuten Nierenschädigung, im Speziellen auch einer

Kontrastmittel-induzierten Nephropathie, sensiblere Biomarker als Kreatinin im Serum gibt. Untersucht wurden dabei Cystatin-C im Serum, NGAL im Urin und die GFR nach MDRD2. Die Auswertung der postinterventionellen Messwerte sollte zeigen, wie oft es zu einem Anstieg auf das 1,5-Fache, im Speziellen zu einem Anstieg  $\geq 25\%$ , des präinterventionellen Wertes, beziehungsweise bei der GFR zu einem Abfall auf das 0,75-Fache des Ausgangswertes und damit zu einer akuten Nierenschädigung kam. Grundlage hierfür waren die RIFLE- bzw. ESUR-Kriterien. Wie unsere Ergebnisse zeigen, sind die Messwerte von Cystatin-C im Serum präinterventionell signifikant häufiger ( $P=0.001$ ) erhöht als die von Kreatinin im Serum. Dies bestätigt die überwiegende Haltung in der Fachliteratur, wonach Cystatin-C sensibler milde Funktionsveränderungen der Niere anzeigt als Kreatinin. Bezüglich der Häufigkeiten von erhöhtem Cystatin-C im Serum und einer erniedrigten GFR nach MDRD2 ergab sich präinterventionell kein signifikanter Unterschied ( $p=1.000$ ). Eine Cystatin-C-basierte Formel zur Berechnung bzw. Schätzung der GFR hätte hier durch die Berücksichtigung von Kofaktoren eventuell einen besseren Vergleich erlaubt.

Betrachtet man die für die postinterventionellen Messwerte zugrunde gelegten RIFLE-Kriterien, so trat laut NGAL bei 49%, laut GFR nach MDRD2 bei 3% und laut Kreatinin im Serum und Cystatin-C im Serum bei keinem der Patienten eine akute Nierenschädigung auf. Die ESUR-Kriterien zur Diagnose einer CIN liefern hier ähnliche Ergebnisse (CIN laut NGAL bei 57%, laut Cystatin-C und Kreatinin bei je 8%). NGAL zeigt somit möglicherweise auch kleinste Schädigungen der Niere frühzeitig an, die durch andere Marker unerkant bleiben. Die klinische Relevanz dieser Schädigungen ist allerdings unklar. Ebenso lassen sich die Wertigkeiten der GFR nach MDRD2 wie auch der Cystatin-C-Messung zur Detektion einer postinterventionellen akuten Nierenschädigung durch die Ergebnisse unserer Studie nicht abschließend klären.

Eine Beurteilung der Nierenfunktion und Nierenschädigung durch die Bestimmung von Cystatin-C im Serum und NGAL im Urin liefert im Vergleich zu den etablierten Markern der Nierenfunktion wertvolle Informationen. Es scheint daher sinnvoll, gerade bei gefährdeten Patienten, diese Marker routinemäßig zu bestimmen, um präinterventionell Nierenfunktionsstörungen besser zu erkennen und postinterventionell schneller eine zielgerichtete Therapie einleiten zu können.

## 6 Literaturverzeichnis

- [1] Abbott Diagnostics Wiesbaden (Hrsg.): ARCHITECT Urine NGAL (Urin-NGAL). 1-7 (2011)
- [2] Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsback M, Lundwall A, Jensson O, Grubb A: Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochemical Journal* 268: 287-294 (1990)
- [3] Alnaeb ME, Youssef F, Mikhailidis DP, Hamilton G: Short-term lipid-lowering treatment with atorvastatin improves renal function but not renal blood flow indices in patients with peripheral arterial disease. *Angiology* 57: 65-71 (2006)
- [4] Babay Z, Al-Wakeel J, Addar M, Mittwalli A, Tarif N, Hammad D, Ali N, Al-Askar A, Choudhary AR: Serum cystatin C in pregnant women: reference values, reliable and superior diagnostic accuracy. *Clinical & Experimental Obstetrics & Gynecology* 32: 175-179 (2005)
- [5] Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko JS, Dobrzycki S: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) correlations with cystatin C, serum creatinine and eGFR in patients with normal serum creatinine undergoing coronary angiography. *Nephrology Dialysis Transplantation* 22: 295-296 (2007)
- [6] Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko J, Sitniewska E, Malyszko JS, Poniatoski B, Pawlak K, Dobrzycki S: NGAL (neutrophil gelatinase-associated lipocalin) and cystatin C: are they good predictors of contrast nephropathy after percutaneous coronary interventions in patients with stable angina and normal serum creatinine? *International Journal of Cardiology* 127: 290-291 (2008)
- [7] Bellomo R, Kellum JA, Ronco C: Defining acute renal failure: physiological principles. *Intensive Care Medicine* 30: 33-37 (2004)
- [8] Bellomo R, Ronco C, Kellum JA, Mehta RL, Palevsky P: Acute Dialysis Quality Initiative: Acute renal failure - definition, outcome measures, animal models, fluid therapy and information technology needs: the Second International Consensus Conference of the Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI) Group. *Critical Care* 8: 204-12 (2004)
- [9] Bokenkamp A, van Wijk JA, Lentze MJ, Stoffel-Wagner B: Effect of corticosteroid therapy on serum cystatin C and beta2-microglobulin concentrations. *Clinical Chemistry* 48: 1123-1126 (2002)
- [10] Briguori C, Manganelli F, Scarpato P, Elia PP, Golia B, Riviezzo G, Lepore S, Librera M, Villari B, Colombo A, Ricciardelli B: Acetylcysteine and contrast agent-associated nephrotoxicity. *Journal of the American College of Cardiology* 40: 298-303 (2002)

- [11] Briguori C, Visconti G, Rivera NV, Focaccio A, Golia B, Giannone R, Castaldo D, De Micco F, Ricciardelli B, Colombo A: Cystatin C and contrast-induced acute kidney injury. *Circulation* 121: 2117-2122 (2010)
- [12] Carrie BJ, Golbetz HV, Michaels AS, Myers BD: Creatinine: an inadequate filtration marker in glomerular diseases. *American Journal of Medicine* 69: 177-182 (1980)
- [13] Choyke PL, Cady J, DePollar SL, Austin H: Determination of serum creatinine prior to iodinated contrast media: is it necessary in all patients? *Techniques in Urology* 4: 65-69 (1998)
- [14] Cigarroa RG, Lange RA, Williams RH, Hillis LD: Dosing of contrast material to prevent contrast nephropathy in patients with renal disease. *American Journal of Medicine* 86: 649-652 (1989)
- [15] Coll E, Botey A, Alvarez L, Poch E, Quinto L, Saurina A, Vera M, Piera C, Darnell A: Serum cystatin C as a new marker for noninvasive estimation of glomerular filtration rate and as a marker for early renal impairment. *American Journal of Kidney Diseases* 36: 29-34 (2000)
- [16] Coresh J, Stevens LA: Kidney function estimating equations: where do we stand? *Current Opinion in Nephrology & Hypertension* 15: 276-284 (2006)
- [17] Cowland JB, Borregaard N: Molecular characterization and pattern of tissue expression of the gene for neutrophil gelatinase-associated lipocalin from humans. *Genomics* 45: 17-23 (1997)
- [18] Cox CD, Tsikouris JP: Preventing contrast nephropathy: what is the best strategy? A review of the literature. *Journal of Clinical Pharmacology* 44: 327-337 (2004)
- [19] Davidson C, Stacul F, McCullough PA, Tumlin J, Adam A, Lameire N, Becker CR, CIN Consensus Working Panel: Contrast medium use. *American Journal of Cardiology* 98: 42-58 (2006)
- [20] Devarajan P: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a promising biomarker for human acute kidney injury. *Biomarkers in Medicine* 4: 265-280 (2010)
- [21] Devarajan P: Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury. *Journal of the American Society of Nephrology* 17: 1503-1520 (2006)
- [22] Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G: Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 40: 221-226 (2002)
- [23] Dodge WF, Travis LB, Daeschner CW: Comparison of endogenous creatinine clearance with inulin clearance. *American Journal of Diseases of Children* 113: 683-692 (1967)

- [24] Doolan PD, Alpen EI, Theil GB: A clinical appraisal of the plasma concentration and endogenous clearance of creatinine. *American Journal of Medicine* 32: 65-79 (1962)
- [25] Dubovsky EV, Russell CD: Quantitation of renal function with glomerular and tubular agents. *Seminars in Nuclear Medicine* 12: 308-329 (1982)
- [26] Duncan L, Heathcote J, Djurdjev O, Levin A: Screening for renal disease using serum creatinine: who are we missing? *Nephrology Dialysis Transplantation* 16: 1042-1046 (2001)
- [27] Filler G, Bokenkamp A, Hofmann W, Le Bricon T, Martinez-Bru C, Grubb A: Cystatin C as a marker of GFR--history, indications, and future research. *Clinical Biochemistry* 38: 1-8 (2005)
- [28] Flo TH, Smith KD, Sato S, Rodriguez DJ, Holmes MA, Strong RK, Akira S, Aderem A: Lipocalin 2 mediates an innate immune response to bacterial infection by sequestering iron. *Nature* 432: 917-921 (2004)
- [29] Flower DR: The lipocalin protein family: structure and function. *Biochemical Journal* 318: 1-14 (1996)
- [30] Fricker M, Wiesli P, Brandle M, Schwegler B, Schmid C: Impact of thyroid dysfunction on serum cystatin C. *Kidney International* 63: 1944-1947 (2003)
- [31] Goldenberg I, Matetzky S: Nephropathy induced by contrast media: pathogenesis, risk factors and preventive strategies. *Canadian Medical Association Journal* 172: 1461-1471 (2005)
- [32] Gressner A, Arndt T: Kreatinin. In: Gressner A, Arndt T (Hrsg) *Lexikon Der Medizinischen Laboratoriumsdiagnostik*, Bd 1, Springer, Berlin Heidelberg, S. 735-736 (2006)
- [33] Grubb A: Diagnostic value of analysis of cystatin C and protein HC in biological fluids. *Clinical Nephrology* 38: 7-20 (1992)
- [34] Haase M, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Devarajan P, Story D, Matalanis G, Reade MC, Bagshaw SM, Seevanayagam N, Seevanayagam S, Doolan L, Buxton B, Dragun D: Sodium bicarbonate to prevent increases in serum creatinine after cardiac surgery: a pilot double-blind, randomized controlled trial. *Critical Care Medicine* 37: 39-47 (2009)
- [35] Haase M, Bellomo R, Devarajan P, Schlattmann P, Haase-Fielitz A: NGAL Meta-analysis Investigator: Accuracy of neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) in diagnosis and prognosis in acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *American Journal of Kidney Diseases* 54: 1012-1024 (2009)
- [36] Haase M, Devarajan P, Haase-Fielitz A, Bellomo R, Cruz DN, Wagener G, Krawczeski CD, Koyner JL, Murray P, Zappitelli M, Goldstein SL, Makris K, Ronco C, Martensson J, Martling CR, Venge P, Siew E, Ware LB, Ikizler IA, Mertens PR: The outcome of neutrophil gelatinase-associated lipocalin-positive subclinical

acute kidney injury: a multicenter pooled analysis of prospective studies. *Journal of the American College of Cardiology* 57: 1752-1761 (2011)

[37] Hemdahl AL, Gabrielsen A, Zhu C, Eriksson P, Hedin U, Kastrup J, Thoren P, Hansson GK: Expression of neutrophil gelatinase-associated lipocalin in atherosclerosis and myocardial infarction. *Arteriosclerosis, Thrombosis & Vascular Biology* 26: 136-142 (2006)

[38] Herget-Rosenthal S, Marggraf G, Husing J, Goring F, Pietruck F, Janssen O, Philipp T, Kribben A: Early detection of acute renal failure by serum cystatin C. *Kidney International* 66: 1115-1122 (2004)

[39] Heymsfield SB, McManus C, Smith J, Stevens V, Nixon DW: Anthropometric measurement of muscle mass: revised equations for calculating bone-free arm muscle area. *American Journal of Clinical Nutrition* 36: 680-690 (1982)

[40] Hirsch R, Dent C, Pfriem H, Allen J, Beekman 3<sup>rd</sup> RH, Ma Q, Dastrala S, Bennett M, Mitsnefes M, Devarajan P: NGAL is an early predictive biomarker of contrast-induced nephropathy in children. *Pediatric Nephrology* 22: 2089-2095 (2007)

[41] Hoste EA, Clermont G, Kersten A, Venkataraman R, Angus DC, De Bacquer D, Kellum JA: RIFLE criteria for acute kidney injury are associated with hospital mortality in critically ill patients: a cohort analysis. *Critical Care* 10: 73 (2006)

[42] Hou SH, Bushinsky DA, Wish JB, Cohen JJ, Harrington JT: Hospital-acquired renal insufficiency: a prospective study. *American Journal of Medicine* 74: 243-248 (1983)

[43] Katholi RE, Taylor GJ, Woods WT, Womack KA, Katholi CR, McCann WP, Moses HW, Dove JT, Mikell FL, Woodruff RC: Nephrotoxicity of nonionic low-osmolality versus ionic high-osmolality contrast media: a prospective double-blind randomized comparison in human beings. *Radiology* 186: 183-187 (1993)

[44] Kellum JA, Bellomo R, Ronco C: Acute Dialysis Quality Initiative (ADQI): methodology. *International Journal of Artificial Organs* 31: 90-93 (2008)

[45] Kellum JA, Levin N, Bouman C, Lameire N: Developing a consensus classification system for acute renal failure. *Current Opinion in Critical Care* 8: 509-514 (2002)

[46] Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Acute Kidney Injury Work Group: KDIGO Clinical Practice Guideline for Acute Kidney Injury. *Kidney International Supplements* 2: 1-138 (2012)

[47] Kimmel M, Butscheid M, Brenner S, Kuhlmann U, Klotz U, Alscher DM: Improved estimation of glomerular filtration rate by serum cystatin C in preventing contrast induced nephropathy by N-acetylcysteine or zinc--preliminary results. *Nephrology Dialysis Transplantation* 23: 1241-1245 (2008)

- [48] Kjeldsen L, Johnsen AH, Sengelov H, Borregaard N: Isolation and primary structure of NGAL, a novel protein associated with human neutrophil gelatinase. *Journal of Biological Chemistry* 268: 10425-10432 (1993)
- [49] Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE: Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney International* 65: 1416-1421 (2004)
- [50] Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R: The rise of prevalence and the fall of mortality of patients with acute renal failure: what the analysis of two databases does and does not tell us. *Journal of the American Society of Nephrology* 17: 923-925 (2006)
- [51] Lameire N, Van Biesen W, Vanholder R: Acute renal failure. *Lancet* 365: 417-430 (2005)
- [52] Lasser EC, Lyon SG, Berry CC: Reports on contrast media reactions: analysis of data from reports to the U.S. Food and Drug Administration. *Radiology* 203: 605-610 (1997)
- [53] Le Bricon T, Thervet E, Froissart M, Benlakehal M, Bousquet B, Legendre C, Erlich D: Plasma cystatin C is superior to 24-h creatinine clearance and plasma creatinine for estimation of glomerular filtration rate 3 months after kidney transplantation. *Clinical Chemistry* 46: 1206-1207 (2000)
- [54] Levey AS, Coresh J, Greene T, Stevens LA, Zhang YL, Hendriksen S, Kusek JW, Van Lente F, Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration: Using standardized serum creatinine values in the modification of diet in renal disease study equation for estimating glomerular filtration rate. *Annals of Internal Medicine* 145: 247-254 (2006)
- [55] Levey AS, Perrone RD, Madias NE: Serum creatinine and renal function. *Annual Review of Medicine* 39: 465-490 (1988)
- [56] Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF 3rd, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J, CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration): A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Annals of Internal Medicine* 150: 604-612 (2009)
- [57] Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D: A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Annals of Internal Medicine* 130: 461-470 (1999)
- [58] Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI: The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *Journal of the American Medical Association* 275: 1489-1494 (1996)
- [59] Liu Q, Nilsen-Hamilton M: Identification of a new acute phase protein. *Journal of Biological Chemistry* 270: 22565-22570 (1995)

- [60] Lundqvist S, Holmberg G, Jakobsson G, Lithner F, Skinningsrud K, Stegmayr B, Hietala SO: Assessment of possible nephrotoxicity from iohexol in patients with normal and impaired renal function. *Acta Radiologica* 39: 362-367 (1998)
- [61] Malyszko J, Malyszko JS, Koc-Zorawska E, Kozminski P, Mysliwiec M: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in dialyzed patients is related to residual renal function, type of renal replacement therapy and inflammation. *Kidney and Blood Pressure Research* 32: 464-469 (2009)
- [62] Manetti L, Pardini E, Genovesi M, Campomori A, Grasso L, Morselli LL, Lupi I, Pellegrini G, Bartalena L, Bogazzi F, Martino E: Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *Journal of Endocrinological Investigation* 28: 346-349 (2005)
- [63] Manske CL, Sprafka JM, Strony JT, Wang Y: Contrast nephropathy in azotemic diabetic patients undergoing coronary angiography. *American Journal of Medicine* 89: 615-620 (1990)
- [64] McCullough PA, Adam A, Becker CR, Davidson C, Lameire N, Stacul F, Tumlin J, CIN Consensus Working Panel: Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. *American Journal of Cardiology* 98: 5-13 (2006)
- [65] McCullough PA, Sandberg KR: Epidemiology of contrast-induced nephropathy. *Reviews in Cardiovascular Medicine* 4: 3-9 (2003)
- [66] McCullough PA, Wolyn R, Rocher LL, Levin RN, O'Neill WW: Acute renal failure after coronary intervention: incidence, risk factors, and relationship to mortality. *American Journal of Medicine* 103: 368-375 (1997)
- [67] McCullough PA: Beyond serum creatinine: defining the patient with renal insufficiency and why? *Reviews in Cardiovascular Medicine* 4: 2-6 (2003)
- [68] Mehran R, Aymong ED, Nikolsky E, Lasic Z, Iakovou I, Fahy M, Mintz GS, Lansky AJ, Moses JW, Stone GW, Leon MB, Dangas G: A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *Journal of the American College of Cardiology* 44: 1393-1399 (2004)
- [69] Mehran R, Nikolsky E: Contrast-induced nephropathy: definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney International Supplements* 100: 5-11 (2006)
- [70] Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, Levin A, N. Acute Kidney Injury: Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Critical Care* 11: 31 (2007)
- [71] Mishra J, Dent C, Tarabishi R, Mitsnefes MM, Ma Q, Kelly C, Ruff SM, Zahedi K, Shao M, Bean J, Mori K, Barasch J, Devarajan P: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin (NGAL) as a biomarker for acute renal injury after cardiac surgery. *Lancet* 365: 1231-1238 (2005)

[72] Mishra J, Ma Q, Prada A, Mitsnefes M, Zahedi K, Yang J, Barasch J, Devarajan P: Identification of neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a novel early urinary biomarker for ischemic renal injury. *Journal of the American Society of Nephrology* 14: 2534-2543 (2003)

[73] Mishra J, Mori K, Ma Q, Kelly C, Yang J, Mitsnefes M, Barasch J, Devarajan P: Amelioration of ischemic acute renal injury by neutrophil gelatinase-associated lipocalin. *Journal of the American Society of Nephrology* 15: 3073-3082 (2004)

[74] Moran SM, Myers BD: Course of acute renal failure studied by a model of creatinine kinetics. *Kidney International* 27: 928-937 (1985)

[75] Morcos SK, Thomsen HS, European Society of Urogenital Radiology: European Society of Urogenital Radiology guidelines on administering contrast media. *Abdominal Imaging* 28: 187-190 (2003)

[76] Morcos SK, Thomsen HS, Webb JA: Contrast-media-induced nephrotoxicity: a consensus report. Contrast Media Safety Committee, European Society of Urogenital Radiology (ESUR). *European Radiology* 9: 1602-1613 (1999)

[77] Mori K, Lee HT, Rapoport D, Drexler IR, Foster K, Yang J, Schmidt-Ott KM, Chen X, Li JY, Weiss S, Mishra J, Cheema FH, Markowitz G, Suganami T, Sawai K, Mukoyama M, Kunis C, D'Agati V, Devarajan P, Barasch J: Endocytic delivery of lipocalin-siderophore-iron complex rescues the kidney from ischemia-reperfusion injury. *Journal of Clinical Investigation* 115: 610-621 (2005)

[78] Mussap M, Plebani M: Biochemistry and clinical role of human cystatin C. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences* 41: 467-550 (2004)

[79] Nash K, Hafeez A, Hou S: Hospital-acquired renal insufficiency. *American Journal of Kidney Diseases* 39: 930-936 (2002)

[80] F. National Kidney: K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *American Journal of Kidney Diseases* 39: 1-266 (2002)

[81] Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP: Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney International* 47: 312-318 (1995)

[82] Niccoli G, Conte M, Della Bona R, Altamura L, Siviglia M, Dato I, Ferrante G, Leone AM, Porto I, Burzotta F, Brugaletta S, Biasucci LM, Crea F: Cystatin C is associated with an increased coronary atherosclerotic burden and a stable plaque phenotype in patients with ischemic heart disease and normal glomerular filtration rate. *Atherosclerosis* 198: 373-380 (2008)

[83] Nyman U, Almen T, Aspelin P, Hellstrom M, Kristiansson M, Sterner G: Contrast-medium-Induced nephropathy correlated to the ratio between dose in gram iodine and estimated GFR in ml/min. *Acta Radiologica* 46: 830-842 (2005)

- [84] Perrone RD, Madias NE, Levey AS: Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clinical Chemistry* 38: 1933-1953 (1992)
- [85] Poniatowski B, Malyszko J, Bachorzewska-Gajewska H, Malyszko JS, Dobrzycki S: Serum neutrophil gelatinase-associated lipocalin as a marker of renal function in patients with chronic heart failure and coronary artery disease. *Kidney and Blood Pressure Research* 32: 77-80 (2009)
- [86] Randers E, Erlandsen EJ: Serum cystatin C as an endogenous marker of the renal function--a review. *Clinical Chemistry & Laboratory Medicine* 37: 389-395 (1999)
- [87] Ribichini F, Gambaro G, Graziani MS, Pighi M, Pesarini G, Pasoli P, Anselmi M, Ferrero V, Yabarek T, Sorio A, Rizzotti P, Lupo A, Vassanelli C: Comparison of serum creatinine and cystatin C for early diagnosis of contrast-induced nephropathy after coronary angiography and interventions. *Clinical Chemistry* 58: 458-464 (2012)
- [88] Ribichini F, Graziani M, Gambaro G, Pasoli P, Pighi M, Pesarini G, Abaterusso C, Yabarek T, Brunelleschi S, Rizzotti P, Lupo A, Vassanelli C: Early creatinine shifts predict contrast-induced nephropathy and persistent renal damage after angiography. *American Journal of Medicine* 123: 755-763 (2010)
- [89] Ribichini F, Pesarini G, Gambaro G: Letter by Ribichini et al regarding article, Cystatin C and contrast-induced acute kidney injury. *Circulation* 123: 225-226 (2011)
- [90] Rich MW, Crecelius CA: Incidence, risk factors, and clinical course of acute renal insufficiency after cardiac catheterization in patients 70 years of age or older. A prospective study. *Archives of Internal Medicine* 150: 1237-1242 (1990)
- [91] Rickli H, Benou K, Ammann P, Fehr T, Brunner-La Rocca HP, Petridis H, Riesen W, Wuthrich RP: Time course of serial cystatin C levels in comparison with serum creatinine after application of radiocontrast media. *Clinical Nephrology* 61: 98-102 (2004)
- [92] Rihal CS, Textor SC, Grill DE, Berger PB, Ting HH, Best PJ, Singh M, Bell MR, Barsness GW, Mathew V, Garratt KN, Holmes DR Jr: Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation* 105: 2259-2264 (2002)
- [93] Risch L, Herklotz R, Blumberg A, Huber AR: Effects of glucocorticoid immunosuppression on serum cystatin C concentrations in renal transplant patients. *Clinical Chemistry*. 47: 2055-2059 (2001)
- [94] Roche Diagnostics Mannheim (Hrsg.): CREP2: Creatinine plus ver.2 (cobas c System). 1-5 (2012)
- [95] Roche Diagnostics Mannheim (Hrsg.): CYSC: Tina-quant Cystatin C (cobas c System). 1-3 (2010)

- [96] Rudnick MR, Berns JS, Cohen RM, Goldfarb S: Contrast media-associated nephrotoxicity. *Seminars in Nephrology* 17: 15-26 (1997)
- [97] Rudnick MR, Goldfarb S, Wexler L, Ludbrook PA, Murphy MJ, Halpern EF, Hill JA, Winniford M, Cohen MB, VanFossen DB: Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media in 1196 patients: a randomized trial. The Iohexol Cooperative Study. *Kidney International* 47: 254-261 (1995)
- [98] Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG: Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Annals of Internal Medicine* 141: 929-937 (2004)
- [99] Schloerb PR: Total body water distribution of creatinine and urea in nephrectomized dogs. *American Journal of Physiology* 199: 661-665 (1960)
- [100] Schrier RW: Need to intervene in established acute renal failure. *Journal of the American Society of Nephrology* 15: 2756-2758 (2004)
- [101] Shaker OG, El-Shehaby A, El-Khatib M: Early diagnostic markers for contrast nephropathy in patients undergoing coronary angiography. *Angiology* 61: 731-736 (2010)
- [102] Shemesh O, Golbetz H, Kriss JP, Myers BD: Limitations of creatinine as a filtration marker in glomerulopathic patients. *Kidney International* 28: 830-838 (1985)
- [103] Sherwin PF, Cambron R, Johnson JA, Pierro JA: Contrast dose-to-creatinine clearance ratio as a potential indicator of risk for radiocontrast-induced nephropathy: correlation of D/CrCL with area under the contrast concentration-time curve using iodixanol. *Investigative Radiology* 40: 598-603 (2005)
- [104] Sjostrom P, Tidman M, Jones I: The shorter T<sub>1/2</sub> of cystatin C explains the earlier change of its serum level compared to serum creatinine. *Clinical Nephrology* 62: 241-242 (2004)
- [105] Solomon R, Barrett B: Follow-up of patients with contrast-induced nephropathy. *Kidney International Supplements* 100: 46-50 (2006)
- [106] Solomon R: Contrast-medium-induced acute renal failure. *Kidney International* 53: 230-242 (1998)
- [107] Stevens LA, Levey AS: Measurement of kidney function. *Medical Clinics of North America* 89: 457-473 (2005)
- [108] Tenstad O, Roald AB, Grubb A, Aukland K: Renal handling of radiolabelled human cystatin C in the rat. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 56: 409-414 (1996)
- [109] Tepel M, Aspelin P, Lameire N: Contrast-induced nephropathy: a clinical and evidence-based approach. *Circulation* 113: 1799-1806 (2006)

[110] Tomlinson BE, Walton JN, Rebeiz JJ: The effects of ageing and of cachexia upon skeletal muscle. A histopathological study. *Journal of the Neurological Sciences* 9: 321-346 (1969)

[111] Toms AP, Cash CJ, Linton SJ, Dixon AK: Requests for body computed tomography: increasing workload, increasing indications and increasing age. *European Radiology* 11: 2633-2637 (2001)

[112] Tong Z, Kunnumakkara AB, Wang H, Matsuo Y, Diagaradjane P, Harikumar KB, Ramachandran V, Sung B, Chakraborty A, Bresalier RS, Logsdon C, Aggarwal BB, Krishnan S, Guha S: Neutrophil gelatinase-associated lipocalin: a novel suppressor of invasion and angiogenesis in pancreatic cancer. *Cancer Research* 68: 6100-6108 (2008)

[113] Toprak O: What is the best definition of contrast-induced nephropathy? *Renal Failure* 29: 387-388 (2007)

[114] Uchino S, Bellomo R, Goldsmith D, Bates S, Ronco C: An assessment of the RIFLE criteria for acute renal failure in hospitalized patients. *Critical Care Medicine* 34: 1913-1917 (2006)

[115] Vinge E, Lindergard B, Nilsson-Ehle P, Grubb A: Relationships among serum cystatin C, serum creatinine, lean tissue mass and glomerular filtration rate in healthy adults. *Scandinavian Journal of Clinical & Laboratory Investigation* 59: 587-592 (1999)

[116] Wagener G, Jan M, Kim M, Mori K, Barasch JM, Sladen RM, Lee HT: Association between increases in urinary neutrophil gelatinase-associated lipocalin and acute renal dysfunction after adult cardiac surgery. *Anesthesiology* 105: 485-491 (2006)

[117] Waikar SS, Curhan GC, Wald R, McCarthy EP, Chertow GM: Declining mortality in patients with acute renal failure, 1988 to 2002. *Journal of the American Society of Nephrology* 17: 1143-1150 (2006)

[118] Wang HE, Muntner P, Chertow GM, Warnock DG: Acute kidney injury and mortality in hospitalized patients. *American Journal of Nephrology* 35: 349-355 (2012)

[119] Xu S, Venge P: Lipocalins as biochemical markers of disease. *Biochimica et Biophysica Acta* 1482: 298-307 (2000)

[120] Xue JL, Daniels F, Star RA, Kimmel PL, Eggers PW, Molitoris BA, Himmelfarb J, Collins AJ: Incidence and mortality of acute renal failure in Medicare beneficiaries, 1992 to 2001. *Journal of the American Society of Nephrology* 17: 1135-1142 (2006)

# Anhang

## Abbildungsverzeichnis

<i>Abbildung 1</i>	Angiografie und Intervention bei Beckenachsenstenose .....	4
<i>Abbildung 2</i>	Prä- und Postinterventioneller Verlauf von Kreatinin im Serum .....	28
<i>Abbildung 3</i>	Prä- und Postinterventioneller Verlauf von Cystatin-C im Serum ...	28
<i>Abbildung 4</i>	Prä- und Postinterventioneller Verlauf der GFR nach MDRD2 .....	29
<i>Abbildung 5</i>	Prä- und Postinterventioneller Verlauf von NGAL im Urin .....	29

## Tabellenverzeichnis

<i>Tabelle 1</i>	RIFLE- und AKIN-Kriterien .....	2
<i>Tabelle 2</i>	Überblick Labordiagnostik .....	17
<i>Tabelle 3</i>	Datensätze der Parameter am jeweiligen Messzeitpunkt .....	18
<i>Tabelle 4</i>	Beschreibung der Studienpopulation .....	24
<i>Tabelle 5</i>	Biomarker und ihre Normbereiche .....	25
<i>Tabelle 6</i>	Statistische Signifikanz Kreatinin gegenüber Cystatin-C .....	25
<i>Tabelle 7</i>	Statistische Signifikanz GFR nach MDRD2 gegenüber Cystatin-C ....	25
<i>Tabelle 8</i>	Akute Nierenschädigung postinterventionell .....	26
<i>Tabelle 9</i>	Kontrastmittel-induzierte Nephropathie postinterventionell .....	27

## **Fragebögen und Studienprotokolle**

Seite wurde aus urheberrechtlichen Gründen entfernt.

# Danksagung

Eine wissenschaftliche Arbeit ist nie das Werk einer einzelnen Person. Deshalb ist es mir an dieser Stelle ein besonderes Anliegen, mich bei all den Menschen zu bedanken, die zum Gelingen der vorliegenden Dissertation beigetragen haben.

Herrn Prof. Dr. med. Karl-Heinz Orend danke ich für die Möglichkeit, die Arbeit an der Universitätsklinik Ulm in der Abteilung für Gefäßchirurgie durchgeführt haben zu dürfen.

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Bernd Mühling für die Bereitstellung des Dissertationsthemas und die sehr freundliche und wertvolle Zusammenarbeit vom ersten Gespräch über die klinische Studienphase bis hin zum Ausarbeiten und Vollenden der schriftlichen Fassung. Weiterhin möchte ich mich für seine große Geduld sowie seine zahlreichen Anregungen und Verbesserungsvorschläge bedanken.

Auch der Klinik für diagnostische und interventionelle Radiologie, dem Institut für klinische Chemie und dem Diagnostikzentrum Ulm in Person von PD Dr.med. Milorad Susa gebührt mein Dank. Ohne Ihre tatkräftige Mithilfe wäre die Erhebung der Daten nicht möglich gewesen.

Danken möchte ich auch den engagierten Mitarbeitern der Gefäßchirurgischen Stationen für ihr Engagement beim Rekrutieren der Patienten wie auch beim Gewinnen und Versorgen der unzähligen Blut- und Urinproben.

Des Weiteren danke ich allen Patienten, die durch ihre freiwillige Teilnahme die Studie erst ermöglicht haben.

Für die Unterstützung bei der statistischen Datenauswertung möchte ich mich bei Herrn Prof. Dr. Rainer Mücke vom Institut für Epidemiologie und Medizinische Biometrie bedanken.

Ebenso geht mein Dank an Hannah und Emanuel für die gute Zusammenarbeit im Besonderen während der klinischen Studienphase. Alleine wäre es nicht möglich gewesen, studienbegleitend fast täglich in der Klinik vorbeizuschauen um Patienten zu rekrutieren und die gesammelten Proben zu versorgen.

Abschließend möchte ich mich von Herzen bei meiner Familie und meiner Freundin für Ihre große Unterstützung während meines Studiums und auch darüber hinaus bedanken. Ohne ihre Geduld, Motivation und liebevolle Fürsorge wäre diese Arbeit nicht zu dem Werk geworden, das sie heute ist.

## **Lebenslauf**

Der Lebenslauf wurde aus Gründen des Datenschutzes entfernt.