

Aus dem Institut für Veterinärphysiologie

des Fachbereichs Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

**Tierexperimentelle Untersuchungen zur Pathophysiologie und zu Präventionsstrategien  
von durch Röntgenkontrastmittel induzierten, akuten Nierenschäden bei Ratten**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Grades eines

Doktors der Veterinärmedizin

an der

Freien Universität Berlin

vorgelegt von

**Mechthild Ladwig**, geb. Wiegard

Tierärztin aus Herten

Berlin 2015

Journal-Nr.: 3835

Gedruckt mit Genehmigung des Fachbereichs Veterinärmedizin

der Freien Universität Berlin

**Dekan:** Univ.-Prof. Dr. med. vet. Jürgen Zentek

**Erster Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. med. vet. Jörg R. Aschenbach

**Zweiter Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. med. Holger Scholz

**Dritter Gutachter:** Univ.-Prof. Dr. med. vet. Christa Thöne-Reineke

**Deskriptoren (nach CAB-Thesaurus):**

Rats, animal models, renal function, contrast media, glomerular filtration rate, viscosity, hydration, kidney diseases, creatinine, clearance, urine, urination, urine analysis, acute kidney injury (MeSH)

**Tag der Promotion:** 03.11.2015

**Meiner Familie gewidmet**

*Live as if you were to die tomorrow.*

*Learn as if you were to live forever.*

(Mahatma Gandhi)



	<u>Seite</u>
Liste der Abkürzungen	III
1. Einleitung	1
1.1 Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigung	1
1.2 Kontrastmittelklassen	3
1.2.1 Hochosmolare Kontrastmittel	4
1.2.2 Niedrigosmolare Kontrastmittel	4
1.2.3 Isoosmolare Kontrastmittel	5
1.3 Diagnose der Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung	5
1.4 Bedeutung des Hydrierungszustandes für die Entstehung von CIAKI	7
1.4.1 Schädliche Auswirkung hoher Viskosität von Kontrastmitteln	8
1.4.2 Hilfreiche Auswirkung mäßig erhöhter Osmolalität von Kontrastmitteln	9
1.5 Hydrierung als Präventionsmaßnahme	10
1.5.1 Infusion mit NaCl-Lösung	10
1.5.2 Infusion mit Natriumbikarbonat-Lösung	10
1.5.3 Infusion von nicht hypertoner Glukose-Mannitol-Lösung	11
1.6 Allgemeine Methodenbeschreibung	11
2. Eigene Forschungsergebnisse in wissenschaftlichen Zeitschriften	13
2.1 “Up to 50-fold Increase in Urine Viscosity with Iso-osmolar Contrast Media in Rats” Seeliger, E., K. Becker, M. Ladwig, T. Wronski, P. B. Persson, and B. Flemming 2010; Radiology. 256(2):406-414	13
2.2 “Renal Effects of Bicarbonate <i>versus</i> Saline Infusion for Iso- and Lowosmolar Contrast Media in Rat” Ladwig, M., B. Flemming, E. Seeliger, L. Sargsyan, and P. B. Persson 2011; Invest Radiol. 46(11):672-677	23

	<u>Seite</u>
2.3 “Proof of Principle: Hydration by Low-Osmolar Mannitol-Glucose Solution Alleviates Undesirable Renal Effects of an Iso-Osmolar Contrast Medium in Rats” Seeliger, E., M. Ladwig, L. Sargsyan, K. Cantow, P. B. Persson, and B. Flemming 2012; Invest Radiol. 47(4):240-246	30
2.4 “Comparison of the Effects of Iodixanol and Iopamidol on Urine Flow, Urine Viscosity, and Glomerular Filtration in Rats” Ladwig, M., K. Cantow, B. Flemming, P. Persson, and E. Seeliger 2015; J Urol Nephrol 2(1):7	38
3. Übergreifende Diskussion	46
3.1 Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigung	46
3.2 Die Viskosität von Kontrastmitteln ist ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung von akuter Nierenschädigung	47
3.3 Mäßig erhöhte Osmolalität von Kontrastmitteln verhindert starken Anstieg der Urinviskosität	49
3.4 Zytotoxische Effekte von Kontrastmitteln führen zu medullärer Vaskonstriktion	50
3.5 Strategien zur Verhinderung einer Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung	55
3.5.1 Volumenexpansion	55
3.5.1.1 Volumenexpansion mit NaCl-Lösung	55
3.5.1.2 Volumenexpansion mit Natriumbikarbonat-Lösung	57
3.5.2 Osmotische Diurese kombiniert mit gleichzeitiger Volumenexpansion	58
3.6 Übertragbarkeit der Studienergebnisse auf den Menschen	60
3.7 Schlussfolgerungen	61
4. Zusammenfassung	63
5. Summary	65
6. Literaturverzeichnis	67
7. Liste eigener wissenschaftlicher Veröffentlichungen	84
8. Danksagung	87
9. Selbständigkeitserklärung	88

## Liste der Abkürzungen

---

AKI	acute kidney injury (akute Nierenschädigung)
BOLD-MRI	blood oxygenation level-dependent magnetic resonance imaging (Blutoxygenierungs-abhängige Magnetresonanz-Bildgebung)
CIAKI	contrast medium induced acute kidney injury (Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigung)
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HOCM	high osmolar contrast medium (hochosmolares Kontrastmedium)
IOCM	isoosmolar contrast medium (isoosmolares Kontrastmedium)
KM	Kontrastmedium
LOCM	low osmolar contrast medium (niedrigosmolares Kontrastmedium)
NIRS	Nahinfrarot-Spektroskopie
pO <sub>2</sub>	Sauerstoffpartialdruck
ROS	reactive oxygen species (reaktive Sauerstoff Spezies)
SCrea	Serum-Kreatinin-Konzentration





Röntgenkontrastmittel dienen der differenzierten Darstellung von Geweben und Strukturen des Körpers. Hierfür eignen sich Stoffe, die sich in ihrer Röntgendichte vom umgebenden Gewebe unterscheiden. Zur Darstellung von Blutgefäßen und Organen werden iodhaltige, wasserlösliche Kontrastmittel (KM) verwendet, die über ein höheres Absorptionsvermögen für Röntgenstrahlen verfügen als organisches Gewebe und die vom Körper hauptsächlich über die Niere wieder ausgeschieden werden. Die technischen Möglichkeiten bildgebender Verfahren wurden in den letzten Jahren stetig weiterentwickelt. Dadurch erweitern sich die Möglichkeiten ihrer Anwendung und auch die Anzahl der durchgeführten Untersuchungen (Faulkner and Werduch, 2008). Anwendungstechniken, wie z.B. die Computertomographie und die Röntgenüberwachung bei perkutanen kardialen Interventionen finden in steigendem Ausmaß Anwendung und werden z.T. unter Zuhilfenahme von KM durchgeführt, die entweder über einen venösen oder arteriellen Zugang verabreicht werden. Für die Verwendung von KM gelten strenge Anforderungen an die Verträglichkeit, zumal es sich bei der Bildgebung um einen diagnostischen und keinen therapeutischen Einsatz handelt. Bei der Beurteilung der Verträglichkeit werden unter anderem die lokale Verträglichkeit, die akute Toxizität und die systemische Verträglichkeit bei wiederholter Anwendung überprüft (Schöbel, 1993).

### **1.1 Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigung**

Heutige KM werden in der Regel gut vertragen. Dennoch können unerwünschte Nebenwirkungen auftreten. Dazu gehören vorübergehende Beeinträchtigungen des Wohlbefindens wie z.B. kurzzeitiges Wärmegefühl, Übelkeit oder allergieähnliche Symptome. Eine besonders gefürchtete Nebenwirkung sind akute Nierenschäden (acute kidney injury, AKI), die entweder vorübergehend auftreten oder aber auch längerfristig bestehen bleiben können. Kontrastmittel-induzierte Nierenschäden (contrast media induced acute kidney injury, CIAKI, Synonym: Kontrastmittel-Nephropathie) gehören zu den häufigsten Ursachen für Nierenversagen (Nash et al., 2002) und damit verbundenen Krankenhausaufenthalten (Waybill and Waybill, 2001). In der Humanmedizin wird gemäß aktueller Leitlinien in der klinischen Praxis die Diagnose CIAKI gestellt, wenn die Serum-Kreatinin-Konzentration (SCrea), ein Surrogatmarker für die glomeruläre Filtrationsrate (GFR), absolut um 44 bzw. 88 µmol/L oder prozentual um 25 bzw. 50% innerhalb von 48 bzw. 72 Stunden nach KM-Gabe ansteigt und keine andere Ursache für den SCrea-Anstieg erkennbar ist (Stacul et al., 2011; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015).

Angaben zur Inzidenz der CIAKI variieren von unter 2% (Nikolsky and Mehran, 2003) bei nierengesunden Patienten bis zu über 30% bei Patienten mit erhöhten prädisponierenden Risikofaktoren (Rihal et al., 2002; Mehran et al., 2004). Neben der unterschiedlichen Zusammensetzung der untersuchten Patientenkollektive beruht diese breite Spanne auch auf

uneinheitlichen Diagnosekriterien hinsichtlich des Ausmaßes und des Zeitgangs des Anstiegs von SCrea, die sich auch in den Leitlinien widerspiegelt (Solomon and Dauerman, 2010). Hinzu kommen noch Unterschiede in der Art und Menge des verwendeten KM sowie des Applikationsweges. Als Risikofaktoren für die Entstehung einer CIAKI gelten Vorschädigungen der Niere, Begleiterkrankungen wie Herz-Kreislaufkrankungen und Diabetes mellitus sowie die Einnahme nephrotoxischer Medikamente und eine unzureichende Flüssigkeitsversorgung der Patienten vor und während KM-Gabe (Levy et al., 1996; Rihal et al., 2002; Mehran et al., 2004; Gruber, 2006; Reinecke et al., 2007; McCullough, 2008b; Solomon and Dauerman, 2010).

Die Konsequenzen einer solchen Nierenschädigung können zum Teil schwerwiegend sein: Patienten mit CIAKI erleiden in erhöhtem Maße Komplikationen während ihres Krankheitsverlaufes. Auch ein minderschwerer Verlauf einer CIAKI, der möglicherweise klinisch nur anhand einer transienten Erhöhung der SCrea-Werte diagnostiziert wird, prädisponiert für einen langfristigen Verlust der Nierenfunktion (Bagshaw and Culleton, 2006; Calvin et al., 2010; Solomon and Dauerman, 2010; James et al., 2013). Patienten-bezogene Risikofaktoren beeinflussen nicht nur das Auftreten und den Krankheitsverlauf negativ, sondern erhöhen auch die Mortalitätsrate. Studien haben gezeigt, dass Patienten, bei denen eine CIAKI diagnostiziert wurde, eine um das 2,7-fache gesteigerte Mortalität nach 5 Jahren aufwiesen im Vergleich zu Patienten ohne CIAKI (Levy et al., 1996; Rihal et al., 2002; Gruber, 2006; Reinecke et al., 2007; McCullough, 2008b; Solomon and Dauerman, 2010).

Auch wenn der prozentuale Anteil dieser schwerwiegenden Nebenwirkungen relativ gering ist, ist doch die absolute Anzahl der betroffenen Patienten bei der Vielzahl der durchgeführten Untersuchungen erheblich. Nach Angaben der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie wurden 2010 alleine 325.872 Herzkatheter-Untersuchungen mit Kontrastmittelapplikation in Deutschland durchgeführt (Deutsche Gesellschaft für Kardiologie, 2015). Die steigende Anzahl durchgeführter Untersuchungen und Interventionen an einem Patientenkollektiv, das zunehmend Risikopatienten umfasst, unterstreicht die Bedeutung des Problems in Bezug auf den Leidensweg der betroffenen Menschen und auch aus gesundheits-ökonomischer Sicht.

Auch in der Veterinärmedizin werden iodhaltige Kontrastmittel verwendet. Obwohl zahlreiche Fragestellungen zu CIAKI im Tiermodell an Schweinen, Hunden, Kaninchen und Ratten untersucht wurden (Ueda et al., 1998; Galtung et al., 2001; Lancelot et al., 2002; Seeliger et al., 2007; Haneder et al., 2012; Zhang et al., 2012; Ladwig et al., 2015), haben die Ergebnisse bisher keinen Widerhall in der veterinärmedizinischen Fachliteratur gefunden. Das mag zum einen daran liegen, dass Untersuchungen, welche die Applikation größerer KM-Mengen erfordern, wie perkutane kardiale Interventionen, am Tier kaum durchgeführt werden. Zum anderen fehlt es vermutlich auch an der Kenntnis dieser beim Menschen gefürchteten, schweren Nebenwirkung nach KM-Gabe, obwohl die schädigenden Mechanismen bei Mensch und Tier vergleichbar sind. Im Anschluss an

Röntgenuntersuchungen mit KM-Gabe wird bei Tieren in der Regel SCrea nicht überprüft. Ebenso werden bei nierenkranken Tieren KM-Gaben anamnestisch nicht routinemäßig erfasst, so dass diesbezüglich keine Daten verfügbar sind. Daher bleiben die Interpretation der in dieser Arbeit dargestellten Studienergebnisse und die Diskussion um ihre Übertragbarkeit zurzeit auf den Menschen beschränkt.

Die erwähnten präklinischen Studien konnten in den letzten Jahren zu einem recht umfassenden Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen, die einer CIAKI zugrunde liegen, beitragen (Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b). CIAKI entsteht demnach durch das Zusammenspiel folgender Faktoren: die zytotoxischen Eigenschaften der KM können Endothelzellen der Blutgefäße und Epithelzellen der Nierentubuli schädigen, was bis zum Zelltod führen kann. Die Zellschädigung ist u.a. mit einer veränderten Freisetzung para- und autokriner Faktoren verbunden, die zur Dysbalance von vasodilatatorischen und vasokonstriktorisches Mechanismen führt, die eine Reduzierung des Blutflusses in der Niere, speziell im Nierenmark zur Folge hat; letzteres ist besonders anfällig für hypoxische Schäden. Zu Minderdurchblutung und Hypoxie tragen maßgeblich auch die durch die KM verschlechterten Fließeigenschaften des Blutes in den intrarenalen Gefäßen einerseits und der Tubulusflüssigkeit in den Nierentubuli andererseits bei. Die Hypoxie verstärkt ihrerseits die Schädigung der Endothel- und Tubulusepithelzellen, so dass ein *Circulus vitiosus* entsteht (Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b). Die genannten Faktoren und möglicherweise noch weitere, bisher unbekannt, wirken in der Pathophysiologie der CIAKI zusammen, wobei die Bedeutung des einzelnen Schädigungsmechanismus in diesem Zusammenspiel von den individuellen Risikofaktoren der Patienten und von Art und Menge des verwendeten KM abhängt (Stacul et al., 2011; Seeliger et al., 2012b).

## 1.2 Kontrastmittelklassen

Alle verfügbaren wasserlöslichen, iodhaltigen Kontrastmittel enthalten als Kontrastgebende Komponente Benzen-Derivate, an die drei Iod-Atome stabil gebunden sind (Abb.1). Die einzelnen KM unterscheiden sich jedoch in der Anzahl der Benzen-Derivate (Monomere mit 3 Iodatomen, Dimere mit 6 Iodatomen, Abb. 2 u. 3) und der Art, Zusammensetzung und Länge ihrer Seitenketten (Abb. 2).

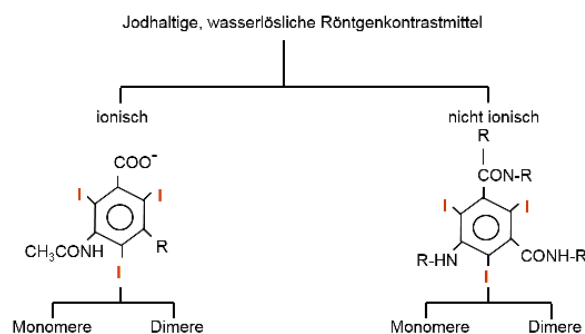


Abb. 1: Schematische Darstellung der Grundstruktur iodhaltiger Röntgenkontrastmittel

Bei intravasalen Applikationen werden üblicherweise KM-Lösungen mit Konzentrationen von 250-400 mg Iod/ml Lösung eingesetzt, um einen ausreichenden Röntgenkontrast zu erreichen (Stacul et al., 2011; Seeliger et al., 2012b). Die molare Konzentration bestimmt wesentlich zwei für die Pathophysiologie der CIAKI relevante physikochemische Eigenschaften der KM-Lösungen: die Osmolalität und die Viskosität. Die Art und Beschaffenheit der Seitenketten beeinflussen maßgeblich die Ionizität und die Hydrophilie, wobei die Ionizität wiederum die Osmolalität der Lösung mit beeinflusst. Aus historischen Gründen beruht die derzeit gebräuchliche Einteilung der KM-Klassen auf der unterschiedlichen Osmolalität.

### 1.2.1 Hochosmolare Kontrastmittel

Kontrastmittel der ersten Generation (Iothalamat, Diatrizoat etc.) enthalten ionische monomere Benzen-Derivate und erreichen Osmolalitäten von ~1000 – 2500 mosmol/kg, was ein Vielfaches der Osmolalität von Blutplasma (~290 mosmol/kg) darstellt. Daher werden diese Verbindungen als „hochosmolare“ KM (high osmolar contrast media - HOCM) bezeichnet. Die intravasale Anwendung von HOCM ist mit einem erheblichen Risiko für CIAKI verbunden, vor allem bei Risikopatienten (Pannu et al., 2006; Tumlin et al., 2006; Calvin et al., 2010).

### 1.2.2 Niedrigosmolare Kontrastmittel

In der Folge wurden KM mit niedrigerer Osmolalität entwickelt, die entweder ionische Dimere (Ioxaglat) oder nicht ionische Monomere (Iopromid, Iopamidol, Iohexol, Ioversol etc.) enthalten. Auf diese Weise konnte die Osmolalität der KM-Lösungen auf ~400-800 mosmol/kg gesenkt werden, was mit einer Verringerung des CIAKI-Risikos für die Patienten verbunden ist (Pannu et al., 2006; Tumlin et al., 2006; Calvin et al., 2010). Diese Verbindungen werden als „niedrigosmolare“ KM (low osmolar contrast media – LOCM) bezeichnet, obwohl ihre Osmolalität immer noch deutlich höher als die von Blutplasma ist.

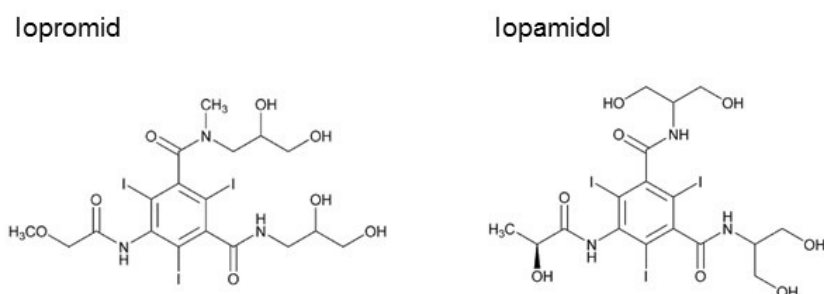


Abb. 2: Strukturformel der niedrigosmolaren Kontrastmittel Iopromid und Iopamidol

### 1.2.3 Isoosmolare Kontrastmittel

Mit der weiteren Entwicklung von nicht-ionischen Dimeren (Iodixanol, Iotrolan) wurde die Osmolalität der KM bis auf das Niveau von Plasma gesenkt, was zu der Bezeichnung „isoosmolare“ KM (isoosmolar contrast media – IOCM) führte. Tatsächlich liegt die Osmolalität der reinen IOCM-Lösung sogar unter der von Blutplasma und die Isoosmolalität der Gebrauchslösung wird durch die Zugabe von Elektrolyten erreicht (Jost et al., 2011; Seeliger et al., 2012b).

Der Preis für die niedrige Osmolalität der IOCM war ein erheblicher Anstieg in der Viskosität der KM-Lösungen. Alle Klassen von KM haben eine höhere Viskosität als Blutplasma, HOCM etwa um das 2,5-fache und IOCM sogar etwa um das 11-fache. Bei gleicher Iodkonzentration und somit gleicher Röntgenkontraststärke haben die Gebrauchslösungen dimerer IOCM eine etwa doppelt so hohe Viskosität wie monomere LOCM (Seeliger et al., 2012b).

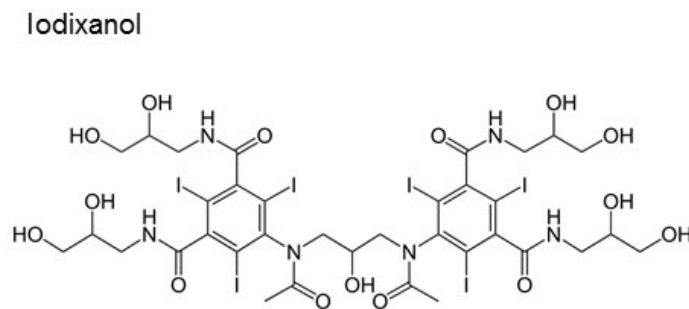


Abb. 3: Strukturformel des isoosmolaren Kontrastmittels Iodixanol

### 1.3 Diagnose der Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung

Bei der intravasalen Verabreichung werden KM mit dem Blutstrom verdünnt und im Körper verteilt. Die Ausscheidung erfolgt überwiegend über die Nieren. KM werden in den Glomeruli frei filtriert, aber in den Tubuli nicht rückresorbiert. Durch die tubuläre Resorption von Wasser kommt es zu einer Aufkonzentrierung von KM entlang der Tubuli. Die Osmolalität einer (KM-)Lösung steigt linear mit ihrer Konzentration, während die Viskosität exponentiell mit der Konzentration steigt (Speck, 1999).

Obwohl schon relativ früh vermutet wurde, dass die Viskosität von KM eine pathophysiologische Rolle bei der Entstehung von Nierenschäden spielt, lag das Hauptaugenmerk doch auf deren Osmolalität und Ionizität (Rudnick et al., 1995; Ueda et al., 1997; Lancelot et al., 2002; Davidson et al., 2006; Thomsen, 2007; Seeliger et al., 2010a). Erst in den letzten Jahren wurde die Bedeutung der Viskosität in der Pathophysiologie der CIAKI eingehender untersucht. So ergaben tierexperimentelle Untersuchungen, dass hohe Viskosität einer intravasal verabreichten Lösung maßgeblich zu einer Nierengewebshypoxie

und einem Anstieg von SCrea beitragen, und dass die an diesen Kennwerten sowie weiteren Biomarkern gemessene Nierenschädigung bei den hochviskösen IOCM wesentlich stärker ist als bei LOCM (Seeliger et al., 2007\*; Jost et al., 2008; Li et al., 2012; Seeliger et al., 2012b; Lenhard et al., 2013; Seeliger et al., 2014b).

Es mag daher erstaunlich erscheinen, dass Meta-Analysen von bis zu 36 prospektiven randomisiert kontrollierten klinischen Studien zusammenfassend zu dem Ergebnis kommen, dass es keinen signifikanten Unterschied in der Inzidenz von CIAKI nach LOCM und IOCM gibt (Heinrich et al., 2009; Reed et al., 2009; From et al., 2010). Neben der Heterogenität der in diese Meta-Analysen eingeschlossenen Studien gibt es zwei weitere Erklärungen: 1) die geringe Empfindlichkeit von SCrea, dem Endpunkt in der ganz überwiegenden Mehrheit der Studien, und 2) die Tatsache, dass nahezu alle prospektiven klinischen Studien zur CIAKI nach Protokollen mit reichlicher Prähydrierung der Patienten durchgeführt wurden (Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b).

Obwohl in den aktuellen klinischen Leitlinien die gravierenden Unzulänglichkeiten des Biomarkers SCrea für die Diagnose-Stellung diskutiert werden, bieten sie keine Alternative für die klinische CIAKI-Diagnostik an. Zwar sind zwischenzeitlich verschiedene alternative Biomarker vorgeschlagen worden, jedoch ist derzeit keiner davon empirisch genügend gesichert und im klinischen Routineeinsatz (Molitoris, 2015). Die CIAKI ist definiert als ein Abfall der GFR innerhalb von 2-3 Tagen nach der intravasalen Verabreichung von KM, soweit keine alternativen Ursachen vorliegen. Mithilfe von Clearance-Methoden ist die direkte Messung der GFR möglich. Da diese aber das zeitlich exakte Sammeln von Urin erfordert, werden sie in der klinischen Praxis und leider auch in klinischen Studien zu CIAKI sehr selten verwendet. Anstelle dessen wird der Surrogatmarker SCrea verwendet, der jedoch gravierende Nachteile mit sich bringt. Die SCrea wird durch das Zusammenspiel von Kreatininproduktion, GFR und der Kinetik der Kreatininverteilung in den Flüssigkeits-Kompartimenten des Körpers bestimmt. Es ist der exponentiellen Beziehung zwischen SCrea und GFR geschuldet, dass SCrea eine sehr geringe Sensitivität hat, besonders bei Patienten mit vorbestehend physiologisch niedriger GFR (Solomon and Segal, 2008; Waikar and Bonventre, 2009; Solomon and Dauerman, 2010). Ebenso nachteilig ist, dass SCrea außerordentlich wenig sensitiv gegenüber schnellen Änderungen der GFR ist. So kann die Akkumulation von Kreatinin nach einem durch KM verursachten, akuten GFR-Abfall Tage brauchen, ehe der Anstieg der SCrea die diagnostische Kriterien der CIAKI erfüllt (Russo et al., 1995; Bakris et al., 1999; Solomon and Segal, 2008; Bruce et al., 2009; Waikar and Bonventre, 2009; Katzberg and Newhouse, 2010; Seeliger et al., 2010a; Solomon and Dauerman, 2010; Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b). Auch die Berechnung der „estimated GFR“, in die neben SCrea auch Alter, Größe und Geschlecht der Patienten

\* Kursiv dargestellte Referenzen weisen Artikel aus, bei denen eine Co-Autorenschaft besteht, die aber nicht in diese kumulative Promotionsarbeit einbezogen wurden

einbezogen werden (Levey et al., 2009), löst das grundsätzliche Problem der Ungenauigkeit von SCrea nicht. Diese Nachteile der SCrea spiegeln sich auch in den uneinheitlichen Kriterien der klinischen CIAKI-Diagnose wider, nämlich einem bestimmten absoluten (alternativ 44 bzw. 88 mmol/L) oder prozentualen (alternativ 25 bzw. 50%) Anstieg der SCrea innerhalb von 48 bzw. 72 Stunden nach KM-Gabe (Solomon and Segal, 2008; Katzberg and Newhouse, 2010; Solomon and Dauerman, 2010). Die idealen Grenzwerte der absoluten oder relativen Anstiege sind immer noch Gegenstand der Diskussion. Dies hat u.a. direkte Konsequenzen für die in klinischen Studien berichteten Inzidenzen von CIAKI (Harjai et al., 2008; Solomon and Segal, 2008; Li and Solomon, 2010; Budano et al., 2011; Stacul et al., 2011). Ebenso beeinflussen der Zeitpunkt und die Frequenz der SCrea-Messungen nach KM-Gabe (48 vs. 72 Stunden) aufgrund des schleppenden Anstiegs von SCrea die Studienergebnisse (Reddan et al., 2009). Besonders augenfällig ist dies bei ambulanten Patienten: da SCrea bei Ihnen selten nach 48 oder 72 Stunden bestimmt wird, bleibt eine CIAKI häufig unentdeckt (Weisbord and Palevsky, 2010a). Zusammenfassend kann man sagen, dass die schwache Aussagekraft des Biomarkers SCrea, Änderungen der GFR verlässlich widerzuspiegeln, als eine Hauptursache für die unterschiedlichen, wenn nicht sogar widersprüchlichen Ergebnisse klinischer Studien erkannt wurde. Dieser Umstand wird z.T. noch durch unbeständige Grenzwertsetzung und unterschiedliche Probennahmezeitpunkte miteinander verglichener Studien verschlimmert (Van Praet and De Vriese, 2007; Fischereder, 2008; McCullough, 2008a; Solomon and Segal, 2008; Weisbord and Palevsky, 2008; Reddan et al., 2009; Weisbord and Palevsky, 2010a). Hiervon betroffen sind viele wichtige Fragestellungen und eben auch vergleichende Untersuchungen zur Nierenschädigung durch IOCM *versus* LOCM.

#### **1.4 Bedeutung des Hydrierungszustandes für die Entstehung von Kontrastmittel-induzierten Nierenschäden (CIAKI)**

Jahrzehntelange klinische Erfahrungen machten deutlich, dass Volumenmangel bzw. Dehydratation einen wesentlichen Risikofaktor für CIAKI darstellen. Deshalb wird ausreichende Volumengabe bzw. Hydrierung in den klinischen Leitlinien dringend empfohlen (Stacul et al., 2011; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015). Entsprechend werden in prospektiven klinischen Studien zu CIAKI ausschließlich gut hydrierte Patienten untersucht (Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b). Dies ist neben der Unempfindlichkeit von SCrea die zweite, höchst wahrscheinliche Ursache für die in den Metaanalysen dokumentierte Inkonsistenz der Befunde klinisch-prospektiver Vergleichsstudien zwischen IOCM und LOCM.

Die Erklärung für die Bedeutung des Hydrierungszustandes für die Entstehung von CIAKI stützt sich auf die Kombination einer Hypothese zu pathophysiologischen Mechanismen einer hohen Viskosität von KM-Lösungen mit den Ergebnissen zweier klinisch-retrospektiver

Studien. Mit steigender Viskosität der Tubulusflüssigkeit müsste nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz das Stromzeitvolumen abnehmen, so dass zum einen das KM länger seine zytotoxischen Effekte entfalten könnte, zum anderen müsste der hydrostatische Druck im Bowman'schen Kapselraum zu- und folglich die GFR abnehmen. Je besser der Volumenstatus bzw. die Hydrierung ist, desto weniger Wasser wird im Tubulus rückresorbiert und desto weniger werden KM im Tubulus aufkonzentriert. Wegen des exponentiellen Verhältnisses zwischen Konzentration und Viskosität müsste demnach schon eine leichte Zunahme des Volumen bzw. der Hydrierung zu deutlich geringerer Viskosität der Tubulusflüssigkeit und damit der daraus resultierenden Nierenschädigung führen. Tatsächlich haben *in vivo* Studien an Hunden und Ratten, in denen Urinviskositäten nach der Verabreichung von LOCM und IOCM direkt verglichen wurden, gezeigt, dass die Urinviskosität nach IOCM stärker ansteigt (Ueda et al., 1997; Ueda et al., 1998; Lancelot et al., 2002; Seeliger et al., 2007; Jost et al., 2011; Lenhard et al., 2013). Dies wurde auch in einer kleinen Untersuchungsserie an Menschen bestätigt (Seeliger et al., 2007). In all diesen Studien waren die Teilnehmer gut hydriert und vermutlich euvolämisch infolge ausreichender Flüssigkeitsversorgung. Es überrascht daher nicht, dass der Anstieg der Urinviskosität in absoluten Werten relativ gering war.

Im Gegensatz zu diesen Studien und zu prospektiven klinischen Studien sind die Patienten in der täglichen klinischen Praxis nicht immer ausreichend hydriert (Weisbord et al., 2008). Solche Patienten waren sicherlich auch unter den 57.925 Patienten, die in eine retrospektive Registerstudie zu kardialen Interventionen einbezogen waren (Liss et al., 2006). In dieser Studie erlitten Patienten, die das IOCM Iodixanol verabreicht bekommen hatten, zwei bis dreimal so häufig klinisch relevantes Nierenversagen, einschließlich der Notwendigkeit einer Dialysebehandlung, wie Patienten, die LOCM verabreicht bekamen. Ebenso fand eine andere Registerstudie mit 58.957 Patienten die unbereinigte Inzidenz für CIAKI nach IOCM höher als nach LOCM. Bewertungskriterien waren hierbei SCrea, Dialysepflicht und eine erhöhte Sterblichkeit im Krankenhaus (Reed et al., 2010).

#### 1.4.1 Schädliche Wirkung hoher Viskosität von Kontrastmitteln

Die zuvor bereits erwähnten Registerstudien weisen darauf hin, dass hochvisköse IOCM mit einem höheren Risiko für CIAKI behaftet sein können als LOCM. Die Interpretation dieser Ergebnisse muss jedoch mit Vorsicht erfolgen, da die Registerstudien Patientendaten eines großen Patientenkollektivs retrospektiv statistisch auswerteten, die nicht standardisiert waren. So enthalten die Studien inhomogene Patientenkollektive und die Verabreichung der untersuchten KM-Klassen erfolgte nicht randomisiert, z.B. erhielten in einer Studie ältere Patienten und Patienten mit Begleiterkrankungen häufiger IOCM (Reed et al., 2010). Auch werden keine Angaben zu Hydrierungsregimen von Patienten, wenn sie denn überhaupt vorgenommen wurden, gemacht.



Um zuverlässige und aussagekräftige Ergebnisse zu erlangen müssen prospektive Studien unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden. Da Dehydratation ein wesentlicher Risikofaktor für das Eintreten einer CIAKI ist, können prospektive Untersuchungen aus ethischen Gründen nicht am Menschen durchgeführt werden. Diese potenziell gefährliche, im klinischen Alltag jedoch nicht seltene Kondition, kann prospektiv nur mittels tierexperimenteller Studien untersucht werden (*Seeliger et al., 2010a*\*\*<sup>\*</sup>; Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b; *Ladwig et al., 2015*). Diese ermöglichen darüber hinaus Untersuchungen unter hoch standardisierten Bedingungen und eine Messung der GFR mittels Clearance-Methoden in hoher zeitlicher Auflösung.

In den hier vorzustellenden tierexperimentellen Studien wurde zunächst durch den Vergleich des LOCM Iopromid mit dem einzigen derzeit zur intravasalen Anwendung zugelassenen IOCM Iodixanol die Rolle der physikochemischen KM-Eigenschaften Viskosität und Osmolalität näher untersucht (*Seeliger et al., 2010a*). Für die Studien wurden gesunde Ratten verwendet, die bis zum Versuchsbeginn Wasser ad libitum trinken konnten. Diese euhydrierten Ratten konzentrieren ihren Urin auf > 900 mosmol/kg H<sub>2</sub>O, ein Wert, der beim Menschen einen dehydrierten Zustand anzeigen würde, und eignen sich dadurch als Modell für unzureichend hydrierte Menschen (Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015). Verglichen wurden Iodixanol und Iopromid hinsichtlich ihrer Effekte auf die Urinviskosität, das Urinzeitvolumen und die Kreatinin-Clearance in hoher zeitlicher Auflösung.

Innerhalb der Klasse der klinisch meistverwendeten monomeren LOCM unterscheiden sich die KM durch Art und Anordnung der Seitenketten. Da nicht ausgeschlossen werden kann, dass dies, unabhängig von der Viskosität und Osmolalität der Lösungen, die renalen Effekte beeinflusst, wurde eine weitere Studie aufgelegt, in der ein anderes LOCM, nämlich Iopamidol, mit Iodixanol verglichen wurde (*Ladwig et al., 2015*).

#### 1.4.2 Hilfreiche Wirkung mäßig erhöhter Osmolalität von Kontrastmitteln

Aktuelle klinische Leitlinien umfassen nur zwei unumstrittene Präventionsmaßnahmen für CIAKI: eine ausreichende (Prä-)Hydrierung des Patienten und die Verwendung der geringstmöglichen KM-Dosis (Stacul et al., 2011; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015). Nach der oben hergeleiteten Hypothese müssten die Folgen einer unzureichenden Hydrierung nach hochviskösen IOCM gravierender sein als bei LOCM, so dass bei IOCM die Prävention durch (Prä-)Hydrierung umso nötiger ist.

\*\* Kursiv und unterstrichen dargestellte Referenzen weisen Artikel aus, bei denen eine Erst- oder Co-Autorenschaft besteht und die in diese kumulative Promotionsarbeit einbezogen wurden

## **1.5 Hydrierung als Präventionsmaßnahme**

### **1.5.1 Infusion von NaCl-Lösung**

Um die Bedeutung des Hydrierungszustandes für die Nieren schädigenden Wirkungen von IOCM und LOCM zu überprüfen, erfolgte in unter Kapitel 1.4.1 erwähnten zwei Studien ein Vergleich zwischen Ratten, die bis zum Versuchsbeginn Wasser *ad libitum* trinken konnten mit Ratten, die darüber hinaus während des Versuchs zusätzlich mittels NaCl-Infusion (prä-)hydriert wurden. Es wurden die LOCM Iopromid und Iopamidol jeweils mit dem einzigen zurzeit zugelassenen IOCM Iodixanol verglichen (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015*). Zusätzlich wurde in einer Untersuchungsserie der Effekt einer Halbierung der KM-Dosis geprüft (*Seeliger et al., 2010a*).

### **1.5.2 Infusion von NaHCO<sub>3</sub>-Lösung**

Hinsichtlich der Zusammensetzung und der Dosis der Infusions-Flüssigkeit, die den besten Schutz gegen CIAKI bietet, ist ebenfalls noch keine Klarheit gegeben. Grund dafür ist wiederum hauptsächlich die mangelnde Evidenz aus bisherigen klinisch-prospektiven Studien. So wurde nach einer ersten Studie (Merten et al., 2004) von einem deutlich stärkeren renoprotektiven Effekt einer Bikarbonat-Infusion (NaHCO<sub>3</sub>) gegenüber NaCl-Infusion bei Patienten mit chronischen Nierenschädigungen berichtet. Eine nachfolgende Studie zeigte demgegenüber eine höhere Inzidenz von CIAKI bei Patienten, die mit NaHCO<sub>3</sub>-Lösung hydriert wurden (From et al., 2008). In dem Bemühen, möglichst große Patientengruppen zu erfassen, wurden mehrere Meta-Analysen und kritische Reviews erstellt, in denen verschiedene Protokolle und heterogene Patientenpopulationen miteinander verglichen wurden (Van Praet and De Vriese, 2007; Ho and Morgan, 2008; Hogan et al., 2008; Joannidis et al., 2008; Brar et al., 2009; Brown et al., 2009; Kanbay et al., 2009; Meier et al., 2009; Navaneethan et al., 2009; Zoungas et al., 2009; Hoste et al., 2010). Protokolle in diesen Meta-Analysen umfassten Infusionsregime in einer Bandbreite von einzelnen Bolus-Injektionen von NaHCO<sub>3</sub>-Lösung direkt vor KM-Gabe bis zu Dauerinfusionen beginnend 12 Stunden vor KM-Gabe. Auch die Endpunkte variierten von einem 25%-igen Anstieg von SCrea bis hin zur Dialysepflicht und Mortalität. Wurde allein SCrea als Kriterium der Diagnostik verwendet, deuteten die meisten Meta-Analysen auf eine geringere Inzidenz von CIAKI bei NaHCO<sub>3</sub>-Infusion im Vergleich zu NaCl-Infusion hin (Ho and Morgan, 2008; Hogan et al., 2008; Kanbay et al., 2009; Meier et al., 2009; Navaneethan et al., 2009). Wurden jedoch harte Endpunkte wie Dialysepflicht und Mortalität betrachtet, schien die Infusion von NaHCO<sub>3</sub> kaum einen Vorteil zu bieten (Ho and Morgan, 2008; Hogan et al., 2008; Kanbay et al., 2009; Meier et al., 2009; Navaneethan et al., 2009). Die enorme Heterogenität der inkludierten klinischen Studien und eine höchst wahrscheinliche Publikations-Bias verhinderte nach Ansicht der meisten Autoren eine abschließende Beurteilung der Effektivität von NaHCO<sub>3</sub> bezüglich der Prävention von CIAKI (Van Praet and De Vriese, 2007; Hogan et al., 2008;

Joannidis et al., 2008; Brar et al., 2009; Kanbay et al., 2009; Zoungas et al., 2009; Hoste et al., 2010). Um diese Fragestellung zu bearbeiten wurden in den eigenen Untersuchungen an Ratten die protektiven Effekte von NaCl- und NaHCO<sub>3</sub>-Infusion gegenüber Iopromid und Iodixanol miteinander verglichen (*Ladwig et al., 2011*).

### 1.5.3 Infusion von nicht-hypertoner Glukose-Mannitol-Lösung

Wie bereits erwähnt, ist die Volumenexpansion mit NaCl-Lösung weithin als Präventionsmaßnahme gegen CIAKI akzeptiert, wobei der vorteilhafte Effekt wohl in der aus der Volumenexpansion resultierenden Förderung der Diurese liegt. Osmodiuretika haben einen noch stärkeren diuretischen Effekt, so dass man einen ebenfalls positiven Effekt hinsichtlich der Vorbeugung von CIAKI vermuten könnte. Im Gegensatz zu diesen Vermutungen wird Mannitol als Osmodiuretikum in fast allen Reviews zu CIAKI als unwirksam, wenn nicht sogar schädlich beschrieben (Briguori and Marenzi, 2006; Stacul et al., 2006; Kelly et al., 2008; Weisbord and Palevsky, 2010b). Dieses Urteil erscheint allerdings verfrüht: zum einen wurden in mehreren klinischen Studien neben Mannitol noch weitere Diuretika, z.T. sogar noch kombiniert mit Dopamin oder NaHCO<sub>3</sub> verabreicht (Joannidis et al., 2008; Kanbay et al., 2009; Hoste et al., 2010), so dass der Effekt von Mannitol allein gar nicht beurteilt werden konnte. Zum anderen wurden in fast allen relevanten klinischen Studien stark hypertone, sogar bis zu 25%-ige, Mannitol-Lösungen verwendet (Van Praet and De Vriese, 2007; Meier et al., 2009; Navaneethan et al., 2009; Zoungas et al., 2009). Im Gegensatz zu NaCl-Lösung hat hypertone Mannitol-Lösung einen biphasischen Effekt auf das Extrazellulärvolumen: einer vorübergehenden Expansion folgt eine Volumenkontraktion, d.h. Dehydratation (Dekker, 1969; Badzyska et al., 1990). Zudem wurden in den analysierten Studien nur HOCM und LOCM, nicht aber IOCM untersucht. Letztere könnten aber am meisten von einer durch Mannitol induzierten osmotischen Diurese profitieren, da ihre niedrige Osmolalität einen geringeren diuretischen Effekt erwarten lässt als LOCM (*Seeliger et al., 2007*). In den Studien der vorliegenden Arbeit wurde daher die Hypothese geprüft, dass ein Hydrierungsregime, welches den osmодиuretischen Effekt einer nicht hypertonen Mannitol-Lösung mit einer nachhaltigen Volumenexpansion kombiniert, unerwünschte Effekte von insbesondere IOCM an der Niere abschwächt (*Seeliger et al., 2012a*).

## **1.6 Allgemeine Methodenbeschreibung**

Als Modelltier wurde in den hier darzustellenden Studien die Ratte gewählt, da sie zum einen groß genug ist, um die erforderliche Instrumentierung vorzunehmen und zum anderen wegen der bereits erwähnten Tatsache, dass die euhydrierte Ratte den Harn höher konzentriert als ein euhydrierter Mensch.

Die KM wurden über einen von der Arteria carotis bis in die Aorta thoracica vorgeschobenen Katheter verabreicht, um eine KM-Applikation nachzuahmen, wie sie häufig im klinischen Rahmen einer perkutanen kardialen Intervention stattfindet. Die Untersuchungen wurden in finaler Narkose durchgeführt. Neben dem genannten Carotis-Katheter hatten die Tiere einen weiteren Katheter in der Arteria femoralis, über den kontinuierlich der Blutdruck invasiv gemessen wurde. Über einen dritten Katheter in der Vena jugularis wurden die Infusionen vorgenommen. Für die Urinsammlung wurden die Tiere mit einem Blasen Katheter versehen, der nach Eröffnung der Bauchhöhle in die Blase eingebundenen war.

Die Viskosität von Flüssigkeiten wird typischer Weise mit Verfahren gemessen, die Flüssigkeitsmengen von deutlich über 1 mL benötigen, wie z.B. dem Kapillar-Viskosimeter nach Ubbelohde, bei dem die Flüssigkeit mithilfe der Schwerkraft durch eine Kapillare fließt. Die Viskosität bestimmt dabei wesentlich die Fließgeschwindigkeit. Da gesunde Ratten im Tagesdurchschnitt insgesamt etwa 10-15 ml Urin bilden (Weiss, 2008), ist leicht nachvollziehbar, dass die Probenintervalle wegen der erforderlichen Mindesturinmenge für die Viskositätsmessung in den frühen Studien relativ groß waren (60 min).

In unserer Arbeitsgruppe wurde im Jahr 2010 in Kooperation mit Klaus Becker von der Universität Zürich eine neue Methode entwickelt, mit deren Hilfe Viskosität in wesentlich kleineren Flüssigkeitsvolumina ( $\geq 7 \mu\text{l}$ ) gemessen werden kann. Die Flüssigkeit wird mit Hilfe eines definierten Unterdrucks durch die definierte Öffnung einer Pipettenspitze bewegt, wobei die Zeit bis zum Druckausgleich durch die Fließgeschwindigkeit und damit durch die Viskosität beeinflusst wird (*Seeliger et al., 2010a*). Durch diese neue Möglichkeit Viskosität in kleineren Flüssigkeitsvolumina zu messen, konnte die Frequenz der Urinproben erhöht und vorübergehende Abfälle der GFR sowie der zeitliche Verlauf und das Ausmaß der Urinviskosität nach KM-Gabe mit größerer zeitlicher Auflösung dargestellt werden.

## 2. Eigene Forschungsergebnisse in wissenschaftlichen Zeitschriften

---

### 2.1 Up to 50-fold Increase in Urine Viscosity with Iso-osmolar Contrast Media in Rats

Autoren: Seeliger, E., K. Becker, M. Ladwig, T. Wronski, P. B. Persson, and B. Flemming.

Jahr: 2010

Journal: Radiology. 256(2):406-414

Inhalt:

Zielsetzung dieser Studie war der Vergleich der Änderung der Urinviskosität in den renalen Tubuli nach Gabe eines hochviskösen IOCM (Iodixanol) mit der Änderung nach Gabe eines weniger viskösen, aber höher osmolalen LOCM (Iopromid). Iodixanol bewirkte einen etwa 50-fachen Anstieg der Urinviskosität, die letztlich sogar dreifach höher war, als die Viskosität der nativen Iodixanol-Lösung. Während die GFR durch Iopromid nicht wesentlich beeinträchtigt wurde, fiel sie nach der Gabe von Iodixanol vorübergehend um etwa 50% ab. Der diuretische Effekt von Iopromid war doppelt so groß, wie der von Iodixanol. NaCl-Infusion schwächte den durch Iodixanol verursachten Anstieg der Urinviskosität und den vorübergehenden Abfall der GFR ab, was vermutlich den protektiven Effekt von Volumenexpansion erklärt. Die Reduzierung der Iodixanol-Dosis um die Hälfte hatte einen ähnlichen Effekt.

**DOI: <http://dx.doi.org/10.1148/radiol.10091485>**

**You have to read this part online.**

## **2.2 Renal Effects of Bicarbonate *versus* Saline Infusion for Iso- and Lowosmolar Contrast Media in Rat**

Autoren: Ladwig, M., B. Flemming, E. Seeliger, L. Sargsyan, and P. B. Persson.

Jahr: 2011

Journal: Investigative Radiology. 46(11):672-677

### **Inhalt:**

In dieser Studie wurde untersucht, inwieweit  $\text{NaHCO}_3$ - und  $\text{NaCl}$ -Lösung den Urinfluss verstärken und damit den KM-bedingten Anstieg der Urinviskosität und Abfall der GFR verhindern. Hydrierung ist weithin als effektives Mittel zur Prävention von CIAKI akzeptiert. Ob  $\text{NaHCO}_3$ -Infusion einen größeren Effekt hat als  $\text{NaCl}$ -Infusion wird diskutiert. Einige klinische Studien zeigten eine effektive Prävention von CIAKI durch  $\text{NaHCO}_3$  auf, andere fanden entweder keinen Effekt oder eine größere Inzidenz von CIAKI nach  $\text{NaHCO}_3$ -Gabe. Aufgrund ihrer unterschiedlichen Resorption im Tubulus, könnten  $\text{NaHCO}_3$  und  $\text{NaCl}$  unterschiedliche Kapazitäten besitzen, das Nephron zu durchspülen.

Die Ergebnisse der Untersuchungen zeigten, dass es in Bezug auf den Urinfluss, die Urinviskosität und die GFR kaum einen Unterschied macht, ob  $\text{NaCl}$  oder  $\text{NaHCO}_3$  infundiert wird. Die Art des gewählten KM hat allerdings sehr wohl einen Einfluss auf die erwähnten Kennwerte. Iopromid erhöht den Urinfluss stärker als Iodixanol, während letzteres die Urinviskosität in größerem Ausmaß erhöhte und zu einem vorübergehenden GFR-Abfall führte.

**DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/RLI.0b013e31822311a9>**

**You must purchase this part online.**

### **2.3 Proof of Principle: Hydration by Low-Osmolar Mannitol-Glucose Solution Alleviates Undesirable Renal Effects of an Iso-Osmolar Contrast Medium in Rats**

Autoren: Seeliger, E., M. Ladwig, L. Sargsyan, K. Cantow, P. B. Persson,  
and B. Flemming.

Jahr: 2012

Journal: Investigative Radiology. 47(4):240-246

#### **Inhalt:**

In dieser Studie wurde untersucht, ob die osmodiuretischen Effekte von nicht hypertoner Mannitol-Lösung in Kombination mit nachhaltiger Volumenexpansion unerwünschte renale Nebenwirkungen von KM mildern können. Volumenexpansion wird weithin verwendet, um CIAKI vorzubeugen, da sie die Diurese anregt. Osmodiuretika haben einen stärkeren diuretischen Effekt als alleinige Infusion mit NaCl-Lösung. Dennoch deuten frühere Studien darauf hin, dass Mannitol eher förderlich als vorbeugend für CIAKI wirkt. Diese Studien verwendeten allerdings hyperosmolares Mannitol, was infolge verstärkter Diurese letztlich zu einer Volumenkontraktion führte. Die dargestellte Proof of Principle-Studie zeigte, dass ein Hydrierungsregime, welches den osmodiuretischen Effekt von niedrigosmolarer Mannitol-Glukose-Lösung mit einer reichlichen Volumenexpansion kombiniert, durchaus effektiv für die Reduzierung des Iodixanol-bedingten Anstiegs der Urinviskosität und die Prävention eines GFR-Abfalls ist. Für LOCM ist dieser vorteilhafte Effekt vernachlässigbar, da diese Verbindungen *per se* bereits stärker osmodiuretisch wirken.

**DOI: <http://dx.doi.org/10.1097/RLI.0b013e31823acbaa>**

**You must purchase this part online.**

## **2.4 Comparison of the Effects of Iodixanol and Iopamidol on Urine Flow, Urine Viscosity, and Glomerular Filtration in Rats**

Autoren: Ladwig, M., K. Cantow, B. Flemming, P. B. Persson and E. Seeliger.

Jahr: 2015

Journal: Journal of Urology and Nephrology 2(1):7

### **Inhalt:**

In dieser Studie wurden die Effekte von zwei KM, nämlich dem IOCM Iodixanol und dem LOCM Iopamidol, auf den Urinfluss, die Urinviskosität und die GFR sowie der Einfluss von Hydrierung mit NaCl-Lösung auf diese Kennwerte untersucht.

Dehydratation ist ein wesentlicher Risikofaktor für CIAKI. Bei nicht prähydrierten Ratten führte Iodixanol zu einem massiven Anstieg der Urinviskosität und zu einem vorübergehenden etwa 50%-igen Abfall der GFR. Iopamidol hat einen wesentlich stärkeren diuretischen Effekt als Iodixanol und führte daher zu einem geringeren Anstieg der Urinviskosität und die GFR war unbeeinträchtigt. Die Infusion von 0,9%-iger NaCl-Lösung schwächte den durch Iodixanol verursachten Anstieg der Viskosität und den vorübergehenden GFR-Abfall ab. Es wird geschlussfolgert, dass die Wahl des KM und ausreichende Hydrierung wichtige Elemente der Verhinderung von CIAKI sind. Letztere wirkt der tubulären Konzentration von KM entgegen und schwächt damit den Anstieg der Urinviskosität und den Abfall der GFR ab. Das höher osmolale Iopamidol hat ein besseres renales Sicherheitsprofil als das isoosmolale Iodixanol, zumindest bei nicht gut hydrierten Individuen.



# Comparison of the Effects of Iodixanol and Iopamidol on Urine Flow, Urine Viscosity, and Glomerular Filtration in Rats

**Keywords:** Iodinated contrast media; Viscosity; Glomerular filtration rate; Rat; Hydration; Acute kidney injury; Contrast induced nephropathy

## Abstract

Dehydration is a major risk for contrast media (CM) induced acute kidney injury, yet prospective studies in human patients without ample hydration are not feasible. The freely drinking rat can serve as a model for hypohydrated humans.

We compared the effects of two CM, iso-osmolar iodixanol and low-osmolar iopamidol, on urine flow, urine viscosity and glomerular filtration rate (GFR) in non-hydrated rats, and studied the impact of hydration by saline. In four groups of rats, either iodixanol 320 mg iodine/mL or iopamidol 370 mg iodine/mL was injected as 1.5 mL bolus into the thoracic aorta. Two groups had access to drinking water only and two groups received additional saline infusion (4 mL/hour per kg) starting 60 min before CM injection. Urine was collected (10 min sampling periods), urine viscosity measured, and GFR determined by creatinine clearance. In non-prehydrated rats, iodixanol led to a massive increase in urine viscosity and a transient 50% drop in GFR. Iopamidol had a much stronger diuretic effect than iodixanol, urine viscosity increased much less and GFR was unaffected. Saline infusion blunted the viscosity rise and transient decline in GFR caused by iodixanol. It is concluded that the choice of CM and ample hydration are important elements in the prevention of CM induced kidney injury. Low-osmolar iopamidol has a better renal safety profile than iso-osmolar iodixanol, at least in non-hydrated subjects. Hydration by saline counteracts the renal tubular concentration of CM thereby alleviating the increase in urine viscosity and the decline in GFR.

## Introduction

Although today's iodinated X-ray contrast media (CM) are well tolerated in general, there is still the risk of acute kidney injury following the intravascular administration of CM. This is especially true for procedures such as percutaneous cardiac interventions that often require large amounts of CM and entail intra-arterial CM administration [1-4]. Besides conditions such as pre-existing renal impairment and diabetes mellitus, volume depletion (dehydration) is a major risk factor for contrast media induced nephropathy (CIN) [1,2,4,5].

CM of the pioneer generation, later on named high-osmolar CM (HOCM), are no longer widely used for intravascular administration, because these compounds showed a higher incidence of CIN than low-osmolar CM (LOCM) and iso-osmolar CM (IOCM) [1,2,6,7]. Whereas the osmolality of LOCM is much lower than that of HOCM but still higher than that of blood, IOCM have the same osmolality as blood. Today, we can choose between iodixanol, the only IOCM presently approved for intravascular administration, and an array of LOCM, such as the widely used iopamidol. Current guidelines leave



## Journal of Urology & Nephrology

Mechthild Ladwig<sup>1,2\*</sup>, Kathleen Cantow<sup>1</sup>, Bert Flemming<sup>1</sup>, Pontus B. Persson<sup>1</sup> and Erdmann Seeliger<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Institut für vegetative Physiologie und Cardiovascular Research Center, Charité – Universitätsmedizin, Berlin, Germany

<sup>2</sup>Institut für Tierschutz, Tierverhalten und Versuchstierkunde, Freie Universität Berlin, Germany

### Address for Correspondence

Mechthild Ladwig, Institut für vegetative Physiologie und Cardiovascular Research Center Charité-Universitätsmedizin, Berlin Hessische Str. 3-4 10115 Berlin, Germany, Tel: 004930450528196, Fax: 004930450528972; E-mail: mechthild.ladwig@charite.de

**Submission:** 30 June 2015

**Accepted:** 31 July 2015

**Published:** 04 August 2015

**Copyright:** © 2015 Ladwig M, et al. This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution License, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

**Reviewed & Approved by:** Dr. Ahmed El-Zawahry, Assistant Professor of Surgery, Southern Illinois University, USA

this choice to the physician [1,6-8], because the results of prospective clinical head-to-head comparisons concerning the renal safety of iodixanol versus LOCM have been contradictory [2,9-12]. One major reason behind this lack of consistent results is that the vast majority of clinical studies have been relying on serum creatinine concentration (SCrea) as the sole end point [2,9,11,12]. Unfortunately, SCrea is a notoriously poor surrogate marker for glomerular filtration rate (GFR): SCrea is quite insensitive in patients with normal pre-existing GFR and conceals quick and transient changes in GFR such as an immediate drop upon CM administration [2,13,14].

A second reason behind the equivocal results of prospective clinical studies relies on the fact that- compelled by the knowledge that dehydration poses a grave risk for CIN-virtually all study protocols prescribed ample prehydration of the patients. This is in contrast to every-day clinical practice, in which many patients are not sufficiently hydrated [15,16]. Two register studies that mirror every-day practice and, thus, certainly included patients who were not well hydrated, point at a higher incidence of CIN following the IOCM, iodixanol, than LOCM [17,18]. A mechanistic explanation for this finding is that, in less hydrated subjects; water resorption from renal tubular fluid is enhanced, leading to an increase in the tubular concentration of CM. This will result in a proportional increase in tubular fluid osmolality and an over proportional increase in its viscosity. Both high tubular fluid osmolality and viscosity have been implicated to promote CIN [2,17,19,20]. IOCM have a higher fluid viscosity than LOCM [21,22], which, in patients who are not well hydrated, may result in a higher incidence of CIN.

Because prospective studies in humans without proper prehydration are, of course, unfeasible for ethical reasons, the ultimate appraisal of the renal safety of IOCM versus LOCM in this condition

must be gained by animal experiments. Euhydrated rats which have free access to water concentrate their urine to 900-1200 mosmol/kg H<sub>2</sub>O, values that compare well with urine osmolality measured for hypopenic human beings [23-25]. Studies in rats also facilitate direct measurements of GFR with high temporal resolution. Finally, with the high level of standardisation enabled by studies in healthy rats, the issues of heterogeneities among patients in clinical studies, and, even more pronounced, in meta-analyses derived from clinical studies, can be circumvented.

For these reasons we performed a head-to-head comparison of the IOCM, iodixanol, and the LOCM, iopamidol, in anaesthetized rats. We chose to inject the CM into the thoracic aorta to emulate the clinical setting of percutaneous cardiac interventions. We hypothesized that iodixanol results in higher urine viscosity and, thus, in larger decrease in GFR as compared to iopamidol in rats that are not hydrated by infusion. In order to study the effects of pre-hydration, we performed a second set of experiments in rats that received a continuous i.v. infusion of isotonic saline. We hypothesized that saline alleviates the drop in GFR and lessens the rise in urine viscosity.

## Material and Methods

This study was approved by Berlin's Legal Authorities and performed in accordance with the German Animal Welfare Act. All applicable institutional and national guidelines for the care and use of animals were followed.

For the experiments 3-4 months old male Wistar rats (body mass 350-480g; Harlan, Roßdorf, Germany) were used. A standard diet was fed and the rats had free access to drinking water. As enrichment measures they were housed in groups in type IV cages and nesting material and plastic tubes were offered.

## Experimental protocols and procedures

The study comprised experiments on a total of 36 rats, which were allocated into four treatment groups. The protocols differed with respect to the hydration regimen and the administered CM. All rats had free access to drinking water until anaesthesia, yet the rats in two groups received an additional continuous infusion of isotonic NaCl solution (saline) at 4 mL per hour per kg of body mass (BM). This infusion was started 60 min before administration of CM and was continued throughout the observation time (100 min post CM). The rats in two groups were injected with iodixanol 320 mg iodine per mL (Visipaque® 320; GE Healthcare Buchler, Braunschweig, Germany) whereas the rats in the other two groups received iopamidol 370 mg iodine per mL (Iopamiron® 370; Bayer, Osaka, Japan). According to manufacturers' specifications the osmolality of iodixanol 320 solution is 290 mosmol/kg H<sub>2</sub>O, that of iopamidol 370 solution is 796 mosmol/kg H<sub>2</sub>O, their viscosities (at 37 °C) are 11.4 mPa s and 9.1 mPa s, respectively. Note that rats receiving 1.5 mL of iopamidol 370 are exposed to a greater amount of iodine than rats receiving 1.5 mL of iodixanol 320. CM were pre-warmed to 37 °C and administered into the thoracic aorta as a bolus injection within a timeframe of 20 s. The four groups were named 1) iodixanol (n=9 rats), 2) iopamidol (n=10), 3) iodixanol+saline (n=7), and 4) iopamidol+saline (n=10).

The experiments started at 8:00 a.m. Rats were anaesthetized by intraperitoneal injection of 20% urethane solution (6 mL/kg BM)

and fixed on a temperature controlled table. A tracheal cannula was inserted to ensure sufficient spontaneous breathing. Catheters were inserted into blood vessels – one into the left common carotid artery with its tip towards the aorta for CM administration, another one into the left jugular vein for infusion, and a third one into the femoral artery for taking blood samples and monitoring arterial blood pressure. Urine was collected via a urinary bladder catheter inserted by opening the abdominal cavity.

Urine sampling was done in consecutive 10 min sampling periods. Blood samples were taken before CM administration and at the end of the observation period.

## Measurements

Urine volume was measured gravimetrically. Osmolality was measured by freezing point depression (Osmomat 030; Gonotec, Berlin, Germany). Glomerular filtration rate was measured by clearance of creatinine. To this end, creatinine concentration in serum and urine samples was measured (Creatinine Analyzer II; Beckmann Instruments, Galway, Ireland; SCrea between both samples estimated by linear interpolation), and clearance calculated by standard formula. Viscosity of urine was measured by a microviscosimeter developed in our laboratory that enables measurements from minute samples [26]. Viscosity of urine samples was measured at 37 °C sample temperature.

Although normal urine flow is very sparse in rats which are not hydrated by infusions, we could secure enough urine for the viscometry (7 µL). However, it was not possible to obtain enough urine for calculating flow rates and creatinine clearances before giving CM in the rats that did not receive saline infusions. After CM injection, urine samples were large enough in all rats for all analyses, because CM elicits osmодиuresis.

## Statistical analysis

Statistical comparisons among the protocols (unpaired data) were made with the Kruskal-Wallis test (one-way analysis of variance on ranks) followed by the Dunn procedure for multiple non-parametric comparisons. Comparisons within a given protocol (paired data) were performed with the Friedmann test (repeated-measurement analysis of variance on ranks). Statistical software (NCSS; Hintze, Kaysville Utah) was used, with a significance level of P< 0.05. Data are presented as means±SEM.

## Results

In the rats that had access to drinking water only, pre-CM urine flow was as miniscule and urine osmolality was as high as expected (1016±94 mosmol/kg H<sub>2</sub>O; it did not differ significantly between the iopamidol and the iodixanol group). CM administration immediately increased urine flow rate, and this effect persisted throughout the 100 min observation period (Figure 1A). The diuretic effect of iopamidol was significantly stronger than that of iodixanol: the cumulative urine volume for the 100 min post CM administration was 2.24±0.08 mL in the iopamidol group and 1.35±0.10 mL in the iodixanol group (Figure 1C).

As saline had been infused for 60 min in the iopamidol+saline and iodixanol+saline groups, pre-CM urine flow rate was higher

(Figure 1B) and pre-CM urine osmolality was significantly lower ( $551 \pm 87$  mosmol/kg  $H_2O$ ; no significant difference between the iopamidol+saline and the iodixanol+saline group) than in the iopamidol and iodixanol groups. The continued saline infusion also increased the diuresis following administration of both CM (Figure 1B), yet the cumulative urine volume for the 100 min post-CM period was still significantly smaller for the iodixanol+saline group ( $1.59 \pm 0.04$  mL) than that of the iopamidol+saline ( $3.00 \pm 0.35$  mL) and even smaller than that of the iopamidol group (Figure 1C).

Pre-CM urine viscosity values did not differ between the

iopamidol group and the iodixanol group (Figure 2A). Both iodixanol and iopamidol resulted in significant increases in urine viscosity, yet values were much higher in the iodixanol (peak value  $32.2 \pm 7.1$  mm<sup>2</sup>/s) than in the iopamidol group (peak value  $2.2 \pm 0.3$  mm<sup>2</sup>/s). Infusion of isotonic saline for 60 min did not alter pre-CM values of urine viscosity (Figure 2B). The continued saline infusion significantly decreased urine viscosities following iodixanol (iodixanol+saline group peak value  $16.2 \pm 2.6$  mm<sup>2</sup>/s), whereas it did not significantly reduce the already much lower urine viscosity following iopamidol (iopamidol+saline group peak value  $1.8 \pm 0.1$  mm<sup>2</sup>/s).

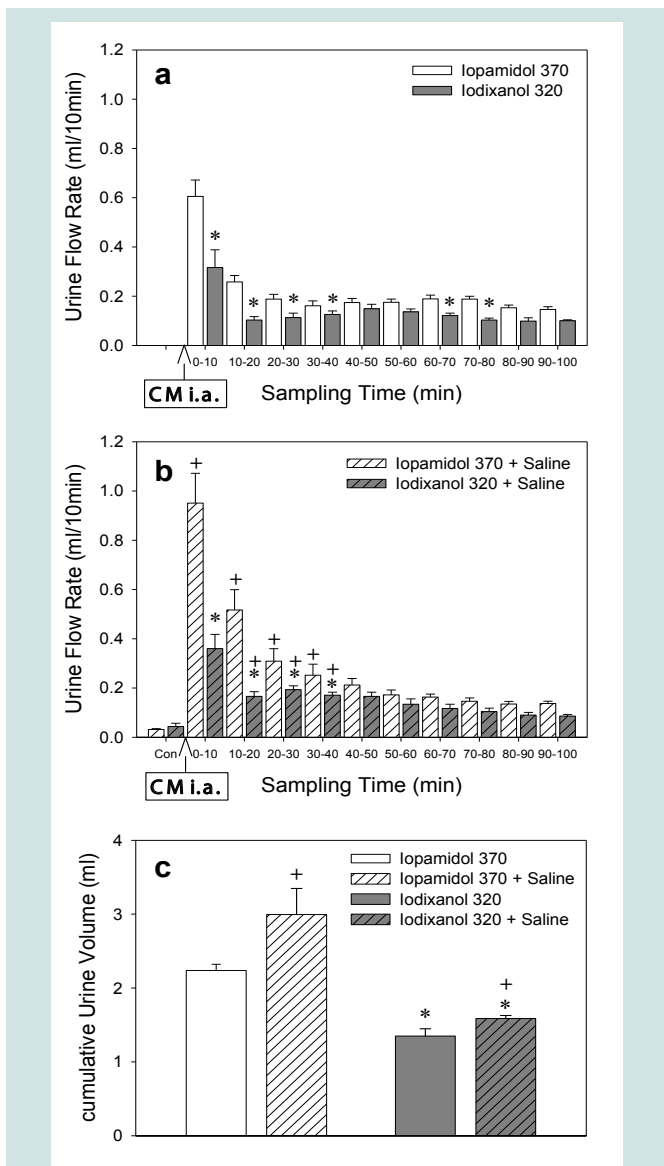
Glomerular filtration rate as measured by creatinine clearance decreased markedly following iodixanol (lowest value  $5.3 \pm 0.9$  mL/10 min); it became restored towards control level beginning 40 min post iodixanol (Figure 3A). Following iopamidol, GFR did not drop significantly (lowest value  $11.7 \pm 1.7$  mL/10 min). Please note that the large increase in creatinine clearance in the first 10 min sampling period after CM bolus does not represent an increase in GFR but relies on the well-known dead space effect: Due to CM induced massive diuresis, tubular fluid of very high creatinine concentration is flushed out of the urinary tract [26,27]. Saline infusion did not prevent the iodixanol-induced decrease in GFR completely (iodixanol+saline group lowest value  $7.4 \pm 1.2$  mL/10 min) but the drop was short-lasting: GFR was restored towards control values beginning about 20 min post-CM already.

### Discussion

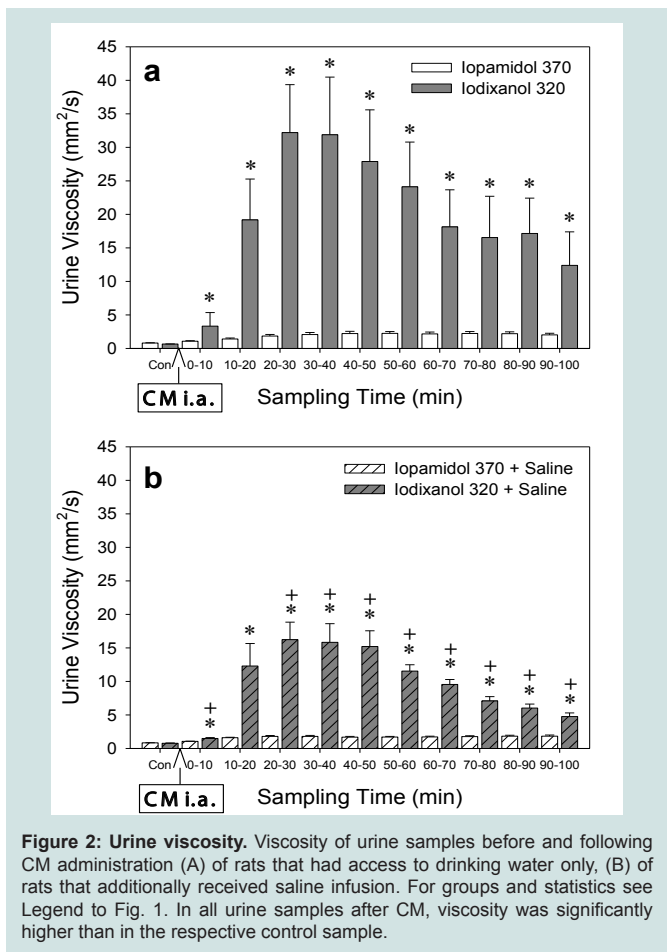
The present head-to-head comparison indicates that intra-arterial injection of iodixanol, but not iopamidol, leads to a vast increase in the renal tubular fluid viscosity (Figure 2) and to a substantial transient decrease in GFR (Figure 3) in healthy rats. Ample hydration with saline mitigates the increase in urine viscosity and diminishes the duration of GFR decline observed after iodixanol exposure. The results of this study supplement the literature on pathophysiological mechanisms causative for CIN and provide a lucid explanation for the beneficial effect of hydration.

In recent years it became possible, largely thanks to pre-clinical studies, to form a rather comprehensive view on the pathophysiology behind CIN [2,28-31]. CIN comes about by concerted action of cytotoxic effects of CM, auto- and paracrine factors which impinge on (intra) renal blood supply and oxygenation, and alterations of rheological properties that affect tubular fluid flow and renal haemodynamics. Yet the contributions of the individual factors vary with the physicochemical properties of the CM and the hydration status.

Medullary hypoxia is a key element in CIN pathophysiology [2,20,28,29,32-35]. Hypoxia is part of a vicious circle that entails cellular damage, oxidative stress and vasoconstriction [2,28,29]. All presently used CM share cytotoxic effects that affect vascular endothelial and tubular epithelial cells [2,36,37], which can lower the bioavailability of vasodilatory nitric oxide [36,37]. Pre-glomerular vasoconstriction is one reason behind CM-induced reduction in GFR [38], such as observed here upon iodixanol injection (Figure 3) [29]. Vasoconstriction of post-glomerular vessels including the descending vasa recta (DVR) will result in medullary hypoxia, and, thus, promote the vicious circle [29,39].



**Figure 1: Urine flow.** Urine flow rates (mean±SEM) before (Con) and following CM bolus injection into the thoracic aorta (i.a.). (A) Results of rats that had access to drinking water only, (B) results of rats that additionally received saline infusion (4 mL/h per kg BM) initiated 60 min before CM, (C) cumulative urine volumes for the 100 min following CM for all four groups. Note that urine flow pre-CM in rats not pre-hydrated by saline was too sparse to obtain flow rates. In all sample periods after CM, urine flow was higher than during the respective control period. Significant differences between iodixanol and iopamidol are depicted by \*, those between the hydration states by + ( $p < 0.05$ ).

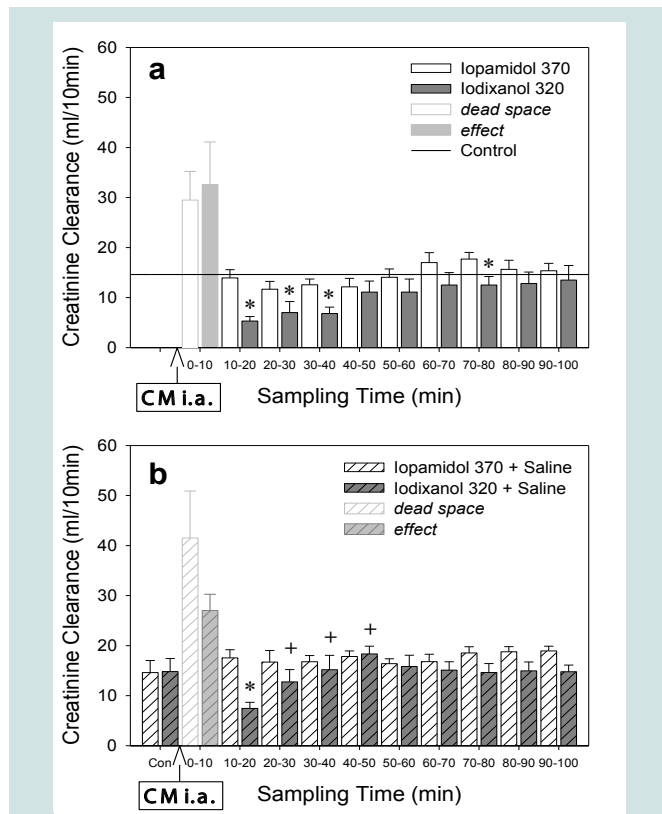


That the viscosity of CM plays a role in CIN pathophysiology has been suggested in the 1990ies already [19]. The viscosities of all CM are markedly higher than those of blood plasma [21,22]. In the renal tubules, CM becomes enriched, as water is reabsorbed but CM is not. Because the relationship between concentration and viscosity is exponential, tubular fluid viscosity increases exponentially along the passage through the tubules. As recently reviewed [29], this has a number of deleterious effects. First, increased tubular fluid viscosity hinders glomerular filtration, as corroborated here: the massive increase in urine viscosity upon iodixanol is accompanied by a marked decrease in GFR (Figures 2A and 3A). Second, the higher the tubular fluid viscosity the slower the CM is excreted (Figure 1A). This prolongs the contact time of cytotoxic CM with the tubular epithelial cells thereby aggravating the cell damage and the ensuing vasoconstrictive effects [22,29]. Third, viscosity-induced increase in tubular pressure compresses intrarenal vessels such as the DVR, thereby reducing medullary blood perfusion [20,29,40]. Finally, as blood flows through the hypertonic environment of the medulla, plasma water leaves the vessels towards the interstitium. This will enrich CM within the DVR, thus increasing blood viscosity, thereby further compromising medullary perfusion [20,29].

The large difference observed between urine viscosities following iodixanol versus iopamidol (Figure 2A) cannot be explained by the difference of viscosities of the iodixanol 320 versus the iopamidol 370

solution alone (~10 versus ~7 mm<sup>2</sup>/s). Here, the difference in CM osmolalities plays a major role (290 versus 796 mosmol/kg H<sub>2</sub>O) [29,32,41]. Non-reabsorbable CM diminish the osmotic gradient that drives tubular water resorption, thereby inducing osmодиuresis. The osmодиuretic effect of iopamidol is much stronger than that of iodixanol (Figure 1). By virtue of its higher osmolality, iopamidol is less enriched inside the tubules than iodixanol. Due to the exponential concentration-viscosity relationship, this results in a very modest increase in urine viscosity following iopamidol, but a vast increase in urine viscosity and, thus, a marked decrease in GFR following iodixanol (Figures 2A and 3A). Thus, the modest osmolality of the LOCM, iopamidol, conveys a beneficial effect, at least in subjects that are not well hydrated.

The present results are in accord with previous comparisons between IOCM and various LOCM. As recently reviewed [29], these studies used several direct and indirect markers of kidney injury and consistently found that LOCM have a better renal safety profile than IOCM. Thus, urine viscosity was found higher in rats and dogs following IOCM than LOCM [19,20,26,42]; this was also corroborated in a small series of well hydrated patients [20]. Studies in rats and



**Figure 3: Creatinine clearance.**

Creatinine clearances before and following CM (A) of rats that had access to drinking water only, (B) of rats that additionally received saline infusion. For groups and statistics see Legend to Fig. 1. Control values of creatinine clearance could only be obtained for rats receiving saline infusion (B); the mean value of these measurements is also depicted as Control in (A). Please note that the very high creatinine clearance values for the first sampling period following CM (0-10 min, depicted as grey shadows) do not represent actual increases in glomerular filtration rate, but rely on the dead-space effect (see Results).

minipigs showed that the higher urine viscosity leads to a longer renal retention of IOCM than LOCM [32,35,41,43], which is accompanied by higher levels of injury markers [32,41]. Also, intrarenal oxygenation was much more compromised following IOCM than LOCM as monitored by invasive probes and blood oxygenation level-dependent (BOLD) magnetic resonance [20,32,33,35].

Besides using the lowest CM dose possible, ample hydration (volume expansion) is the only unequivocally recommended measure for CIN prevention of today's guidelines [1,6-8]. The results of the present study provide a lucid explanation as regards the mechanism by which hydration (volume expansion) exerts its protective effect. The less a subject is hydrated the more activated are the mechanisms of volume preservation that govern tubular fluid resorption [44,45]. Thus, the degree to which CM are enriched en route through the tubules depends on the subject's hydration (volume status). With the volume expansion by saline, urine flow is increased (Figure 1) and, thus, the CM in the tubular fluid become less concentrated. Due to the exponential concentration-viscosity relation, this dilution results in a major decrease in urine viscosity following iodixanol (Figure 2). Consequently, the decline in GFR following iodixanol is alleviated (Figure 3).

A recent study in patients with congestive heart failure addressed legitimate concerns about excessive saline infusion [46]. Hence, left ventricular end-diastolic pressure was measured and the infusion rate adjusted accordingly. The higher the infusion rates were the lower the incidence of CIN was [46]. Another novel technique that significantly reduces the incidence of CIN combines forced diuresis with controlled hydration: Using a servocontrol device ("RenalGuard"), the rate of saline infusion is adjusted to match the urine output, thus providing volume expansion in the face of furosemide-forced diuresis [47,48].

Our study has limitations. The euhydrated rat concentrates its urine to an extent which, in humans, is indicative of a hydropenic state (> 900 mosmol/kg H<sub>2</sub>O), however, the activity of mechanisms that control tubular fluid resorption will be higher in hydropenic humans. Yet, the euhydrated rat is probably the best available model for a situation that is not uncommon in daily clinical practice but ethically inadmissible to study in prospective clinical trials. By injecting CM into the thoracic aorta, we emulate percutaneous cardiac interventions. The CM dose used is in the lower range of the doses patients undergoing such interventions usually receive [49-52], as compared on a per body surface area basis as required for dose-dependent adverse effects between species by regulatory bodies [50]. However, during cardiac interventions the CM is usually given by consecutive smaller injections. In the present study, the whole amount of CM was given as a single bolus so that the first pass concentration of CM at the kidney is certainly higher than during most interventions in humans [53].

Taken together, the present study indicates that the choice of CM and ample hydration are important elements in the prevention of CIN. In clinical practice, as opposed to virtually all prospective trials on CIN including one head-to-head comparison between iopamidol and iodixanol [54], not every patient is sufficiently hydrated. Our study in the euhydrated rat model revealed that iopamidol, by virtue of its lower viscosity and moderately higher osmolality, has a better renal safety profile than iodixanol in this potentially harmful condition.

Furthermore, the present results provide a mechanistic explanation for the renoprotective effect of hydration (volume expansion): Even a minor decrease in tubular water resorption resulting from hydration greatly decreases tubular fluid viscosity.

## References

1. Ohno I, Hayashi H, Aonuma K, Horio M, Kashihara N, et al. (2013) Guidelines on the use of iodinated contrast media in patients with kidney disease 2012: digest version. JSN, JRS, and JCS Joint Working Group. *Jpn J Radiol* 31: 546-584.
2. Seeliger E, Sendeski M, Rihal CS, Persson PB (2012) Contrast-induced kidney injury: mechanisms, risk factors, and prevention. *Eur Heart J* 33: 2007-2015.
3. Solomon R, Dauerman HL (2010) Contrast-induced acute kidney injury. *Circulation* 122: 2451-2455.
4. James MT, Samuel SM, Manning MA, Tonelli M, Ghali WA, et al. (2013) Contrast-induced acute kidney injury and risk of adverse clinical outcomes after coronary angiography: a systematic review and meta-analysis. *Circ Cardiovasc Interv* 6: 37-43.
5. Calvin AD, Misra S, Pflueger A (2010) Contrast-induced acute kidney injury and diabetic nephropathy. *Nat Rev Nephrol* 6: 679-688.
6. Stacul F, van der Molen AJ, Reimer P, Webb JA, Thomsen HS, et al. (2011) Contrast induced nephropathy: updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *Eur Radiol* 21: 2527-2541.
7. American College of Radiology (2013) ACR Manual on Contrast Media Version 9.
8. Owen RJ, Hiremath S, Myers A, Fraser-Hill M, Barrett BJ (2014) Canadian Association of Radiologists consensus guidelines for the prevention of contrast-induced nephropathy: update 2012. *Can Assoc Radiol J* 65: 96-105.
9. Reed M, Meier P, Tamhane UU, Welch KB, Moscucci M, et al. (2009) The relative renal safety of iodixanol compared with low-osmolar contrast media: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JACC Cardiovasc Interv* 2: 645-654.
10. Biondi-Zoccai G, Lotrionte M, Thomsen HS, Romagnoli E, D'Ascenzo F, et al. (2014) Nephropathy after administration of iso-osmolar and low-osmolar contrast media: evidence from a network meta-analysis. *Int J Cardiol* 172: 375-380.
11. Heinrich MC, Haberle L, Muller V, Bautz W, Uder M (2009) Nephrotoxicity of iso-osmolar iodixanol compared with nonionic low-osmolar contrast media: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology* 250: 68-86.
12. From AM, Al Badarin FJ, McDonald FS, Bartholmai BJ, Cha SS, et al. (2010) Iodixanol versus low-osmolar contrast media for prevention of contrast induced nephropathy: meta-analysis of randomized, controlled trials. *Circ Cardiovasc Interv* 3: 351-358.
13. McCullough PA, Shaw AD, Haase M, Bouchard J, Waikar SS, et al. (2013) Diagnosis of acute kidney injury using functional and injury biomarkers: workgroup statements from the tenth Acute Dialysis Quality Initiative Consensus Conference. *Contrib Nephrol* 182: 13-29.
14. Russo D, Minutolo R, Cianciaruso B, Memoli B, Conte G, et al. (1995) Early effects of contrast media on renal hemodynamics and tubular function in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 6: 1451-1458.
15. Weisbord SD, Mor MK, Resnick AL, Hartwig KC, Sonel AF, et al. (2008) Prevention, incidence, and outcomes of contrast-induced acute kidney injury. *Arch Intern Med* 168: 1325-1332.
16. Fischereder M (2008) Use of intravenous sodium bicarbonate might increase the risk of contrast nephropathy. *Nat Clin Pract Nephrol* 4: 296-297.
17. Liss P, Persson PB, Hansell P, Lagerqvist B (2006) Renal failure in 57 925 patients undergoing coronary procedures using iso-osmolar or low-osmolar contrast media. *Kidney Int* 70: 1811-1817.

18. Reed MC, Moscucci M, Smith DE, Share D, LaLonde T, et al. (2010) The relative renal safety of iodixanol and low-osmolar contrast media in patients undergoing percutaneous coronary intervention. Insights from Blue Cross Blue Shield of Michigan Cardiovascular Consortium (BMC2). *J Invasive Cardiol* 22: 467-472.
19. Ueda J, Nygren A, Sjoquist M, Jacobsson E, Ulfendahl HR, et al. (1998) Iodine concentrations in the rat kidney measured by X-ray microanalysis. Comparison of concentrations and viscosities in the proximal tubules and renal pelvis after intravenous injections of contrast media. *Acta Radiol* 39: 90-95.
20. Seeliger E, Flemming B, Wronski T, Ladwig M, Arakelyan K, et al. (2007) Viscosity of contrast media perturbs renal hemodynamics. *J Am Soc Nephrol* 18: 2912-2920.
21. Pannu N, Wiebe N, Tonelli M, Alberta Kidney Disease Network (2006) Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA* 295: 2765-2779.
22. Jost G, Lengsfeld P, Lenhard DC, Pietsch H, Hutter J, et al. (2011) Viscosity of iodinated contrast agents during renal excretion. *Eur J Radiol* 80: 373-377.
23. Bozinovic F, Gallardo P (2006) The water economy of South American desert rodents: from integrative to molecular physiological ecology. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol* 142: 163-172.
24. Rapoport S, Brodsky WA, West CD (1949) Excretion of solutes and osmotic work of the resting kidney of hydropenic men. *Am J Physiol* 157: 357-362.
25. Manz F, Wentz A (2003) 24-h hydration status: parameters, epidemiology and recommendations. *Eur J Clin Nutr* 57 Suppl 2: S10-S18.
26. Seeliger E, Becker K, Ladwig M, Wronski T, Persson PB, et al. (2010) Up to 50-fold increase in urine viscosity with iso-osmolar contrast media in the rat. *Radiology* 256: 406-414.
27. Badzyska B, Sadowski J, Dobrowolski L (1990) Atrial peptide natriuresis in the rat without genuine rise in filtration rate or wash-out of medullary electrolytes. *J Physiol* 427: 421-434.
28. Heyman SN, Rosen S, Khamaisi M, Idee JM, Rosenberger C (2010) Reactive oxygen species and the pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy. *Invest Radiol* 45: 188-195.
29. Seeliger E, Lenhard DC, Persson PB (2014) Contrast media viscosity versus osmolality in kidney injury: lessons from animal studies. *Biomed Res Int* 2014: 358136.
30. Bucher AM, De Cecco CN, Schoepf UJ, Meinel FG, Krazinski AW, et al. (2014) Is contrast medium osmolality a causal factor for contrast-induced nephropathy? *Biomed Res Int* 2014: 931413.
31. Aurelio A, Durante A (2014) Contrast-induced nephropathy in percutaneous coronary interventions: pathogenesis, risk factors, outcome, prevention and treatment. *Cardiology* 128: 62-72.
32. Lenhard DC, Frisk AL, Lengsfeld P, Pietsch H, Jost G (2013) The effect of iodinated contrast agent properties on renal kinetics and oxygenation. *Invest Radiol* 48: 175-182.
33. Li LP, Franklin T, Du H, Papadopoulou-Rosenzweig M, Carbray J, et al. (2012) Intrarenal oxygenation by blood oxygenation level-dependent MRI in contrast nephropathy model: effect of the viscosity and dose. *J Magn Reson Imaging* 36: 1162-1167.
34. Sekiguchi H, Ajiro Y, Uchida Y, Ishida I, Otsuki H, et al. (2013) Oxygen preconditioning prevents contrast-induced nephropathy (OPTION CIN Study). *J Am Coll Cardiol* 62: 162-163.
35. Wang YC, Tang A, Chang D, Zhang SJ, Ju S (2014) Significant perturbation in renal functional magnetic resonance imaging parameters and contrast retention for iodixanol compared with iopromide: an experimental study using blood-oxygen-level-dependent/diffusion-weighted magnetic resonance imaging and computed tomography in rats. *Invest Radiol* 49: 699-706.
36. Sendeski MM, Bondke PA, Liu ZZ, Busch JF, Weikert S, et al. (2012) Iodinated contrast media cause endothelial damage leading to vasoconstriction of human and rat vasa recta. *Am J Physiol Renal Physiol* 303: F1592-F1598.
37. Liu ZZ, Schmerbach K, Lu Y, Perlewitz A, Nikitina T, et al. (2014) Iodinated contrast media cause direct tubular cell damage, leading to oxidative stress, low nitric oxide, and impairment of tubuloglomerular feedback. *Am J Physiol Renal Physiol* 306: F864-F872.
38. Sendeski M, Patzak A, Pallone TL, Cao C, Persson AE, et al. (2009) Iodixanol, constriction of medullary descending vasa recta, and risk for contrast medium-induced nephropathy. *Radiology* 251: 697-704.
39. Liu ZZ, Viegas VU, Perlewitz A, Lai EY, Persson PB, et al. (2012) Iodinated contrast media differentially affect afferent and efferent arteriolar tone and reactivity in mice: a possible explanation for reduced glomerular filtration rate. *Radiology* 265: 762-771.
40. Arakelyan K, Cantow K, Hentschel J, Flemming B, Pohlmann A, et al. (2013) Early effects of an x-ray contrast medium on renal T(2)/T(2) MRI as compared to short-term hyperoxia, hypoxia and aortic occlusion in rats. *Acta Physiol (Oxf)* 208: 202-213.
41. Lenhard DC, Pietsch H, Sieber MA, Ernst R, Lengsfeld P, et al. (2012) The osmolality of nonionic, iodinated contrast agents as an important factor for renal safety. *Invest Radiol* 47: 503-510.
42. Lancelot E, Idee JM, Laclede C, Santus R, Corot C (2002) Effects of two dimeric iodinated contrast media on renal medullary blood perfusion and oxygenation in dogs. *Invest Radiol* 37: 368-375.
43. Jost G, Pietsch H, Lengsfeld P, Hutter J, Sieber MA (2010) The impact of the viscosity and osmolality of iodine contrast agents on renal elimination. *Invest Radiol* 45: 255-261.
44. Reinhardt HW, Seeliger E (2000) Toward an integrative concept of control of total body sodium. *News Physiol Sci* 15: 319-325.
45. Seeliger E, Lunenburg T, Ladwig M, Reinhardt HW (2010) Role of the renin-angiotensin-aldosterone system for control of arterial blood pressure following moderate deficit in total body sodium: balance studies in freely moving dogs. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 37: e43-e51.
46. Brar SS, Aharonian V, Mansukhani P, Moore N, Shen AY, et al. (2014) Haemodynamic-guided fluid administration for the prevention of contrast-induced acute kidney injury: the POSEIDON randomised controlled trial. *Lancet* 383: 1814-1823.
47. Briguori C, Visconti G, Focaccio A, Airoldi F, Valgimigli M, et al. (2011) Renal Insufficiency After Contrast Media Administration Trial II (REMEDIAL II): RenalGuard System in high-risk patients for contrast-induced acute kidney injury. *Circulation* 124: 1260-1269.
48. Solomon R (2014) Forced diuresis with the RenalGuard system: impact on contrast induced acute kidney injury. *J Cardiol* 63: 9-13.
49. Ogasawara S, Mukawa H, Sone T, Tsuboi H, Morishima I, et al. (2015) Presence of myocardial hypoenhancement on multidetector computed tomography after primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction predicts poor prognosis. *Int J Cardiol* 184: 101-107.
50. Christopoulos G, Karpaliotis D, Wyman MR, Alaswad K, McCabe J, et al. (2014) Percutaneous intervention of circumflex chronic total occlusions is associated with worse procedural outcomes: insights from a Multicentre US Registry. *Can J Cardiol* 30: 1588-1594.
51. Brown JR, Solomon RJ, Sarnak MJ, McCullough PA, Splaine ME, et al. (2014) Reducing contrast-induced acute kidney injury using a regional multicenter quality improvement intervention. *Circ Cardiovasc Qual Outcomes* 7: 693-700.
52. Liu W, Wagatsuma K, Toda M, Amano H, Nii H (2011) Short- and long-term follow-up of percutaneous coronary intervention for chronic total occlusion through transradial approach: tips for successful procedure from a single-center experience. *J Interv Cardiol* 24: 137-143.
53. U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, Center for Drug Evaluation and Research (2005) Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers.

**Citation:** Ladwig M, Cantow K, Flemming B, Persson PB, Seeliger E. Comparison of the Effects of Iodixanol and Iopamidol on Urine Flow, Urine Viscosity, and Glomerular Filtration in Rats. *J Urol Nephrol*. 2015;2(1): 7.

ISSN: 2380-0585

54. Barrett BJ, Katzberg RW, Thomsen HS, Chen N, Sahani D, et al. (2006)  
Contrast-induced nephropathy in patients with chronic kidney disease

undergoing computed tomography: a double-blind comparison of iodixanol and iopamidol. *Invest Radiol* 41: 815-821.

### Acknowledgements

We thank Andrea Gerhard and Ariane Anger for expert technical assistance.

This study was in part supported by Bayer Healthcare, Berlin, Germany. All support was administered by the Faculty of Medicine (Charité), for which the investigators must adhere to the rules and guidelines of that faculty.

### 3. Übergreifende Diskussion

---

#### **3.1 Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigung**

Kontrastmittel-induzierte akute Nierenschädigungen (CIAKI) stellen eine unerwünschte Nebenwirkung der intravasalen Anwendung von iodhaltigen Röntgenkontrastmitteln (KM) dar. Diese haben eine große klinische Bedeutung, zumal die Anwendung in diagnostischen oder interventionellen Prozeduren stetig zunimmt und dabei auch der Anteil an Risikopatienten steigt. Das Risiko, an einer CIAKI zu erkranken hängt von Art und Menge des verwendeten KM, von Art und Ausmaß eventueller Begleiterkrankungen und vom Hydrierungszustand des Individuums ab. Dehydratation, entweder infolge unzureichender Flüssigkeitsaufnahme oder Einnahme von Diuretika, erhöht das Risiko einer CIAKI erheblich (Waybill and Waybill, 2001; Rihal et al., 2002; Weisbord et al., 2008; Calvin et al., 2010; Stacul et al., 2011; Seeliger et al., 2012b).

In den vergangenen Jahren konnten vermehrt pathophysiologische Mechanismen, die zur Entstehung einer CIAKI beitragen, identifiziert werden und es wurde ein recht umfassendes Bild erstellt, welches das Zusammenwirken der einzelnen Mechanismen einschließt (Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b). Dabei erwiesen sich vor allem die Minderdurchblutung und Hypoxie des Nierenmarkes als Kernelemente der Pathophysiologie der CIAKI, was eine Analogie zu akuten Nierenschädigungen anderer Genese darstellt (Heyman et al., 1988; Brezis and Rosen, 1995; Heyman et al., 1999; Liss et al., 1999a; Persson and Tepel, 2006; Tumlin et al., 2006; Seeliger et al., 2012b; Evans et al., 2013; Seeliger et al., 2014b).

Eigene Untersuchungen an Ratten hatten gezeigt (Seeliger et al., 2007), dass der Viskosität von KM-Lösungen eine wichtige pathophysiologische Rolle zukommt. Verglichen wurden dabei Lösungen des isoosmolalen, hochviskösen Iodixanol (IOCM) und des höher osmolalen, aber niedriger viskösen Iopromid (LOCM) bei gleicher Iodkonzentration (beide 320 mg Iod je mL), eine Lösung hochmolekularen Dextrans (Molekulargewicht 500.000) mit gleicher Viskosität wie Iodixanol und eine Mannitol-Lösung mit gleicher Osmolalität wie Iopromid. Die beiden hochviskösen Lösungen Iodixanol und Dextran führten zu einer Vasokonstriktion und Hypoxie im Nierenmark, die beiden höher osmolalen Lösungen Iopromid und Mannitol hingegen nicht. Während die Urinviskosität der Ratten nach Iodixanol signifikant anstieg, war dies nach Iopromid nicht der Fall; das Urinzeitvolumen nahm nach Iodixanol weniger zu als nach Iopromid. Die Befunde hinsichtlich der Urinviskosität konnten in einer kleinen Studie an Patienten, die sich einer perkutanen kardialen Intervention unterzogen, bestätigt werden (Seeliger et al., 2007). Da sowohl die Ratten als auch die untersuchten Patienten sehr gut hydriert waren, war der Anstieg der Urinviskosität nach Iodixanol moderat.



### **3.2 Die Viskosität von Kontrastmitteln ist ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung von akuter Nierenschädigung**

Die Befunde der vorliegenden Arbeit stützten die Hypothese, dass die Viskosität von KM-Lösungen ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung von CIAKI ist, insbesondere dann, wenn die Hydrierung unzureichend ist. In der klinischen Praxis sind Patienten nicht immer ausreichend hydriert (Weisbord et al., 2008). Da aus ethischen Gründen prospektive Studien an unzureichend hydrierten Patienten unmöglich sind, entschieden wir uns für tierexperimentelle Untersuchungen an Ratten, die bis zum Versuchsbeginn Wasser *ad libitum* trinken konnten. Diese euhydrierten Ratten konzentrieren ihren Urin in einem Maß, das beim Menschen eine Hydropenie signalisiert (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015*). In einer ersten Untersuchungsserie maßen wir bei diesen Ratten das Urinzeitvolumen, die Urinviskosität und mittels Kreatinin-Clearance die GFR. Diese Untersuchungsserie, wie auch die weiter unten diskutierten Studien, profitierten von einem in unserer Arbeitsgruppe entwickelten Viskosimeter (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2011; Seeliger et al., 2012a; Ladwig et al., 2015*). Klassische Viskosimeter benötigen relativ große Probenvolumina (>1 mL). Daher waren bisher keine Messungen mit ausreichender zeitlicher Auflösung bei nicht durch Infusion prähydrierten Ratten mit entsprechend niedrigem Urinzeitvolumen möglich (*Seeliger et al., 2007*). Dies wurde durch das neue Viskosimeter, das mit einem Probenvolumen von 7 µl auskommt, ermöglicht (*Seeliger et al., 2010a*). In der ersten Serie wurden die Effekte einer 1,5 mL-Bolusinjektion von Iodixanol (320 mg I/mL), dem einzigen derzeit für intravasale Applikation zugelassenen IOCM, in die thorakale Aorta mit denen von Iopromid (370 mg I/mL), einem in der Europäischen Union weit verbreiteten LOCM, verglichen (*Seeliger et al., 2010a*). Nach Iodixanol stieg die Urinviskosität sehr stark an, sie überschritt sogar die Viskosität der Iodixanol-Gebrauchslösung. Gleichzeitig kam es zu einer Abnahme der GFR um >50%; die GFR stieg erst nach circa 50 Minuten wieder auf Kontrollniveau. Demgegenüber war nach Iopromid die Zunahme der Urinviskosität wesentlich geringer und die GFR blieb unverändert. Die diuretische Wirkung des Iodixanols war viel geringer als die des Iopromids.

Die Unterschiede in der Viskosität der Gebrauchslösungen von Iodixanol 320 gegenüber Iopromid 370 (laut Herstellerangaben 9,5 versus 11,4 mPa's bei 37°C) können die Unterschiede in den von uns nach Gabe dieser KM beobachteten Urinviskositäten allein nicht erklären (*Seeliger et al., 2010a*). Für die Erklärung dieser Unterschiede muss die Osmolalität der KM-Lösungen mit in Betracht gezogen werden. KM werden glomerulär filtriert, können aber tubulär nicht rückresorbiert werden. Da sich dadurch der osmotische Gradient zwischen Tubuluslumen und Interstitium vermindert, der die treibende Kraft für die Wasserrückresorption ist, wird vermehrt Wasser in den Tubuli zurückgehalten (Abb. 4). Dieser osmodiuretische Effekt tritt bei allen KM auf, ist aber, wie die dargestellten Befunde zeigen, bei dem LOCM Iopromid wesentlich stärker als bei dem IOCM Iodixanol (*Seeliger et*

*al.*, 2010a). Die wichtigste Ursache hierfür ist die höhere Osmolalität der Iopromid 370-Lösung gegenüber der Iodixanol 320-Lösung (laut Herstellerangaben 770 versus 290 mosmol/kg H<sub>2</sub>O).

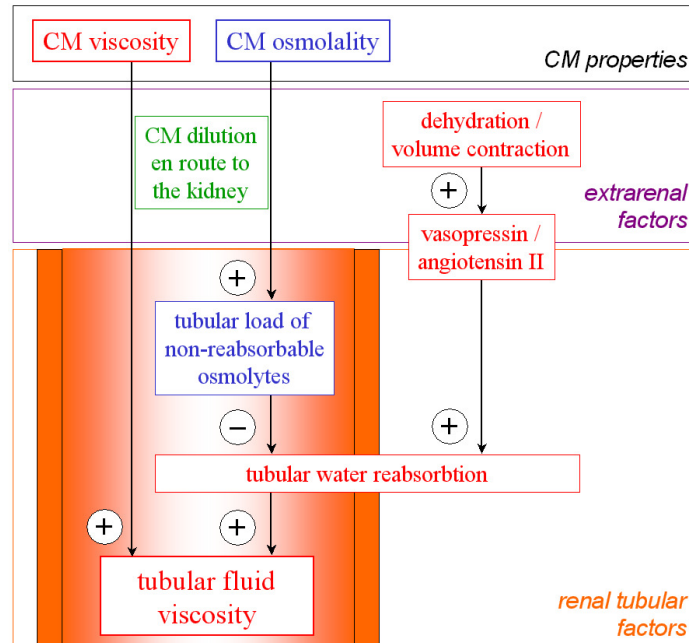


Abb. 4: Vereinfachte schematische Darstellung der wichtigsten Faktoren, welche die Viskosität nach KM-Gabe beeinflussen (Nachdruck nach Seeliger et. al., 2014)

Da KM in der Niere zwar filtriert, aber nicht rückresorbiert werden, steigt die Konzentration der KM in der tubulären Flüssigkeit in Abhängigkeit vom Ausmaß der tubulären Wasserresorption. Diese ist wiederum vom Hydrierungszustand des Organismus und von der Osmolalität des verwendeten KM abhängig. Eine stärkere diuretische Wirkung und damit verbundene geringere tubuläre Aufkonzentrierung verhindert einen exzessiven Anstieg der Urinviskosität.

Je höher die Osmolalität eines KM, desto stärker ist sein diuretischer Effekt. Je weniger Wasser dadurch tubulär resorbiert wird und im Tubulus verbleibt, desto weniger wird das KM im Tubulus aufkonzentriert (Abb. 4). Da die Beziehung zwischen molarer Konzentration und Viskosität exponentiell ist, führt schon eine kleine Verminderung der tubulären Wasserresorption zu deutlichen Abnahmen der Viskosität in Tubulusflüssigkeit und Endharn (Seeliger et al., 2014b). Hinzu kommt noch, dass reine Iodixanol-Lösung mit 320 mg I/kg H<sub>2</sub>O hypoosmolal (210 mosmol/kg H<sub>2</sub>O) ist und erst durch das Hinzufügen von Elektrolyten zu der isoosmolalen Gebrauchslösung wird (Lenhard et al., 2013; Seeliger et al., 2014b). In einer Studie mit Ratten konnte gezeigt werden, dass eine pure Iodixanol-Lösung mit 320 mg I/mL zu einer geringeren Diurese führte, als die gebrauchsfertige Handelslösung mit gleichem Iodgehalt (Lenhard et al., 2013). Es ist zu vermuten, dass ein Teil der Elektrolyte, die der

Gebrauchslösung zugesetzten wurden, in den Tubuli resorbiert wurde, wodurch die osmodiuretische Wirkung von Iodixanol-Lösung noch geringer war, als es die Osmolalität der Gebrauchslösung erwarten ließe. In derselben Studie an Ratten konnte darüber hinaus gezeigt werden, dass die Erhöhung der Osmolalität einer Iodixanol-Lösung gleichen Iodgehalts durch die Zugabe von nicht resorbierbarem Mannitol auf 610 mosmol/kg H<sub>2</sub>O zu einer verstärkten Diurese und damit zu einer Verringerung der Urinviskosität führte (Lenhard et al., 2013). Mehrere präklinische Studien, darunter auch Studien an gut hydrierten Ratten, bestätigen die Befunde, dass LOCM aufgrund ihrer höheren Osmolalität zu einer stärkeren Diurese führen als IOCM (Ueda et al., 1998; *Seeliger et al., 2007; Seeliger et al., 2010a; Jost et al., 2011; Ladwig et al., 2011; Seeliger et al., 2012a*). Die geringere tubuläre Aufkonzentrierung bei LOCM im Vergleich zu IOCM verhindert einen exzessiven Anstieg der Urinviskosität und die damit verbundene Abnahme der GFR.

Innerhalb der Klasse der monomeren LOCM unterscheiden sich die einzelnen KM durch die Art, Länge und Ausrichtung ihrer Seitenketten (Abb. 2). Dies kann zu unterschiedlichen Interaktionen zwischen den Molekülen führen und neben der Größe der einzelnen Moleküle Einfluss auf die physikochemischen Eigenschaften und dadurch ihrer Behandlung in der Niere haben. Daher haben wir in einer zweiten Studie Iopamidol 370 mg I/mL, (Viskosität laut Herstellerangaben: 9,1 mPa·s bei 37°C, Osmolalität: 796 mosmol/kg H<sub>2</sub>O), ein in Asien weit verbreitetes LOCM, bezüglich seiner Auswirkungen auf Urinviskosität, Urinzeitvolumen und GFR untersucht und ebenfalls mit Iodixanol verglichen (*Ladwig et al., 2015*). Die Befunde waren mit denen der Studie mit Iopromid 370 vergleichbar: Auch bei Iopamidol schützt die im Vergleich zu Iodixanol deutlich höhere Osmolalität und die damit verbundene niedrigere tubuläre Aufkonzentrierung vor einem exzessiven Anstieg der Urinviskosität und Abfall der GFR.

### **3.3 Mäßig erhöhte Osmolalität von Kontrastmitteln verhindert starken Anstieg der Urinviskosität**

Zwar unterscheiden sich die Viskositäten der KM-Lösungen, vor allem zwischen den KM-Klassen, erheblich, jedoch haben alle derzeit verfügbaren KM-Lösungen eine höhere Viskosität als Blutplasma (Jost et al., 2008). Auf welchen Wegen die hohe Viskosität von KM-Lösungen zur CIAKI beiträgt, konnte in den letzten Jahren vor allem durch präklinische Studien weitgehend aufgeklärt werden. Die Flussrate einer Flüssigkeit durch eine Röhre steigt mit dem Druckgradienten zwischen Beginn und Ende der Röhre und sinkt mit dem Strömungswiderstand. Nach dem Hagen-Poiseuille'schen Gesetz, welches den Volumenstrom von Newton'schen Flüssigkeiten bei laminarer Strömung in Röhren beschreibt, steigt dieser Widerstand proportional zur Viskosität der Flüssigkeit (daneben steigt er mit der Länge der Röhre und besonders mit abnehmendem Radius). Auf die Niere übertragen bedeutet das, dass ein Viskositätsanstieg der Tubulusflüssigkeit *per se* zu einer

Verringerung des Urinflusses führt. Durch den Stau der Tubulusflüssigkeit kommt es stromaufwärts zur Druckerhöhung in den Tubuli und bis zurück zur Bowman'schen Kapsel. Da die glomeruläre Filtration maßgeblich vom Gradienten des hydrostatischen Drucks zwischen glomerulären Kapillaren und Bowman-Raum getrieben wird, muss ein steigender tubulärer Druck die glomeruläre Filtration negativ beeinträchtigen, wie von uns beobachtet (*Seeliger et al., 2010a; Seeliger et al., 2014b; Ladwig et al., 2015*). Mithilfe von Mikropunktionsstudien an Rattennieren war schon früher gezeigt worden, dass IOCM den tubulären Druck deutlich mehr steigern und die Einzelnephron-GFR deutlich stärker verringert als HOCM und LOCM (Ueda et al., 1992; Ueda et al., 1993). Hier muss jedoch erwähnt werden, dass ein Abfall der GFR *per se* kein Beweis für eine Nierenschädigung ist, selbst wenn die Diagnose CIAKI an einem Abfall der GFR, der in der Klinik mithilfe des Surrogatmarkers SCrea ermittelt wird, festgemacht wird. Ein Abfall der GFR ist zunächst lediglich ein Hinweis auf eine Beeinträchtigung einer Teilfunktion der Nieren, nämlich der glomerulären Filtration.

Durch die Viskositäts-bedingte Verlangsamung des Flusses der Tubulusflüssigkeit kommt es zu einer längeren Kontaktzeit zwischen Tubulusepithelien und KM. Entsprechend den Befunden zur Urinviskosität ist die Verweildauer von KM im Tubulus bei IOCM höher als bei LOCM. Es kommt zur Retention von KM in der Niere, die z.T. mit der Bildung von KM-haltigen Vakuolen in Tubulusepithelzellen verbunden ist (Jost et al., 2008; Jost et al., 2010; Lenhard et al., 2012; Seeliger et al., 2014b). Die Folge ist eine verzögerte KM-Ausscheidung (Jost et al., 2008). Vergleichende Untersuchungen mit Iopromid-Lösung (300 mg I/ml) und Iodixanol-Lösung (320 mg I/ml) an gesunden Ratten haben gezeigt, dass die intrarenale KM-Retention desto länger währt, je höher die Viskosität und je geringer die Osmolalität des applizierten KM ist (Lenhard et al., 2012; Lenhard et al., 2013).

Parallel zu der Aufkonzentrierung der KM durch die Wasserresorption in den Tubuli werden KM auch in den Blutgefäßen des Nierenmarks aufkonzentriert. Durch die hohe osmotische Konzentration im Nierenmark wird dem Blutplasma Wasser entzogen, so dass die KM-Konzentration in den Gefäßen des Nierenmarks steigt.

### **3.4 Zytotoxische Effekte von Kontrastmitteln**

Die mit der Viskosität steigende Verweildauer der KM in den Tubuli und Markgefäßen hat u.a. zur Konsequenz, dass die KM ihre zytotoxischen Effekte länger entfalten können (Abb. 5). Zellkulturen von Tubulusepithel- und Gefäßendothelzellen wiesen Anzeichen von Zellschäden, oxidativem Stress und/oder Apoptose auf, wenn sie KM-Lösungen ausgesetzt waren (Wasaki et al., 2001; Hizoh and Haller, 2002; Heinrich et al., 2005; Sendeski, 2011). Dabei fanden sich keine Unterschiede zwischen den KM-Klassen. Die zytotoxische Wirkung könnte durch freies Iod hervorgerufen werden, das z.B. durch Photolyse (Eloy et al., 1991) infolge langer Lagerzeiten oder Lichtexposition von KM freigesetzt werden kann (Fanning et

al., 2002). Freies Iod wirkt bereits in kleinsten Mengen hochgradig zytotoxisch auf menschliche Zellen und Bakterien (Lineaweaver et al., 1985; Fanning et al., 2002; Sendeski, 2011), weshalb es auch in Desinfektionsmitteln verwendet wird.

Wie *in vitro* Studien an isolierten Gefäßen zeigten, führen direkte KM-Effekte zur Schädigung von Gefäßendothelzellen und zu einer Vasokonstriktion verschiedener intrarenaler Gefäße einschließlich der Vasa recta (Sendeski et al., 2009; Seeliger et al., 2012b; Sendeski et al., 2012). Es ist sehr wahrscheinlich, dass diese direkte KM-Wirkung einen Beitrag zu der *in vivo* beobachteten Verringerung der Durchblutung des Nierenmarks leistet (Seeliger et al., 2007; Heyman et al., 2008; Seeliger et al., 2012b) (Abb. 5). KM können auch auf indirektem Wege zur Vasokonstriktion führen. In *in vitro* und *in vivo* Studien konnte dargestellt werden, dass KM die Epithelzellen der Nierentubuli schädigen (Messana et al., 1990; Galtung et al., 2001; Heinrich et al., 2005; Seeliger et al., 2012b; Sendeski et al., 2012). Dies ist wahrscheinlich mit der Freisetzung parakriner Faktoren verbunden, die eine Änderung des Verhältnisses zwischen vasoaktiven Substanzen in Richtung einer verstärkten Vasokonstriktion verursacht. Eine Gruppe dieser Faktoren sind Sauerstoffradikale (reactive oxygen species, ROS). Diese werden als Nebenprodukt des Zellmetabolismus u.a. in den Mitochondrien von Tubulusepithel-Zellen gebildet und sind an der Signalübertragung zwischen Zellen im Zusammenhang mit der Regulation tubulärer Transportvorgänge und medullärer Mikrozirkulation beteiligt (Schnackenberg, 2002; Evans and Fitzgerald, 2005; Mori et al., 2007).

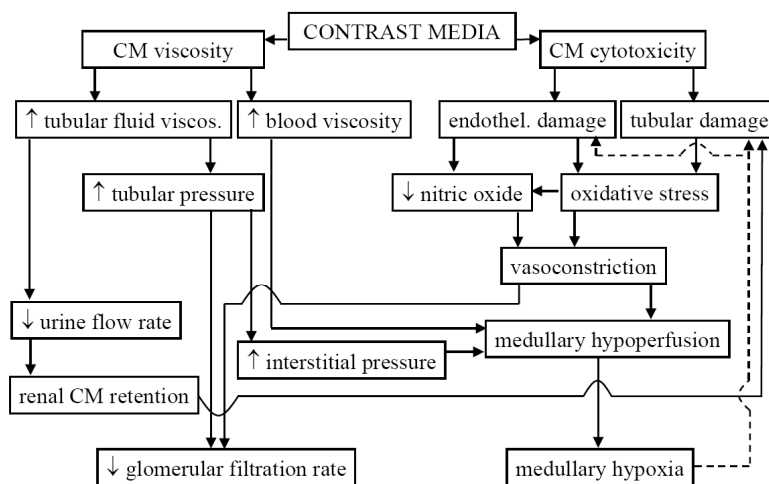


Abb. 5: Vereinfachte schematische Abbildung zu den wesentlichen pathophysiologischen Mechanismen der Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung (modifiziert nach Seeliger et al., 2014b). Im linken Teil der Graphik sind vor allem die viskositätsabhängigen tubulären Effekte von KM und deren Einfluss auf die GFR dargestellt, während sich im rechten Teil der Graphik vorwiegend die zytotoxischen Effekte auf die Durchblutung und Sauerstoffversorgung der Niere finden. Die durchbrochenen Pfeile auf der rechten Seite stellen den *Circulus vitiosus* von Zellschäden, die über Vasokonstriktion zu medullärer Hypoxie führen, welche wiederum zu weiteren Zellschäden usw. führt, dar.

Medulläre Hypoxie führt zu einer vermehrten Bildung von ROS und oxidativem Stress (Aliev et al., 2003; Heyman et al., 2010; Liu et al., 2012; Sendeski et al., 2012; Seeliger et al., 2014b) (Abb. 5), wodurch es zu Zellschäden bis hin zum Zelluntergang (Apoptose) kommt. Bei dehydrierten Tieren konnte darüber hinaus auch eine verringerte Aktivität von ROS-abbauenden Enzymen beobachtet werden, was die Anfälligkeit für die schädliche Wirkung von ROS noch erhöht (Yoshioka, 1992).

Eine erhöhte ROS-Konzentration führt zu einer Kontraktion der die Vasa recta umgebenden Perizyten (Sendeski et al., 2012; Kennedy-Lydon et al., 2013; Seeliger et al., 2014b) und damit zu Vasokonstriktion (Abb. 5).

Zu einer Vasokonstriktion trägt auch eine verringerte Synthese von vasodilatatorisch wirkendem Stickstoffmonoxid (NO) durch NO-Synthetasen bei (Sendeski et al., 2009; Heyman et al., 2010; Liu et al., 2012; Sendeski et al., 2012; Seeliger et al., 2014b) (Abb. 5).

Die zu den ROS zählenden Superoxid-Anionen haben eine große Affinität zu NO und so wird ein Teil des in den Gefäßendothelien gebildeten NO durch ROS gebunden (Szabo et al., 2007). Beide Mechanismen führen zu einer verminderten Bioverfügbarkeit von NO in der Niere und darüber zu stärkerer Vasokonstriktion und Hypoxie. Die Hypoxie verstärkt ihrerseits die Schädigung der Endothel- und Tubulusepithelzellen und so entsteht, wie bereits im Kapitel 1.1 beschrieben, ein *Circulus vitiosus* (Seeliger et al., 2012b; Seeliger et al., 2014b) (Abb. 5). Aufgrund dieser Überlegungen wurden in eigenen Untersuchungen die Effekte einer gezielten Erhöhung der NO-Bioverfügbarkeit in der Niere auf die renale Hämodynamik und Oxygenierung nach KM-Gabe untersucht. Die an Ratten durchgeführte Studie zeigte, dass die Infusion niedrig dosierter Nitrit-Lösung die durch Iodixanol hervorgerufene Minderdurchblutung und Hypoxie des Nierengewebes deutlich abschwächt (Seeliger et al., 2014a). Da die Gabe von NO-Donatoren wie Nitroprussid oder Nitroglycerin mit dem Risiko einer generalisierten Vasodilatation und somit einem kritischen Blutdruckabfall behaftet ist, wurde ein alternativer Weg der NO-Bildung gewählt. Neben der Bildung durch NO-Synthetasen, kann NO auch mithilfe von Hämoglobin und anderen Proteinen gebildet werden, die als Nitrit-Reduktase wirken. Die Nitrit-Reduktase-Aktivität des Hämoglobins ist allosterisch reguliert, die höchste Aktivität findet sich bei einer Sauerstoffsättigung von 50%, d.h. in hypoxischer Umgebung. Nitrit führt nicht *per se* zu Vasodilatation. Da es nur in hypoxischer Umgebung zu NO reduziert wird, kann es gezielt in Regionen wie dem hypoxischen Nierenmark „bei Bedarf“ seine vasodilatatorische Wirkung entfalten (Gladwin, 2006; Gladwin et al., 2009; Calvert and Lefer, 2010; Zweier et al., 2010; Pluta et al., 2011; Seeliger et al., 2014a). Diese Hypothese wurde durch eigene Untersuchungen bestätigt. Die Infusion von niedrig dosierter Nitrit-Lösung könnte demnach eine spezifische Maßnahme zur Prävention der CIAKI darstellen.

Neben den bereits diskutierten Mechanismen bewirken noch zwei weitere die beobachtete Minderperfusion des Nierenmarks. Erstens wird, wie in Kapitel 3.3 erwähnt, dem Blutplasma

in den Markgefäßen Wasser entzogen, wodurch dort die KM aufkonzentriert werden. Wegen der exponentiellen Konzentrations-Viskositäts-Beziehung muss damit dort auch die Viskosität des Blutes deutlich ansteigen (Abb. 5). Der dadurch erhöhte Strömungswiderstand behindert die Perfusion. Dass dieser Effekt eine Rolle bei der KM-induzierten renalen Minderdurchblutung spielt, konnte in 2007 durchgeführten Untersuchungen nachgewiesen werden (*Seeliger et al., 2007*). Ratten wurde entweder eine Iodixanol-Lösung oder eine Dextran 500.000-Lösung, die in ihrer Viskosität der von Iodixanol-Lösung entsprach, injiziert. Die Verabreichung beider hochvisköser Lösungen führten zu länger anhaltender medullärer Hypoperfusion und Hypoxie. Da hochmolekulares Dextran mit einer Molekülmasse von 500 kDa nicht glomerulär filtrierte werden kann, stieg hier die Urinviskosität auch nicht an. Die Minderdurchblutung des Nierenmarks konnte hier also nicht durch eine hohe Viskosität der tubulären Flüssigkeit hervorgerufen werden. Da dem Blut in den absteigenden Vasa recta durch Filtration im Glomerulum bereits Wasser entzogen wurde und beim Durchfließen der hochosmotischen Umgebung im Nierenmark vermutlich auch in den absteigenden Gefäßteilen ein Konzentrationsprozess stattfindet, bei dem ein Teil des Plasmawassers, getrieben vom osmotischen Gradienten, aus den Gefäßen in das hypertone Interstitium übertritt, ist eine Anreicherung von KM innerhalb der Gefäße nicht auszuschließen, was zu einem Anstieg der Viskosität des Blutes führen könnte. Die Verabreichung von zwei höher osmotischen Lösungen (Iopromid und Mannitol) beeinträchtigten den medullären Blutfluss und den Sauerstoffpartialdruck ( $pO_2$ ) nicht (*Seeliger et al., 2007*).

Zweitens muss der viskositätsbedingte Anstieg des intratubulären Drucks zu einer zirkumferenziellen Dehnung der Tubuli führen. Angesichts der Tatsache, dass die Niere von einer wenig nachgiebigen Kapsel umgeben ist, kann, wie von uns mittels Magnetresonanztomographie (MRI) an Ratten beobachtet (*Arakelyan et al., 2013*), die daraus folgende Volumenzunahme der Niere nur gering sein. Wie von uns mittels Nahinfrarot-Spektroskopie (NIRS) beobachtet (*Niendorf et al., 2015*), geht die Volumenzunahme der Tubuli vor allem zu Lasten der Blutgefäße. Es ist davon auszugehen, dass so auch die medullären Vasa recta komprimiert werden und damit der medulläre Blutfluss weiter behindert wird (Abb.5).

Wie bereits erwähnt, sind reduzierter Blutfluss und Oxygenierung besonders im Nierenmark entscheidende pathophysiologische Elemente der CIAKI. Untersuchungen an Ratten (*Liss et al., 1998; Lancelot et al., 1999; Liss et al., 1999a; Seeliger et al., 2007; Seeliger et al., 2014a*) bestätigen die Beobachtung einer Hypoperfusion und Hypoxie des Nierenmarks nach der Injektion von Iodixanol (IOCM), die nach der Gabe von LOCM nicht oder zumindest deutlich schwächer ausgeprägt war. Studien mit Hunden zeigten einen deutlichen Abfall der medullären Perfusion und Oxygenierung nach Injektionen des LOCM Ioxaglat sowie des IOCM Iodixanol in die Nierenarterie, die aber nach Iodixanol deutlich länger andauerten (*Lancelot et al., 2002*). In den genannten Studien wurden invasive Messungen des  $pO_2$  mittels

Clark-Elektroden oder Fluoreszenz-Quenching-Sonden vorgenommen, die in das Nierengewebe vorgeschoben wurden. Derartige Messungen liefern kalibrierte quantitative Ergebnisse, aber sie bilden den  $pO_2$  in einem nur sehr kleinen, die Messsonde umgebenden Teil des Nierengewebes ab. Da der  $pO_2$  im Nierengewebe räumlich sehr stark variiert, sind diese Messmethoden nicht optimal (Schurek, 1988; Evans et al., 2008; Pohlmann et al., 2013). Funktionelle MRI-Techniken, wie das blood oxygen level-dependent (BOLD) MRI liefern einen genaueren räumlichen Überblick (Pohlmann et al., 2013; Niendorf et al., 2015). In kürzlich durchgeführten Untersuchungen konnte mithilfe dieser Technik in Studien an Ratten ein kurzer vorübergehender Anstieg gefolgt von einem deutlichen Abfall der medullären Oxygenierung nach der Gabe von Iodixanol dargestellt werden (Li et al., 2012; Arakelyan et al., 2013; Lenhard et al., 2013). Andere BOLD-Studien wurden an Kaninchen und Schweinen durchgeführt. Sie fanden Beeinträchtigungen der Oxygenierung in unterschiedlichen Bereichen des Nierenmarks (innerer versus äußerer Streifen des äußeren Nierenmarks) nach KM-Gabe (Haneder et al., 2012; Zhang et al., 2012). Auch die mittels BOLD-MRI erhobenen Befunde bestätigen, dass die Verabreichung hochvisköser, isoosmolaler KM zu schwerwiegenderer Beeinträchtigung der Oxygenierung des Nierenmarks führt als die Verabreichung niedrig visköser, höher osmolaler KM (Haneder et al., 2012; Li et al., 2012; Lenhard et al., 2013).

Angesichts der oben beschriebenen Befunde, denen zufolge die gegenüber Blutplasma moderat erhöhte Osmolalität der LOCM im Vergleich zu IOCM eine renoprotektive Wirkung entfaltet, stellt sich die Frage, warum die erste KM-Generation, die HOCM, mit einer zumindest bei Risikopatienten höheren CIAKI-Inzidenz verbunden war als die LOCM.

Hyperosmolale Lösungen führen im Gewebe grundsätzlich zu Zellschrumpfung. Im Nierenmark aber, welches die am meisten gefährdete Region für die Entstehung von CIAKI ist, befinden sich die Zellen ständig in einer hochosmolalen Umgebung (äußeres Mark bis zu 600 mosmol/kg, inneres Mark bis zu 1200 mosmol/kg beim Menschen), so dass direkte Schäden durch zu hohe Osmolalität nur zu erwarten sind, wenn die Tubulusflüssigkeit gegenüber dem Gewebe hyperosmolal ist. Es konnten tatsächlich Zusammenhänge zwischen der Osmolalität von KM und der Entwicklung von Nierenschäden beobachtet werden, jedoch nur bei HOCM, deren Osmolalität 800 mosmol/kg überstieg und bis zu 2500 mosmol/kg reichte (Pannu et al., 2006; Calvin et al., 2010; Seeliger et al., 2014b). Das könnte die Erklärung für das vermehrte Auftreten von CIAKI nach der Anwendung von HOCM sein. Allerdings wurde bisher beim Menschen nie untersucht, ob die Harnosmolalität nach HOCM tatsächlich so hohe Werte erreicht (Seeliger et al., 2014b).

Eine weitere Erklärungsmöglichkeit für das Auftreten einer medullären Hypoxie wäre ein gesteigerter Sauerstoffverbrauch im Nierenmark durch die erhöhte Arbeitsbelastung der sauerstoffabhängigen Transportprozesse der Tubuluszellen (Heyman et al., 1991). Diese These wird gestützt durch die Beobachtung, dass Furosemid, welches den Sauerstoff



abhängigen Transport verringert, zu einer Abschwächung der durch das HOCM Iothalamat induzierten medullären Hypoxie bei Ratten führte (Heyman et al., 1991). Dagegen wurde ein solcher Effekt nach Gabe des LOCM Iopromid nicht beobachtet (Liss et al., 1999b). Schließlich beeinflusst erhöhte Osmolalität noch die Verformbarkeit von Erythrozyten, was es diesen schwerer machen könnte, durch die engen Vasa recta zu fließen und somit letztlich zu einer schlechteren Sauerstoffversorgung in diesem Bereich der Niere führt. Nicht zuletzt gibt es Vermutungen, dass die elektrische Ladung von HOCM für ihre nierenschädliche Wirkung ausschlaggebender ist, als ihre hohe Osmolalität (Liss et al., 1996).

### **3.5 Strategien zur Verhinderung einer Kontrastmittel-induzierten akuten Nierenschädigung**

In den letzten 15 Jahren wurden zahlreiche Strategien zur Prävention von CIAKI entwickelt, in klinischen Studien geprüft und in Meta-Analysen bewertet (Briguori and Marenzi, 2006; Van Praet and De Vriese, 2007; Bartorelli and Marenzi, 2008; Kelly et al., 2008; Venkataraman, 2008; Weisbord and Palevsky, 2008; Calvin et al., 2010; Weisbord and Palevsky, 2010b; Stacul et al., 2011). Die hierbei untersuchten pharmakologischen Ansätze umfassten Calcium-Antagonisten, Adenosin-Antagonisten, N-Acetylcystein, Prostaglandin-Analoga, L-Arginin, Statine, atriales natriuretisches Peptid (ANP), Endothelin-Antagonisten, Dopamin, Fenoldopam, hypertones Mannitol und Furosemid (Seeliger et al., 2012b). Für keine dieser Substanzen wurden übereinstimmend positive Effekte auf die Inzidenz von CIAKI berichtet. Einige Substanze, wie z.B. Endothelin-Antagonisten und Furosemid wurden sogar als schädlich eingestuft. Eine mögliche, allerdings noch nicht sicher zu bewertende Ausnahme könnte hoch dosiertes N-Acetylcystein sein (Marenzi et al., 2006; Trivedi et al., 2009). Keiner der pharmakologischen Ansätze hat sich bisher in der klinischen Anwendung durchgesetzt, ebenso wie keiner Eingang in die aktuellen Leitlinien zum Einsatz von KM gefunden hat (Thomsen and Morcos, 2003; Barrett and Parfrey, 2006; Stacul et al., 2011; Seeliger et al., 2012b; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015). Eine Erklärung für die uneinheitlichen Ergebnisse liegt sicher in der Wahl des unzulänglichen Biomarkers SCrea als Endpunkt der allermeisten klinischen Studien. Hinzu kommt auch die Uneinheitlichkeit der Studien, sowohl was die Durchführung als auch die Zusammensetzung der Patientengruppen betrifft.

#### 3.5.1 Volumenexpansion

##### 3.5.1.1 Volumenexpansion mit NaCl-Lösung

Im Unterschied zu den uneinheitlichen Befunden pharmakologischer Maßnahmen zur Prävention der CIAKI gibt es eine weitgehende Übereinstimmung in der Sicht auf die grundsätzlich positiven Effekte von Hydrierung bzw. Volumenexpansion, und folgerichtig

wird sie in allen aktuellen Leitlinien dringend empfohlen (Stacul et al., 2011; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015).

In den eigenen Studien wurden die Effekte der Hydrierung bzw. Volumenexpansion mittels NaCl-Infusionen hinsichtlich ihrer renoprotektiven Wirkung bei Injektionen der LOCM Iopromid und Iopamidol sowie des IOCM Iodixanol an Ratten untersucht. Dabei zeigte sich, dass die Hydrierung durch Infusion der NaCl-Lösung den Anstieg der Urinviskosität nach Iodixanol deutlich abmildert und die Dauer des beobachteten GFR-Abfalls verringert (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015*).

Die Ergebnisse dieser Studien liefern eine plausible Erklärung hinsichtlich der Mechanismen, die der schützenden Wirkung durch die Hydrierung bzw. Volumenexpansion zugrunde liegen. Je weniger ein Organismus hydriert ist, desto stärker stimulieren Regulationsmechanismen, die der Erhaltung des Flüssigkeitsvolumens dienen, allen voran das Renin-Angiotensin-Aldosteron System und das antidiuretische Hormon, die tubuläre Flüssigkeitsresorption (Berl and Robertson, 2000; Reinhardt and Seeliger, 2000; *Seeliger et al., 2010b*). Daher hängt das Ausmaß, in dem KM entlang der Tubuli angereichert werden, vom Hydrierungs- bzw. Volumenstatus des Individuums ab (Abb. 4). Durch die mit der Infusion von NaCl-Lösung verbundene Volumenexpansion wird die Aktivität der Volumen-konservierenden Regelmechanismen und dadurch die tubuläre Flüssigkeitsresorption vermindert. Dies spiegelt sich in einem gegenüber den nicht *per infusionem* hydrierten Ratten deutlich höheren Urinzeitvolumen wider (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015*). Die damit einhergehende, geringere Aufkonzentrierung der KM in der Tubulusflüssigkeit führt aufgrund der exponentiellen Beziehung zwischen Konzentration und Viskosität zu einer gegenüber den nicht *per infusionem* hydrierten Ratten stark verminderten Urinviskosität nach Iodixanol-Gabe. Die geringere Viskosität der Tubulusflüssigkeit behindert die glomeruläre Filtration weniger und folgerichtig war der Abfall der GFR nach Iodixanol bei den mit NaCl-Infusion hydrierten Ratten zwar nicht völlig verhindert, aber deutlich abgemildert (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015*). Ein erhöhter Urinfluss beschleunigt zudem die Ausscheidung der KM und reduziert somit die Intensität und Dauer, mit der die Tubulusepithelzellen der zytotoxischen Wirkung der KM ausgesetzt sind. Nach Iopromid und Iopamidol, den beiden untersuchten LOCM, sind diese Effekte, wenn überhaupt beobachtbar, deutlich schwächer ausgeprägt, da sie aufgrund ihrer höheren Osmolalität *per se* stärker diuretisch wirken als Iodixanol (*Seeliger et al., 2010a; Ladwig et al., 2015*). Daraus ist zu schlussfolgern, dass besonders Individuen, denen Iodixanol verabreicht wird, von ausreichender Hydrierung profitieren.

Besondere Bedeutung hat die Empfehlung ausreichender Hydrierung im Zusammenhang mit der Untersuchung älterer Menschen, die einen großen Teil derjenigen Patienten ausmachen, die sich einer KM-gestützten Untersuchung unterziehen müssen. Wegen des im Senium oft vermindert ausgeprägten Durstgefühls sind bei diesen Patienten Zustände von Dehydratation

nicht selten (Kenney and Chiu, 2001). Hinzu kommt, dass bei ihnen häufiger mit Begleiterkrankungen wie zum Beispiel Diabetes mellitus zu rechnen ist, die das CIAKI-Risiko erhöhen (Bagshaw and Culleton, 2006; Calvin et al., 2010). Patienten, die sich wegen eines akuten kardialen Notfalls einer ungeplanten perkutanen kardialen Intervention unterziehen müssen, stellen ebenfalls eine besondere Herausforderung dar. Hier sind häufig große Mengen von KM nötig und eine umfassende Prähydrierung der Patienten u.a. aus Zeitgründen oft nicht möglich (Seeliger et al., 2012b).

Die zweite allgemein akzeptierte CIAKI-Präventionsmaßnahme ist die Beschränkung der verwendeten KM-Menge auf das unabweisbare Minimum (Stacul et al., 2011; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015). Im Jahr 2010 wurde in einer der vorgestellten Studien der Einfluss der verabreichten Menge des hochviskösen KM Iodixanol an Ratten untersucht (Seeliger et al., 2010a). Die Reduzierung der KM-Menge auf 0,75 mL Iodixanol 320 mg Iod/ml, d.h. die Hälfte der sonst in unseren Studien an Ratten verwendeten Dosis, führte zu einem deutlich abgeschwächten Anstieg der Urinviskosität und schwächte den GFR-Abfall signifikant gegenüber den Tieren ab, die 1,5 mL Iodixanol 320 erhalten hatten.

### 3.5.1.2 Volumenexpansion mit Natriumbikarbonat-Lösung

Die Frage, welche Art der Hydrierung am besten für die Prävention von CIAKI geeignet ist, wird von den Leitlinien diskutiert (Stacul et al., 2011; Ohno et al., 2013; American College of Radiology, 2015). Hierzu gehören die Infusion von isotonischer oder hypotoner (0,45%) NaCl-Lösung, von Natriumbikarbonat( $\text{NaHCO}_3$ )-Lösung oder die orale Wasseraufnahme. Mit dem Hinweis auf unzureichende Evidenz – vermutlich aus den gleichen Gründen, wie bei den zahlreichen pharmakologischen Präventionsmaßnahmen – wird die Frage jedoch nicht abschließend beantwortet. Präklinische Studien, die unter standardisierten Bedingungen durchgeführt werden und deren Bewertung von Hydrierungsregimen auf der direkten GFR-Messung beruht, können hier helfen, Licht ins Dunkel zu bringen.

Umstritten ist, ob die Infusion von  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung gegenüber der Infusion von NaCl-Lösung Vorteile hat. Einige klinische Studien berichten von vorteilhafter Wirkung von  $\text{NaHCO}_3$  bei der CIAKI-Prävention (Masuda et al., 2007; Ozcan et al., 2007; Recio-Mayoral et al., 2007; Pakfetrat et al., 2009; Tamura et al., 2009), während diese in anderen Studien nicht nachgewiesen werden konnte und eine Studie sogar eine höhere Inzidenz von CIAKI bei Patienten auswies, die mit  $\text{NaHCO}_3$ -Lösung hydriert wurden (Adolph et al., 2008; Brar et al., 2008; From et al., 2008; Maioli et al., 2008; Schmidt et al., 2007). Meta-Analysen von klinischen Studien legen eine geringere Rate an CIAKI nahe, soweit als Endpunkt nur der Anstieg der SCrea betrachtet wird. Allerdings konnte kein Vorteil bezüglich „harter“ Endpunkte, wie z.B. die Erfordernis einer Dialysetherapie, dargelegt werden (Hogan et al., 2008; Kanbay et al., 2009; Meier et al., 2009; Navaneethan et al., 2009; Ladwig et al., 2011; Stacul et al., 2011; Seeliger et al., 2012b).

In einer Studie an Ratten wurde daher untersucht, ob  $\text{NaHCO}_3$ - im Vergleich zu  $\text{NaCl}$ -Infusion stärkere Effekte auf Urinfluss, Urinviskosität und GFR nach KM-Gabe (wiederum Iodixanol 320 und Iopromid 370) hat (Ladwig et al., 2011). Die Ergebnisse zeigten keine signifikanten Unterschiede zwischen beiden Infusionslösungen bezüglich aller untersuchten Kennwerte und beider KM und somit auch keine Überlegenheit von  $\text{NaHCO}_3$  gegenüber  $\text{NaCl}$  in der Vorbeugung von CIAKI.

Als Mechanismus für die vermutete Nieren-protective Wirkung einer  $\text{NaHCO}_3$ -Infusion wurde neben der Volumenexpansion ein Verringerung der Bildung von ROS und die Alkalisierung der Tubulusflüssigkeit vermutet (Heyman et al., 2010; Seeliger et al., 2012b). Das Ausmaß der Resorption von  $\text{NaHCO}_3$  im proximalen Tubulus ist wesentlich größer als das von  $\text{NaCl}$  (DuBose, Jr., 1990). Somit ist seine Konzentration weiter distal nur noch sehr gering, so dass  $\text{NaHCO}_3$  dort, wo seine physikochemischen Wirkungen wünschenswert wären, vermutlich keine mehr entfalten kann. Angesichts dieser Überlegungen mag der fehlende Nachweis einer gegenüber  $\text{NaCl}$  überlegenen Wirkung von  $\text{NaHCO}_3$  für die Prävention von CIAKI nicht überraschen. Die erhobenen Daten belegen, dass in erster Linie die isotone Volumenexpansion *per se* einen schützenden Effekt gegenüber einem starken Anstieg der Urinviskosität und dem GFR-Abfall nach Iodixanol-Gabe ausübt (Ladwig et al., 2011).

### 3.5.2 Osmotische Diurese kombiniert mit gleichzeitiger Volumenexpansion

Eine noch stärkere diuretische Wirkung als durch Volumenexpansion kann durch Osmodiuretika erzeugt werden. Studien in denen hypertone Mannitol-Lösung eingesetzt wurde zeigten allerdings, dass deren starke osmодиuretische Wirkung zu einer Volumenkontraktion führt und damit letztlich eher schädlich als hilfreich in Bezug auf die Prävention von CIAKI war (Solomon et al., 1994; Stevens et al., 1999; Seeliger et al., 2012b). In einer Proof of principle-Studie wurde die Hypothese geprüft, ob die Kombination aus forcierter Diurese durch nicht hypertone Mannitol-Lösung bei gleichzeitiger nachhaltiger Volumenexpansion einen Beitrag zur Abschwächung KM-bedingter Nierenschäden durch hochvisköse KM leisten kann (Seeliger et al., 2012a). Es wurde eine höhere Infusionsrate für die Glukose-Mannitol-Lösung als für die  $\text{NaCl}$ -Lösung gewählt, um den Volumenverlust durch die starke osmotische Wirkung von Mannitol auszugleichen. Die Verabreichung der Glukose-Mannitol-Lösung führte erwartungsgemäß zu einem wesentlich höheren Urinfluss als die  $\text{NaCl}$ -Lösung. Gleichzeitig war sie mit anhaltender Volumenexpansion verbunden, wie an der Differenz von Volumenzufuhr und Urinvolumen sowie am Hämatokrit ersichtlich war. Dank des starken diuretischen Effekts der Glukose-Mannitol-Lösung wurde der Anstieg der Urinviskosität nach Iodixanol-Gabe im Vergleich zu  $\text{NaCl}$ -Infusion stark abgeschwächt und der Abfall der GFR wurde vollständig verhindert. Die Unterschiede zwischen den beiden Hydrierungsregimen waren bei Iopromid-Gabe wiederum viel weniger ausgeprägt, da

Iopromid aufgrund seiner höheren Osmolalität an sich schon zu einem geringeren Anstieg der Urinviskosität und nicht zu einem GFR-Abfall führt (*Seeliger et al., 2012a*).

Obwohl die beschriebene Glukose-Mannitol-Lösung *in vitro* leicht hyperosmolal ist (354 mosmol/kg H<sub>2</sub>O), darf davon ausgegangen werden, dass die verabreichte Lösung *in vivo* hypoton wirkt (Sircar, 2007), da ein beträchtlicher Anteil der Glucose relativ schnell metabolisiert wird (Sacca et al., 1976; Jacot et al., 1982; Kelley et al., 1988; Proietto et al., 1987; Vicini et al., 1997). Dies spiegelt sich in dem beobachteten leichten Abfall der Plasmaosmolalität unter Glukose-Mannitol-Infusion wider (*Seeliger et al., 2012a*).

Die Infusionsrate für die Glukose-Mannitol-Lösung wurde aufgrund eigener Vorergebnisse zum Ausmaß des diuretischen Effekts der KM und des osmodiuretischen Effekts des infundierten Mannitols inklusive einer Sicherheits-Marge mit 12 ml/kg Körpermasse pro Stunde so gewählt, dass auf keinen Fall eine Volumenkontraktion erfolgen konnte. Die Infusion solch hoher Flüssigkeitsmengen mag nachvollziehbare Bedenken auslösen, wenn man z.B. an die vielen Patienten mit Herzinsuffizienz denkt (Parfrey, 2005; Bagshaw and Culleton, 2006). In einer jüngst veröffentlichten Studie wurde bei Patienten, die an kongestivem Herzversagen litten und sich einer perkutanen kardialen Intervention unterzogen, NaCl-Lösung mit einer Infusionsrate zwischen 1,5 - 5 mL/kg Körpermasse pro Stunde infundiert (Brar et al., 2014). Die individuelle Infusionsrate wurde entsprechend dem direkt gemessenen enddiastolischen Druck im linken Ventrikel, einem hämodynamischen Kennwert, der mit dem intravasalen Volumenstatus korreliert, angepasst. Die Kontrollgruppe erhielt ein Standardinfusionsregime von 1,5 mL NaCl-Lösung/kg Körpermasse pro Stunde. Patienten mit vorbestehender dekompensierter Herzinsuffizienz oder schweren Herzklappenerkrankungen wurden nicht in die Studie aufgenommen. Bei den in die Studie eingeschlossenen Patienten kam es, trotz der vorbestehenden kompensierten Herzinsuffizienz, auch mit den großen Infusionssvolumina nicht zu kardialen Zwischenfällen. Bemerkenswerterweise war die CIAKI-Inzidenz umso niedriger, je mehr NaCl infundiert wurde. Die individuell, gemäß dem gemessenen linksventrikulären enddiastolischen Druck hydrierten Patienten erlebten außerdem in den auf die Intervention folgenden 6 Monate weniger häufig schwere unerwünschte Ereignisse wie Herzinfarkte und hatten eine niedrigere Mortalitätsrate als die Patienten der Kontrollgruppe. Besorgnisse bezüglich der Eignung der Methode bei kompensierter Herzinsuffizienz scheinen daher unbegründet, allerdings nur, wenn der enddiastolische Blutdruck überprüft wird, was routinemäßig im Zusammenhang mit KM-Gabe nur bei Herzkatheter-Untersuchungen erfolgt (Brar et al., 2014).

Ein großer Anteil der Patienten, die sich kardialen Interventionen unterziehen, leidet an Diabetes mellitus (Parfrey, 2005; Bagshaw and Culleton, 2006). Für diese Patienten ist eine Infusion mit Glukose-Mannitol-Lösung, jedenfalls eine mit relativ hoher Infusionsrate, problematisch. Dazu kommt, dass die metabolische Clearance von Glukose beim Menschen (Jacot et al., 1982; Kelley et al., 1988; Vicini et al., 1997) geringer ist als bei der Ratte (Sacca

et al., 1976; Proietto et al., 1987). Wenn dennoch eine Infusion von Glukose-Mannitol-Lösung bei Diabetikern erwogen würde, so müsste sicher eine niedrigere Infusionsrate (*Seeliger et al., 2012a*) und eine begleitende Insulingabe in Betracht gezogen werden.

Schon sehr früh wurde das renoprotektive Potenzial des Schleifendiuretikums Furosemid zur CIAKI-Prävention untersucht; im Ergebnis wurde Furosemid-Gabe jedoch als ein CIAKI-Risiko bewertet (Solomon et al., 1994; Stevens et al., 1999; Kelly et al., 2008; Stacul et al., 2011; Weisbord and Palevsky, 2010b). Ähnlich wie für die hypertone Mannitol-Lösung beschrieben, führt die Furosemid-Gabe zu einer Kontraktion des Extrazellulärvolumens, wenn dem nicht durch adäquaten Volumenersatz entgegen gewirkt wird. Daher verbindet eine technische Neuentwicklung (RenalGuard®) die forcierte Diurese durch Furosemid mit kontrollierter Hydrierung. Mithilfe eines servokontrollierten Gerätes wird die Infusionsrate von NaCl-Lösung entsprechend dem Urinzeitvolumen automatisch angepasst. So wird eine ausreichende Volumenexpansion unter durch Furosemid forcierter Diurese sichergestellt. Auf diese Weise konnte die CIAKI-Inzidenz deutlich gesenkt werden (Briguori et al., 2011; Marenzi et al., 2011; Solomon, 2014).

### **3.6 Übertragbarkeit der Studienergebnisse auf den Menschen**

Bei der Interpretation der hier vorgelegten Befunde muss berücksichtigt werden, dass die Untersuchungen an gesunden Ratten durchgeführt wurden. Euhydrierte Ratten konzentrieren ihren Urin in einem Ausmaß ( $> 900$  mosmol/kg) (Bozinovic and Gallardo, 2006), das beim Menschen Anzeichen für einen hydropenischen Zustand ist (Rapoport et al., 1949; Manz and Wentz, 2003). Die grundlegenden Mechanismen der Harnbildung und Harnkonzentrierung unterscheiden sich zwischen Ratten und Menschen nicht, gleiches gilt für die Behandlung der KM in der Niere. Die euhydrierte Ratte unterscheidet sich jedoch vom dehydrierten Menschen wesentlich im Aktivierungsgrad der Mechanismen, die der Aufrechterhaltung des extrazellulären Flüssigkeitsvolumens dienen: diese sind in einem hydropenischen Organismus viel stärker aktiviert (Berl and Robertson, 2000; Reinhardt and Seeliger, 2000; Seeliger et al., 2010). Da Dehydratation einen wesentlichen Risikofaktor für die Entstehung von CIAKI darstellt, sind prospektive klinische Studien, die Menschen wesentlich diesem Risiko aussetzen, ethisch nicht vertretbar. Daher sind Ratten, die physiologischer Weise ihren Urin in höherem Maße konzentrieren, das vermutlich optimale tierexperimentelle Modell für einen Zustand, der bei Patienten im klinischen Alltag nicht selten ist.

Durch die KM-Injektion in die thorakale Aorta sollte die klinische Situation einer perkutanen kardialen Intervention modelliert werden. Die verwendete KM-Dosis lag eher im niedrigen Bereich dessen, was Patienten verabreicht bekommen, die sich derartigen Eingriffen unterziehen (Liu et al., 2011; Brown et al., 2014; Ogasawara et al., 2015). Dies trifft insbesondere zu, wenn die Berechnung bezogen auf die Körperoberfläche erfolgt, so wie es für den Vergleich zwischen Spezies bei der Untersuchung unerwünschter Nebenwirkungen

von den Aufsichtsbehörden gefordert wird (U.S. Department of Health and Human Services, Food and Drug Administration, 2005). Im Rahmen einer kardialen Intervention beim Menschen wird jedoch in der Regel die gesamte KM-Dosis über mehrere kleinere, aufeinander folgende Einzeldosen verteilt injiziert. In den vorliegenden Studien wurde allerdings die gesamte KM-Menge als eine einzige Bolusinjektion verabreicht, so dass die First-Pass-Konzentration an der Niere sicherlich höher war als bei den meisten Eingriffen am Menschen. Die dargestellten Untersuchungen wurden an Urethan-narkotisierten Ratten durchgeführt. Perkutane kardiale Interventionen werden im Gegensatz dazu überwiegend an wachen Patienten durchgeführt. Praktisch jede Narkoseform beeinflusst vegetative Regulationsmechanismen, darunter auch solche, die in die Kontrolle des Flüssigkeitshaushaltes einbezogen sind. Urethan wurde als Narkotikum verwendet, da es vegetative Regulationsmechanismen vergleichsweise wenig beeinträchtigt (Altura and Weinberg, 1979; Maggi and Meli, 1886; Dorward et al., 1987; Kurz et al., 2009).

Nicht zuletzt muss berücksichtigt werden, dass in den präsentierten Studien gesunde Ratten untersucht wurden. Im Gegensatz dazu leidet ein erheblicher Anteil der Patienten, die sich diagnostischen und therapeutischen Interventionen mit KM-Gabe unterziehen, an Erkrankungen, die, wie z.B. Diabetes mellitus, das Risiko einer CIAKI deutlich erhöhen (Calvin et al., 2010).

### **3.7 Schlussfolgerungen**

Aus den hier vorgestellten präklinischen Studien an Ratten lassen sich eine Reihe von Schlussfolgerungen ziehen. Das Risiko der Entstehung einer akuten Nierenschädigung nach KM-Gabe hängt demnach in hohem Maße von der Viskosität und der Osmolalität der gewählten KM-Lösung ab: die höhere Viskosität von IOCM-Lösungen in Verbindung mit ihrer niedrigeren Osmolalität erhöht das CIAKI-Risiko gegenüber LOCM.

Die gegenüber Blutplasma höhere Viskosität aller heute gebräuchlichen KM-Lösungen ist ein Kernelement der Pathophysiologie der CIAKI. Durch Flüssigkeitsresorption werden KM in den Tubuli aufkonzentriert. Ebenso werden durch Entzug von Plasmawasser, infolge glomerulärer Filtration und dem osmotischen Gradienten folgender Diffusion in das umgebende hyperosmolare Gewebe, in den absteigenden medullären Blutgefäßen KM ebenfalls angereichert. Wegen der exponentiellen Beziehung zwischen Konzentration und Viskosität steigen die Viskosität in der Tubulusflüssigkeit und die des Blutes in den medullären Gefäßen überproportional an, wodurch der Fluss in beiden abnimmt. Dadurch verlängert sich zum einen die Zeitspanne, in der Tubulusepithelien und Gefäßendothelien den zytotoxischen Effekten der KM ausgesetzt sind, wodurch ein unheilvoller Kreislauf von Zellschädigung, medullärer Vasokonstriktion und Hypoxie ausgelöst wird. Zum anderen verstärkt die Zunahme der Viskosität des Plasmas die Minderperfusion und Hypoxie des

Gewebes. Darüber hinaus kommt es durch den Rückstau von hochvisköser Tubulusflüssigkeit zu einem Abfall der GFR.

Das geringere CIAKI-Risiko von LOCM gegenüber IOCM ist nicht allein Folge der Viskositätsunterschiede, sondern auch der höheren Osmolalität der LOCM. Letztere wirkt der Wasserresorption in den Tubuli entgegen, sodass die LOCM weniger aufkonzentriert werden als IOCM. Wegen der exponentiellen Konzentrations-Viskositäts-Beziehung wird damit ein exzessiver Anstieg der Viskosität der Tubulusflüssigkeit mit allen ihren potenziell schädlichen Folgen vermieden.

Die renalen Auswirkung der hohen Viskosität der KM-Lösungen und damit das Risiko für die Entwicklung einer CIAKI hängt entscheidend vom Hydrierungszustand des Individuums ab, wird aber auch von der KM-Klasse beeinflusst. Wiewohl aktuelle klinische Leitlinien dringend die Hydrierung der Patienten empfehlen, sind in der klinischen Praxis nicht alle Patienten ausreichend hydriert. Die vorgestellten präklinischen Studien stützen diese Leitlinienempfehlung massiv, indem sie eine einleuchtende mechanistische Erklärung für die CIAKI-Prävention durch Hydrierung liefern. Schon ein nur moderat verbesserter Hydrierungsstatus führt zu einer Verminderung der tubulären Flüssigkeitsresorption, so dass die Aufkonzentrierung von KM im Tubulus geringer und damit die Viskosität der Tubulusflüssigkeit überproportional vermindert wird. Da IOCM aufgrund ihrer niedrigeren Osmolalität eine geringere diuretische Wirkung entfalten, profitieren sehr wahrscheinlich von guter Hydrierung besonders diejenigen Patienten, die IOCM erhalten.

Infusionen von isotoner NaCl- und NaHCO<sub>3</sub>-Lösung sind als renoprotektive Maßnahmen gegen CIAKI gleichermaßen effektiv. Auch eine Steigerung der Diurese durch nicht hypertone Glukose-Mannitol-Lösung ist hierbei effektiv, allerdings nur, wenn gleichzeitig eine ausreichende Volumenexpansion sichergestellt wird. Neben Hydrierungsmaßnahmen führt erwartungsgemäß auch die Reduzierung der KM-Dosis zu einer Verringerung der tubulären Viskosität und u.a. dadurch auch zu einer Verminderung der Nieren-schädigenden KM-Effekte.



Obwohl Kontrastmittel (KM) bei intravasaler Anwendung in der Regel gut vertragen werden, besteht das Risiko einer KM-induzierten akuten Nierenschädigung (contrast medium induced acute kidney injury, CIAKI), als schwerwiegende unerwünschte KM-Nebenwirkung.

Präklinische Studien trugen in den letzten Jahren zu einem recht umfassenden Verständnis der pathophysiologischen Mechanismen der CIAKI bei. Kernelement ist eine Minderdurchblutung und Hypoxie des Nierenmarks, die durch das Zusammenwirken von rheologischen KM-Effekten mit einer Vasokonstriktion entsteht, die u.a. durch zytotoxische KM-Effekte induziert wird. Die KM werden nach der Osmolalität ihrer Lösungen in Klassen eingeteilt: sogenannte hoch-, niedrig- und isoosmolare KM (mit Osmolalitäten von jeweils ~1000-2500, ~400-800, und 290 mosmol/kg). Präklinische Studien wiesen jedoch darauf hin, dass die Viskosität der KM-Lösungen eine wesentliche Rolle in der Pathophysiologie der CIAKI spielt; insbesondere durch eine ausgeprägte Hypoxie des Nierengewebes nach Gabe von hochviskösen, isoosmolaren KM. Jedoch konnten Metaanalysen aus einer Vielzahl prospektiver klinischer Studien keine Unterschiede in der CIAKI-Inzidenz nach isoosmolaren *versus* niedrigosmolaren KM ermitteln. Als Ursache hierfür ist neben der diagnostischen Unzulänglichkeit des GFR-Surrogatmarkers Serum-Kreatinin-Konzentration (SCrea), vor allem ein unterschiedlicher Hydrierungsgrad der Patienten denkbar.

Da aus ethischen Gründen prospektive Untersuchungen zur CIAKI-Inzidenz nach KM-Gabe bei nicht ausreichend hydrierten Patienten nicht vertretbar sind, wurden die vorliegenden Untersuchungen im Tierexperiment durchgeführt. Als Modell für hydropenische Menschen wurden gesunde Ratten gewählt. Gemessen wurden das Urinzeitvolumen, die GFR (mittels Kreatinin-Clearance) und die Urinviskosität. Da KM einer Klasse sich aufgrund ihrer unterschiedlichen Seitenkettenstruktur in ihren physikochemischen Eigenschaften unterscheiden können, wurde in zwei getrennten Studien das isoosmolare Iodixanol erst mit dem niedrigosmolaren Iopromid verglichen, und später mit dem ebenfalls niedrigosmolaren Iopamidol. Die KM wurden als Bolus von je 1,5 mL in die thorakale Aorta injiziert, um die klinische Situation perkutaner kardialer Interventionen nachzubilden.

Nach Iodixanol stieg die Urinviskosität sehr stark an und die GFR fiel vorübergehend um über 50% ab. Nach Iopromid und Iopamidol stieg die Urinviskosität wesentlich geringer an und die GFR blieb unverändert. Die Zunahme des Urinzeitvolumens war nach dem isoosmolaren Iodixanol wesentlich geringer als nach den beiden niedrigosmolaren KM. Hier spielt die unterschiedliche Osmolalität der Lösungen eine Rolle: eine höhere Osmolalität der KM enthaltenden Tubulusflüssigkeit führt wegen geringerer Flüssigkeitsresorption, zu geringerer KM-Konzentrierung in der Tubulusflüssigkeit. Wegen der exponentiellen Konzentrations-Viskositäts-Beziehung wird damit nach niedrigosmolaren KM ein exzessiver Anstieg der Viskosität der Tubulusflüssigkeit und der daraus resultierende Abfall der GFR vermieden. Der gesteigerte Urinfluss führt zudem zu einer schnelleren KM-Ausscheidung und verkürzt so die Zeitspanne, in der die Niere den zytotoxischen KM-Effekten ausgesetzt ist. Diese Befunde bestätigen die Schlussfolgerung früherer Studien, dass niedrigosmolare, weniger visköse KM hinsichtlich der CIAKI ein besseres Sicherheitsprofil haben als das isoosmolare, hochvisköse Iodixanol.

Als zweite Aufgabe der vorgestellten Studien wurden die Wirkungen einer Hydrierung mittels Infusion von isotoner NaCl-Lösung (4 ml/kg pro h) auf die KM-induzierten Änderungen von

Urinzeitvolumen, GFR und Urinviskosität untersucht. Dabei sollte die Hypothese überprüft werden, ob der vor Nierenschäden schützende Effekt einer Hydrierung nach Gabe des isoosmolaren Iodixanol größer ist als nach Gabe der beiden niedrigosmolaren KM Iopromid und Iopamidol. Die Hydrierung mittels NaCl-Infusion milderte den Anstieg der Urinviskosität nach Iodixanol deutlich ab und verringerte die Dauer des GFR-Abfalls. Wie erwartet, führte auch die Halbierung der Iodixanol-Dosis zu einer Verringerung der tubulären Viskosität und u.a. dadurch auch zu einer Minimierung der Nieren-schädigenden Effekte.

Mechanistisch lässt sich der renoprotektive Effekt der Hydrierung durch die geringere Aufkonzentration des KM im Tubulus erklären. Diese resultiert in einer starken Senkung der Viskosität der Tubulusflüssigkeit, so dass die GFR weniger sinkt, der Urinfluss steigt, und das KM schneller ausgeschieden wird. Wie vermutet, waren die Effekte nach Iopromid und Iopamidol aufgrund der stärkeren eigenen diuretischen Wirkung deutlich schwächer ausgeprägt als nach Iodixanol. Demnach würden Patienten, die das isoosmolare Iodixanol verabreicht bekommen, am stärksten von guter Hydrierung profitieren.

Eine weitere Aufgabe der vorliegenden Untersuchungen bestand darin, zu prüfen, ob die Hydrierung mit isotoner NaHCO<sub>3</sub>-Lösung gegenüber NaCl-Lösung (jeweils 4 mL/kg pro h) Vorteile bietet. Wiederum wurden Urinzeitvolumen, GFR und Urinviskosität gemessen und Iodixanol- und Iopromid-Effekte untersucht. Die beiden Infusionslösungen NaHCO<sub>3</sub> und NaCl erwiesen sich sowohl nach Iodixanol- als auch nach Iopromid-Gabe als gleichermaßen effektiv. Diese Daten belegen, dass in erster Linie die isotone Volumenexpansion *per se* einen schützenden Effekt gegenüber KM-induziertem Anstieg der Viskosität und Abfall der GFR hat. Ein zusätzlich positiver Effekt einer Harnalkalisierung konnte nicht nachgewiesen werden.

Osmodiuretika wirken stärker diuretisch als pure Volumenexpansion. Allerdings können sie durch massive Diurese zu einer Volumenkontraktion führen. Als letzte Aufgabe der vorliegenden Studien wurde die Hypothese geprüft, ob eine Kombination aus forcierter Diurese und nachhaltiger Volumenexpansion einen stärkeren renoprotektiven Effekt hat als alleinige Volumenexpansion. Durch Infusion einer nicht hypertonen Glukose-Mannitol-Lösung (12 mL/kg pro h; deutlich höhere Infusionsrate als bei NaCl nötig wegen des massiven osmодиuretischen Effekts von Mannitol) war der Anstieg der Urinviskosität nach Iodixanol stärker abgeschwächt als bei NaCl-Infusion und der Abfall der GFR wurde vollständig verhindert. Bei deutlich höherem Urinzeitvolumen war gleichzeitig unter der Glukose-Mannitol-Infusion eine stabile Volumenexpansion gegeben. Forcierte Diurese hat demnach eine gute renoprotektive Wirkung gegen CIAKI, solange für ausreichende Volumenexpansion gesorgt wird.

Zusammengenommen zeigen diese unter standardisierten Bedingungen an Ratten durchgeführten präklinischen Studien zur CIAKI, 1) dass niedrigosmolare, weniger visköse KM gegenüber dem hochviskösen, isoosmolaren Iodixanol von Vorteil sind, 2) dass die prophylaktische Wirkung der in den Leitlinien empfohlenen guten Hydrierung über die geringere tubuläre Aufkonzentrierung der KM und die daraus resultierende überproportionale Abnahme der Viskosität der Tubulusflüssigkeit vermittelt ist, 3) dass insbesondere Patienten, die isoosmolares Iodixanol erhalten, durch gute Hydrierung profitieren müssten, 4) dass Volumenexpansion mittels isotoner NaCl-Lösung und isotoner NaHCO<sub>3</sub>-Lösung als CIAKI-Prophylaxe gleichwertig sind, und 5) dass eine Kombination aus forcierter (Osmo-)Diurese und stabiler Volumenexpansion ein noch größeres renoprotektives Potenzial hat als Volumenexpansion allein.

### **Animal studies on the pathophysiology and prevention strategies of contrast media induced acute kidney injuries in rats**

Although X-ray contrast media (CM) are generally well tolerated, there is a risk of a CM-induced acute kidney injury (contrast medium induced acute kidney injury, CIAKI), a serious adverse CM side effect.

Preclinical studies contributed to a fairly comprehensive understanding of the pathophysiological mechanisms of CIAKI in recent years. Core element is a hypoperfusion and hypoxia of the renal medulla, which is caused by the combined action of rheological CM effects and vasoconstriction, which among others is induced by cytotoxic CM effects. According to the osmolality of their solutions, CM are divided into classes: so-called high-, low- and iso-osmolar CM (with osmolalities of each of ~ 1000-2500, ~ 400-800, and 290 mosmol/kg). Preclinical studies pointed out, however, that the viscosity of CM solutions plays an important role in the pathophysiology of CIAKI; in particular, renal hypoxia was stronger after administration of high viscous, iso-osmolar CM. Nevertheless, meta-analyses of a variety of prospective clinical trials could not determine any differences in the incidence of CIAKI after iso-osmolar *versus* low-osmolar CM. As an explanation two causes are conceivable, first the inadequacy of the GFR surrogate marker serum creatinine concentration (SCrea), and second the different degrees of the patients' hydration.

As for ethical reasons prospective trials concerning CIAKI incidence following CM administration are unjustifiable with insufficiently hydrated patients, the present studies were performed in animal experiments. As a model for hydropenic humans, healthy rats were chosen. Urine volume was measured, GFR was estimated by creatinine clearance and urine viscosity was determined. As CM of one class may exert different physico-chemical properties, iso-osmolar iodixanol was first compared to the low-osmolar CM iopromide and in a second trial it was compared to another low-osmolar CM, iopamidol. The CM were injected as a bolus of 1.5 mL into the thoracic aorta in order to mimic the clinical situation of percutaneous cardiac interventions.

Following iodixanol urine viscosity increased strongly, temporarily even exceeding the viscosity of the injected iodixanol solution, and GFR declined transiently by more than 50%. After iopromide and iopamidol the increase in urine viscosity was significantly lower and GFR remained unchanged. The increase in urine volume was essentially lower after iso-osmolar iodixanol than after either of the two low-osmolar CM. Here the different osmolality of the solutions plays an important role: higher osmolality of CM containing tubular fluid leads to a lower fluid absorption so that the CM remains less concentrated. Because of the exponential concentration-viscosity relationship an excessive increase in the viscosity of the tubular fluid and the resulting decrease in GFR is avoided by low-osmolar CM. Furthermore, increased urine flow leads to a faster elimination of CM and thus, shortens the time period in which the kidney is exposed to the cytotoxic effects of CM. These findings confirm the conclusions of earlier preclinical studies, that low-osmolar, less viscous CM have a better safety profile regarding CIAKI than the iso-osmolar, highly viscous iodixanol.

The second subject of the studies presented here was to examine the effects of hydration by infusion of isotonic NaCl solution (4 ml / kg per hour) on CM-induced changes of urine flow, GFR and urine viscosity. Hereby the hypothesis was tested, if the renoprotective effect of hydration is greater after administration of iso-osmolar iodixanol than after administration of the two low-osmolar and therefore *per se* stronger diuretic CM, iopromide and iopamidol. Hydration using NaCl infusion mitigated the increase in urine viscosity after iodixanol significantly and reduced the duration of GFR decline. As expected, reduction of the iodixanol-dose by half lead to a reduction in tubular viscosity and resulted *inter alia* thereby in minimizing the kidney damaging effects.

A mechanistic explanation for the renoprotective effect of hydration could be derived from the lower concentration of CM in the tubules. This results in a strong reduction of tubular fluid viscosity, so that GFR decreases less, the urine flow increases, and CM is excreted rapidly. As assumed, the effects after iopromide and iopamidol were, due to the stronger inherent diuretic effects, significantly weaker as after iodixanol. Accordingly, patients who receive the iso-osmolar iodixanol, might benefit most from good hydration.

Another subject of the present investigation was to examine whether the hydration with isotonic NaHCO<sub>3</sub> solution provides benefits compared with NaCl solution (4 ml / kg per hour each). Again, urine output, GFR and urine viscosity were measured and iodixanol and iopromide effects examined. The two infusion protocols, NaHCO<sub>3</sub> and NaCl, proved equally effective both after iodixanol and after iopromide administration. These data demonstrate that primarily isotonic volume expansion *per se* has a protective effect against CM-induced increase in viscosity and decrease in GFR. An additional positive effect by the alkalization of urine could not be detected.

Osmodiuretics have a stronger diuretic effect as pure volume expansion. However, since they can result in volume contraction due to massive diuresis, the current guidelines speak against their use for CIAKI prevention. As the last subject of the presented studies, the hypothesis was tested, if a combination of forced diuresis and simultaneous sustainable volume expansion has a stronger renoprotective effect than sole volume expansion. By infusion of a glucose-mannitol solution (12 mL/kg per hour; significantly higher infusion rate than NaCl needed, because of the massive osmotic effect of mannitol) the increase in urine viscosity after iodixanol administration was greatly attenuated compared to the NaCl-infusion and GFR decline was completely prevented. While urine volume was increased, a stable volume expansion was simultaneously achieved due to the glucose-mannitol infusion. Forced diuresis has therefore a good renoprotective effect against CIAKI as long as an adequate volume expansion is provided.

Taken together, these pre-clinical studies concerning CIAKI carried out under standardized conditions, demonstrate that 1) low-osmolar, less viscous CM are beneficial compared to the highly viscous iso-osmolar iodixanol, 2) that the prophylactic effect of good hydration according to the current guidelines is mediated by the lower tubular concentration of CM and the resulting overproportionate decrease in the viscosity of the tubular fluid, 3) that in particular patients receiving iso-osmolar iodixanol might benefit from good hydration, 4) that volume expansion by means of isotonic NaCl solution and isotonic NaHCO<sub>3</sub> solution are equally effective as CIAKI prophylaxis means, and 5) that a combination of forced (osmotic) diuresis and stable volume expansion has an even greater renoprotective potential than volume expansion alone.

- Adolph, E., B. Holdt-Lehmann, T. Chatterjee, S. Paschka, A. Prott, H. Schneider, T. Koerber, H. Ince, M. Steiner, P. Schuff-Werner, and C. A. Nienaber. 2008. Renal Insufficiency Following Radiocontrast Exposure Trial (REINFORCE): a randomized comparison of sodium bicarbonate versus sodium chloride hydration for the prevention of contrast-induced nephropathy. *Coron. Artery Dis.* 19(6):413-419.
- Aliev, G., M. E. Obrenovich, D. Seyidova, N. M. Rzayev, A. S. Aliyev, A. K. Raina, J. C. Lamanna, M. A. Smith, and G. Perry. 2003. X-ray contrast media induce aortic endothelial damage, which can be prevented with prior heparin treatment. *J. Submicrosc. Cytol. Pathol.* 35(3):253-266.
- Altura, B. M., and J. Weinberg. 1979. Urethane and contraction of vascular smooth muscle. *Br. J. Pharmacol.* 67(2):255-263.
- American College of Radiology. 2015. ACR Manual on Contrast Media, Version 10.  
Available at:  
[http://www.acr.org/~media/ACR/Documents/PDF/QualitySafety/Resources/Contrast%20Manual/2015\\_Contrast\\_Media.pdf](http://www.acr.org/~media/ACR/Documents/PDF/QualitySafety/Resources/Contrast%20Manual/2015_Contrast_Media.pdf).
- Arakelyan, K., K. Cantow, J. Hentschel, B. Flemming, A. Pohlmann, M. Ladwig, T. Niendorf, and E. Seeliger. 2013. Early effects of an x-ray contrast medium on renal T(2)\*/T(2) MRI as compared to short-term hyperoxia, hypoxia and aortic occlusion in rats. *Acta Physiol (Oxf).* 208(2):202-213.
- Badzyska, B., J. Sadowski, and L. Dobrowolski. 1990. Atrial peptide natriuresis in the rat without genuine rise in filtration rate or wash-out of medullary electrolytes. *J. Physiol* 427:421-434.
- Bagshaw, S. M., and B. F. Culleton. 2006. Contrast-induced nephropathy: epidemiology and prevention. *Minerva Cardioangiol.* 54(1):109-129.
- Bakris, G. L., N. A. Lass, and D. Glock. 1999. Renal hemodynamics in radiocontrast medium-induced renal dysfunction: A role for dopamine-1 receptors. *Kidney Int.* 56(1):206-210.
- Barrett, B. J., and P. S. Parfrey. 2006. Clinical practice. Preventing nephropathy induced by contrast medium. *N. Engl. J. Med.* 354(4):379-386.
- Bartorelli, A. L., and G. Marenzi. 2008. Contrast-induced nephropathy. *J. Interv. Cardiol.* 21(1):74-85.

- Berl, T., and G. L. Robertson. 2000. Pathophysiology of water metabolism. Pages 866-924 in *The kidney*. B. M. Brenner, ed. Saunders, Philadelphia.
- Bozinovic, F. and P. Gallardo. 2006. The water economy of South American desert rodents: from integrative to molecular physiological ecology. *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol. Pharmacol.* 142(3-4):163-172
- Brar, S. S., V. Aharonian, P. Mansukhani, N. Moore, A. Y. Shen, M. Jorgensen, A. Dua, L. Short, and K. Kane. 2014. Haemodynamic-guided fluid administration for the prevention of contrast-induced acute kidney injury: the POSEIDON randomised controlled trial. *Lancet* 383(9931):1814-1823.
- Brar, S. S., S. Hiremath, G. Dangas, R. Mehran, S. K. Brar, and M. B. Leon. 2009. Sodium bicarbonate for the prevention of contrast induced-acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 4(10):1584-1592.
- Brar, S. S., A. Y. Shen, M. B. Jorgensen, A. Kotlewski, V. J. Aharonian, N. Desai, M. Ree, A. I. Shah, and R. J. Burchette. 2008. Sodium bicarbonate vs sodium chloride for the prevention of contrast medium-induced nephropathy in patients undergoing coronary angiography: a randomized trial. *JAMA.* 300(9):1038-1046.
- Brezis, M., and S. Rosen. 1995. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *N. Engl. J. Med.* 332(10):647-655.
- Briguori, C., and G. Marenzi. 2006. Contrast-induced nephropathy: pharmacological prophylaxis. *Kidney Int Suppl.*(100):S30-S38.
- Briguori, C., G. Visconti, A. Focaccio, F. Airoidi, M. Valgimigli, G. M. Sangiorgi, B. Golia, B. Ricciardelli, and G. Condorelli. 2011. Renal Insufficiency After Contrast Media Administration Trial II (REMEDIAL II): RenalGuard System in High-Risk Patients for Contrast-Induced Acute Kidney Injury. *Circulation.*
- Brown, J. R., C. A. Block, D. J. Malenka, G. T. O'Connor, A. C. Schoolwerth, and C. A. Thompson. 2009. Sodium bicarbonate plus N-acetylcysteine prophylaxis: a meta-analysis. *JACC. Cardiovasc. Interv.* 2(11):1116-1124.
- Brown, J. R., R. J. Solomon, M. J. Sarnak, P. A. McCullough, M. E. Splaine, L. Davies, C. S. Ross, H. L. Dauerman, J. L. Stender, S. M. Conley, J. F. Robb, K. Chaisson, R. Boss, P. Lambert, D. J. Goldberg, D. Lucier, F. A. Fedele, M. A. Kellett, S. Horton, W. J. Phillips, C. Downs, A. Wiseman, T. A. MacKenzie, and D. J. Malenka. 2014. Reducing contrast-induced acute kidney injury using a regional multicenter quality improvement intervention. *Circ. Cardiovasc. Qual. Outcomes.* 7(5):693-700.

- Bruce, R. J., A. Djamali, K. Shinki, S. J. Michel, J. P. Fine, and M. A. Pozniak. 2009. Background fluctuation of kidney function versus contrast-induced nephrotoxicity. *AJR Am. J. Roentgenol.* 192(3):711-718.
- Budano, C., M. Levis, M. D'Amico, T. Usmiani, A. Fava, P. Sbarra, M. Burdese, G. P. Segoloni, A. Colombo, and S. Marra. 2011. Impact of contrast-induced acute kidney injury definition on clinical outcomes. *Am. Heart J.* 161(5):963-971.
- Calvert, J. W., and D. J. Lefer. 2010. Clinical translation of nitrite therapy for cardiovascular diseases. *Nitric. Oxide.* 22(2):91-97.
- Calvin, A. D., S. Misra, and A. Pflueger. 2010. Contrast-induced acute kidney injury and diabetic nephropathy. *Nat. Rev. Nephrol.* 6(11):679-688.
- Davidson, C., F. Stacul, P. A. McCullough, J. Tumlin, A. Adam, N. Lameire, and C. R. Becker. 2006. Contrast medium use. *Am. J. Cardiol.* 98(6A):42K-58K.
- Dekker, E. 1969. Influence of electronically paced ventricular rate on urine flow and excretion of minerals in patients with total heart block. *Br. Heart J.* 31(2):184-191.
- Deutsche Gesellschaft für Kardiologie. 2015. Anzahl der Herzkatheter- und Bypass-Operationen in Deutschland in den Jahren 2004 und 2010. <http://de.statista.com/statistik/daten/studie/216588/umfrage/herzkatheter-und-bypass-operationen-in-deutschland/>
- Dorward, P. K., S. L. Burke, W. Janig, and J. Cassell. 1987. Reflex responses to baroreceptor, chemoreceptor and nociceptor inputs in single renal sympathetic neurones in the rabbit and the effects of anaesthesia on them. *J. Auton. Nerv. Syst.* 18(1):39-54.
- DuBose, T. D., Jr. 1990. Reclamation of filtered bicarbonate. *Kidney Int.* 38(4):584-589.
- Eloy, R., C. Corot, and J. Belleville. 1991. Contrast media for angiography: physicochemical properties, pharmacokinetics and biocompatibility. *Clin Mater* 7(2):89-197.
- Evans, R. G., and S. M. Fitzgerald. 2005. Nitric oxide and superoxide in the renal medulla: a delicate balancing act. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 14(1):9-15.
- Evans, R. G., B. S. Gardiner, D. W. Smith, and P. M. O'connor. 2008. Methods for studying the physiology of kidney oxygenation. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 35(12):1405-1412.

- Evans, R. G., C. Ince, J. A. Joles, D. W. Smith, C. N. May, P. M. O'connor, and B. S. Gardiner. 2013. Haemodynamic influences on kidney oxygenation: The clinical implications of integrative physiology. *Clin Exp Pharmacol. Physiol.* 40:106-122.
- Fanning, N. F., B. J. Manning, J. Buckley, and H. P. Redmond. 2002. Iodinated contrast media induce neutrophil apoptosis through a mitochondrial and caspase mediated pathway. *Br J Radiol* 75(899):861-873.
- Faulkner K, Werduch A. An estimate of the collective dose to the European population from cardiac X-ray procedures. *Br J Radiol.* 2008;81:955–962.
- Fischereder, M. 2008. Use of intravenous sodium bicarbonate might increase the risk of contrast nephropathy. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 4(6):296-297.
- From, A. M., F. J. Al Badarin, F. S. McDonald, B. J. Bartholmai, S. S. Cha, and C. S. Rihal. 2010. Iodixanol versus low-osmolar contrast media for prevention of contrast induced nephropathy: meta-analysis of randomized, controlled trials. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 3(4):351-358.
- From, A. M., B. J. Bartholmai, A. W. Williams, S. S. Cha, A. Pflueger, and F. S. McDonald. 2008. Sodium bicarbonate is associated with an increased incidence of contrast nephropathy: a retrospective cohort study of 7977 patients at mayo clinic. *Clin J Am Soc Nephrol.* 3(1):10-18.
- Galtung, H. K., M. Loken, and K. S. Sakariassen. 2001. Effect of radiologic contrast media on cell volume regulation in rabbit proximal renal tubules. *Acad. Radiol.* 8(5):398-404.
- Gladwin, M. T. 2006. Role of the red blood cell in nitric oxide homeostasis and hypoxic vasodilation. *Adv. Exp. Med. Biol.* 588:189-205.
- Gladwin, M. T., R. Grubina, and M. P. Doyle. 2009. The new chemical biology of nitrite reactions with hemoglobin: R-state catalysis, oxidative denitrosylation, and nitrite reductase/anhydrase. *Acc. Chem. Res.* 42(1):157-167.
- Gruber, L. 2006. Clinical features and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. Pages 35-45 in *Contrast-Induced Nephropathy.* A. L. Bartorelli and G. Marenzi, ed. Taylor & Francis, London.
- Haneder, S., J. Augustin, G. Jost, H. Pietsch, P. Lengsfeld, B. K. Kramer, S. O. Schoenberg, M. Meyer, U. I. Attenberger, and H. J. Michaely. 2012. Impact of iso- and low-osmolar iodinated contrast agents on BOLD and diffusion MRI in swine kidneys. *Invest Radiol.* 47(5):299-305.



- Harjai, K. J., A. Raizada, C. Shenoy, S. Sattur, P. Orshaw, K. Yaeger, J. Boura, A. Aboufares, D. Sporn, and D. Stapleton. 2008. A comparison of contemporary definitions of contrast nephropathy in patients undergoing percutaneous coronary intervention and a proposal for a novel nephropathy grading system. *Am. J. Cardiol.* 101(6):812-819.
- Heinrich, M. C., L. Haberle, V. Muller, W. Bautz, and M. Uder. 2009. Nephrotoxicity of iso-osmolar iodixanol compared with nonionic low-osmolar contrast media: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology.* 250(1):68-86.
- Heinrich, M. C., M. K. Kuhlmann, A. Grgic, M. Heckmann, B. Kramann, and M. Uder. 2005. Cytotoxic effects of ionic high-osmolar, nonionic monomeric, and nonionic iso-osmolar dimeric iodinated contrast media on renal tubular cells in vitro. *Radiology.* 235(3):843-849.
- Heyman, S. N., M. Brezis, F. H. Epstein, K. Spokes, P. Silva, and S. Rosen. 1991. Early renal medullary hypoxic injury from radiocontrast and indomethacin. *Kidney Int.* 40(4):632-642.
- Heyman, S. N., M. Brezis, C. A. Reubinoff, Z. Greenfeld, C. Lechene, F. H. Epstein, and S. Rosen. 1988. Acute renal failure with selective medullary injury in the rat. *J. Clin. Invest* 82(2):401-412.
- Heyman, S. N., J. Reichman, and M. Brezis. 1999. Pathophysiology of radiocontrast nephropathy: a role for medullary hypoxia. *Invest Radiol.* 34(11):685-691.
- Heyman, S. N., S. Rosen, M. Khamaisi, J. M. Idee, and C. Rosenberger. 2010. Reactive oxygen species and the pathogenesis of radiocontrast-induced nephropathy. *Invest Radiol.* 45(4):188-195.
- Heyman, S. N., S. Rosen, and C. Rosenberger. 2008. Renal parenchymal hypoxia, hypoxia adaptation, and the pathogenesis of radiocontrast nephropathy. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 3(1):288-296.
- Hizoh, I., and C. Haller. 2002. Radiocontrast-induced renal tubular cell apoptosis: hypertonic versus oxidative stress. *Invest Radiol.* 37(8):428-434.
- Ho, K. M., and D. J. Morgan. 2008. Use of isotonic sodium bicarbonate to prevent radiocontrast nephropathy in patients with mild pre-existing renal impairment: a meta-analysis. *Anaesth. Intensive Care.* 36(5):646-653.

- Hogan, S. E., P. L'Allier, S. Chetcuti, P. M. Grossman, B. K. Nallamothu, C. Duvernoy, E. Bates, M. Moscucci, and H. S. Gurm. 2008. Current role of sodium bicarbonate-based preprocedural hydration for the prevention of contrast-induced acute kidney injury: a meta-analysis. *Am. Heart J.* 156(3):414-421.
- Hoste, E. A., J. J. De Waele, S. A. Gevaert, S. Uchino, and J. A. Kellum. 2010. Sodium bicarbonate for prevention of contrast-induced acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Nephrol. Dial. Transplant.* 25(3):747-758.
- Jacot, E., R. A. DeFronzo, E. Jequier, E. Maeder, and J. P. Felber. 1982. The effect of hyperglycemia, hyperinsulinemia, and route of glucose administration on glucose oxidation and glucose storage. *Metabolism.* 31(9):922-930.
- James, M. T., S. M. Samuel, M. A. Manning, M. Tonelli, W. A. Ghali, P. Faris, M. L. Knudtson, N. Pannu, and B. R. Hemmelgarn. 2013. Contrast-induced acute kidney injury and risk of adverse clinical outcomes after coronary angiography: a systematic review and meta-analysis. *Circ. Cardiovasc. Interv.* 6(1):37-43.
- Joannidis, M., M. Schmid, and C. J. Wiedermann. 2008. Prevention of contrast media-induced nephropathy by isotonic sodium bicarbonate: a meta-analysis. *Wien. Klin. Wochenschr.* 120(23-24):742-748.
- Jost, G., P. Lengsfeld, D. C. Lenhard, H. Pietsch, J. Hutter, and M. A. Sieber. 2011. Viscosity of iodinated contrast agents during renal excretion. *Eur. J. Radiol.* 80(2): 373-377
- Jost, G., H. Pietsch, P. Lengsfeld, J. Hutter, and M. A. Sieber. 2010. The impact of the viscosity and osmolality of iodine contrast agents on renal elimination. *Invest Radiol.* 45(5):255-261.
- Jost, G., H. Pietsch, J. Sommer, P. Sandner, P. Lengsfeld, P. Seidensticker, S. Lehr, J. Hutter, and M. A. Sieber. 2008. Retention of Iodine and Expression of Biomarkers for Renal Damage in the Kidney After Application of Iodinated Contrast Media in Rats. *Invest Radiol.* 44(2):114-123
- Kanbay, M., A. Covic, S. G. Coca, F. Turgut, A. Akcay, and C. R. Parikh. 2009. Sodium bicarbonate for the prevention of contrast-induced nephropathy: a meta-analysis of 17 randomized trials. *Int. Urol. Nephrol.* 41(3):617-627.
- Katzberg, R. W., and J. H. Newhouse. 2010. Intravenous contrast medium-induced nephrotoxicity: is the medical risk really as great as we have come to believe? *Radiology.* 256(1):21-28.

- Kelley, D., A. Mitrakou, H. Marsh, F. Schwenk, J. Benn, G. Sonnenberg, M. Arcangeli, T. Aoki, J. Sorensen, M. Berger, and . 1988. Skeletal muscle glycolysis, oxidation, and storage of an oral glucose load. *J. Clin. Invest.* 81(5):1563-1571.
- Kelly, A. M., B. Dwamena, P. Cronin, S. J. Bernstein, and R. C. Carlos. 2008. Meta-analysis: effectiveness of drugs for preventing contrast-induced nephropathy. *Ann. Intern. Med.* 148(4):284-294.
- Kennedy-Lydon, T. M., C. Crawford, S. S. Wildman, and C. M. Peppiatt-Wildman. 2013. Renal pericytes: regulators of medullary blood flow. *Acta Physiol (Oxf)*. 207(2):212-225.
- Kenney, W. L., and P. Chiu. 2001. Influence of age on thirst and fluid intake. *Med. Sci. Sports Exerc.* 33(9):1524-1532.
- Kurz, C., U. Baranowska, S. Lupinski, M. Gothert, B. Malinowska, and E. Schlicker. 2009. Urethane, but not pentobarbitone, attenuates presynaptic receptor function in rats: a contribution to the choice of anaesthetic. *Br. J. Pharmacol.* 157(8):1474-1482.
- Ladwig, M., K. Cantow, B. Flemming, P. Persson, and E. Seeliger. 2015. Comparison of the Effects of Iodixanol and Iopamidol on Urine Flow, Urine Viskosity, and Glomerular Filtration in Rats. *J Urol Nephrol* 2(1):7.
- Ladwig, M., B. Flemming, E. Seeliger, L. Sargsyan, and P. B. Persson. 2011. Renal Effects of Bicarbonate Versus Saline Infusion for Iso- and Lowosmolar Contrast Media in Rats. *Invest Radiol.* 46(11):672-677.
- Lancelot, E., J. M. Idee, V. Couturier, V. Vazin, and C. Corot. 1999. Influence of the viscosity of iodixanol on medullary and cortical blood flow in the rat kidney: a potential cause of Nephrotoxicity. *J. Appl. Toxicol.* 19(5):341-346.
- Lancelot, E., J. M. Idee, C. Laclede, R. Santus, and C. Corot. 2002. Effects of two dimeric iodinated contrast media on renal medullary blood perfusion and oxygenation in dogs. *Invest Radiol.* 37(7):368-375.
- Lenhard, D. C., A. L. Frisk, P. Lengsfeld, H. Pietsch, and G. Jost. 2013. The effect of iodinated contrast agent properties on renal kinetics and oxygenation. *Invest Radiol.* 48(4):175-182.
- Lenhard, D. C., H. Pietsch, M. A. Sieber, R. Ernst, P. Lengsfeld, P. Ellinghaus, and G. Jost. 2012. The osmolality of nonionic, iodinated contrast agents as an important factor for renal safety. *Invest Radiol.* 47(9):503-510.

- Levey, A. S., L. A. Stevens, C. H. Schmid, Y. L. Zhang, A. F. Castro, III, H. I. Feldman, J. W. Kusek, P. Eggers, L. F. Van, T. Greene, and J. Coresh. 2009. A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann. Intern. Med.* 150(9):604-612.
- Levy, E. M., C. M. Viscoli, and R. I. Horwitz. 1996. The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *JAMA.* 275(19):1489-1494.
- Li, J., and R. J. Solomon. 2010. Creatinine increases after intravenous contrast administration: incidence and impact. *Invest Radiol.* 45(8):471-476.
- Li, L. P., T. Franklin, H. Du, M. Papadopoulou-Rosenzweig, J. Carbray, R. Solomon, and P. V. Prasad. 2012. Intrarenal oxygenation by blood oxygenation level-dependent MRI in contrast nephropathy model: Effect of the viscosity and dose. *J. Magn Reson. Imaging.* 36:1162-1167.
- Lineaweaver, W., S. McMorris, D. Soucy, and R. Howard. 1985. Cellular and bacterial toxicities of topical antimicrobials. *Plast Reconstr Surg* 75(3):394-396.
- Liss, P., A. Nygren, U. Erikson, and H. R. Ulfendahl. 1998. Injection of low and iso-osmolar contrast medium decreases oxygen tension in the renal medulla. *Kidney Int.* 53(3):698-702.
- Liss, P., A. Nygren, and P. Hansell. 1999a. Hypoperfusion in the renal outer medulla after injection of contrast media in rats. *Acta Radiol.* 40(5):521-527.
- Liss, P., A. Nygren, U. Olsson, H. R. Ulfendahl, and U. Erikson. 1996. Effects of contrast media and mannitol on renal medullary blood flow and red cell aggregation in the rat kidney. *Kidney Int.* 49(5):1268-1275.
- Liss, P., A. Nygren, H. R. Ulfendahl, and U. Erikson. 1999b. Effect of furosemide or mannitol before injection of a non-ionic contrast medium on intrarenal oxygen tension. *Adv. Exp. Med. Biol.* 471:353-359.
- Liss, P., P. B. Persson, P. Hansell, and B. Lagerqvist. 2006. Renal failure in 57 925 patients undergoing coronary procedures using iso-osmolar or low-osmolar contrast media. *Kidney Int.* 70(10):1811-1817.
- Liu, W., K. Wagatsuma, M. Toda, H. Amano, H. Nii, Y. Uchida, and R. Nakanishi. 2011. Short- and long-term follow-up of percutaneous coronary intervention for chronic total occlusion through transradial approach: tips for successful procedure from a single-center experience. *J. Interv. Cardiol.* 24(2):137-143.

- Liu, Z. Z., V. U. Viegas, A. Perlewitz, E. Y. Lai, P. B. Persson, A. Patzak, and M. M. Sendeski. 2012. Iodinated Contrast Media Differentially Affect Afferent and Efferent Arteriolar Tone and Reactivity in Mice: A Possible Explanation for Reduced Glomerular Filtration Rate. *Radiology* 265:762-771.
- Maggi, C. A., and A. Meli. 1986a. Suitability of urethane anesthesia for physiopharmacological investigations in various systems. Part 1: General considerations. *Experientia*. 42(2):109-114.
- Maioli, M., A. Toso, M. Leoncini, M. Gallopin, D. Tedeschi, C. Micheletti, and F. Bellandi. 2008. Sodium bicarbonate versus saline for the prevention of contrast-induced nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography or intervention. *J. Am. Coll. Cardiol.* 52(8):599-604.
- Manz, F. and A. Wentz. 2003. 24-h hydration status: parameters, epidemiology and recommendations. *Eur. J. Clin. Nutr.* 57(suppl. 2):S10-18.
- Marenzi, G., E. Assanelli, I. Marana, G. Lauri, J. Campodonico, M. Grazi, M. M. De, S. Galli, F. Fabbiochi, P. Montorsi, F. Veglia, and A. L. Bartorelli. 2006. N-acetylcysteine and contrast-induced nephropathy in primary angioplasty. *N. Engl. J. Med.* 354(26):2773-2782.
- Marenzi, G., C. Ferrari, I. Marana, E. Assanelli, M. DeMetrio, G. Teruzzi, F. Veglia, F. Fabbiochi, P. Montorsi, and A. L. Bartorelli. 2012. Prevention of Contrast Nephropathy with Furosemide-Induced Diuresis and Matched Hydration - The MYTHOS trial. *JACC Cardiovasc Interv.* Jan;5(1):90-7.
- Masuda, M., T. Yamada, T. Mine, T. Morita, S. Tamaki, Y. Tsukamoto, K. Okuda, Y. Iwasaki, M. Hori, and M. Fukunami. 2007. Comparison of usefulness of sodium bicarbonate versus sodium chloride to prevent contrast-induced nephropathy in patients undergoing an emergent coronary procedure. *Am. J. Cardiol.* 100(5):781-786.
- McCullough, P. A. 2008a. Acute kidney injury with iodinated contrast. *Crit Care Med.* 36(4 Suppl):S204-S211.
- McCullough, P. A. 2008b. Radiocontrast-induced acute kidney injury. *Nephron Physiol.* 109(4):61-72.
- Mehran, R., E. D. Aymong, E. Nikolsky, Z. Lasic, I. Iakovou, M. Fahy, G. S. Mintz, A. J. Lansky, J. W. Moses, G. W. Stone, M. B. Leon, and G. Dangas. 2004. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 44(7):1393-1399.

- Meier, P., D. T. Ko, A. Tamura, U. Tamhane, and H. S. Gurm. 2009. Sodium bicarbonate-based hydration prevents contrast-induced nephropathy: a meta-analysis. *BMC. Med.* 7:23.
- Merten, G. J., W. P. Burgess, L. V. Gray, J. H. Holleman, T. S. Roush, G. J. Kowalchuk, R. M. Bersin, A. Van Moore, C. A. Simonton, III, R. A. Rittase, H. J. Norton, and T. P. Kennedy. 2004. Prevention of contrast-induced nephropathy with sodium bicarbonate: a randomized controlled trial. *JAMA.* 291(19):2328-2334.
- Messana, J. M., D. A. Cieslinski, and H. D. Humes. 1990. Comparison of toxicity of radiocontrast agents to renal tubule cells in vitro. *Ren Fail* 12(2):75-82.
- Molitoris, B. A. 2015. Urinary Biomarkers: Alone Are They Enough? *Journal of the American Society of Nephrology* 26(7):1485-1488.
- Mori, T., P. M. O'connor, M. Abe, and A. W. Cowley, Jr. 2007. Enhanced superoxide production in renal outer medulla of Dahl salt-sensitive rats reduces nitric oxide tubular-vascular cross-talk. *Hypertension.* 49(6):1336-1341.
- Nash, K., A. Hafeez, and S. Hou. 2002. Hospital-acquired renal insufficiency. *Am. J. Kidney Dis.* 39(5):930-936.
- Navaneethan, S. D., S. Singh, S. Appasamy, R. E. Wing, and A. R. Sehgal. 2009. Sodium bicarbonate therapy for prevention of contrast-induced nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *Am. J. Kidney Dis.* 53(4):617-627.
- Niendorf, T., A. Pohlmann, K. Arakelyan, B. Flemming, K. Cantow, J. Hentschel, D. Grosenick, M. Ladwig, H. Reimann, S. Klix, S. Waiczies, and E. Seeliger. 2015. How bold is blood oxygenation level-dependent (BOLD) magnetic resonance imaging of the kidney? Opportunities, challenges and future directions. *Acta Physiol (Oxf)* 213(1):19-38.
- Nikolsky, E., and R. Mehran. 2003. Understanding the consequences of contrast-induced nephropathy. *Rev. Cardiovasc. Med.* 4 Suppl 5:S10-S18.
- Ogasawara, S., H. Mukawa, T. Sone, H. Tsuboi, I. Morishima, M. Uesugi, E. Matsushita, Y. Morita, K. Okumura, and T. Murohara. 2015. Presence of myocardial hypoenhancement on multidetector computed tomography after primary percutaneous coronary intervention in acute myocardial infarction predicts poor prognosis. *Int. J. Cardiol.* 184:101-107.

- Ohno, I., H. Hayashi, K. Aonuma, M. Horio, N. Kashihara, H. Okada, Y. Komatsu, S. Tamura, K. Awai, Y. Yamashita, R. Kuwatsuru, A. Hirayama, Y. Saito, T. Murohara, N. Tamaki, A. Sato, T. Takayama, E. Imai, Y. Yasuda, D. Koya, Y. Tsubakihara, S. Horie, Y. Korogi, Y. Narumi, K. Hayakawa, H. Daida, K. Node, and I. Kubota. 2013. Guidelines on the use of iodinated contrast media in patients with kidney disease 2012: digest version : JSN, JRS, and JCS Joint Working Group. *Clin. Exp. Nephrol.* 17(4):441-479.
- Ozcan, E. E., S. Guneri, B. Akdeniz, I. Z. Akyildiz, O. Senaslan, N. Baris, O. Aslan, and O. Badak. 2007. Sodium bicarbonate, N-acetylcysteine, and saline for prevention of radiocontrast-induced nephropathy. A comparison of 3 regimens for protecting contrast-induced nephropathy in patients undergoing coronary procedures. A single-center prospective controlled trial. *Am Heart J.* 154(3):539-544.
- Parfrey P. The clinical epidemiology of contrast-induced nephropathy. 2005. *Cardiovasc Intervent Radiol.* 28(Suppl 2):S3-S11.
- Pakfetrat, M., M. H. Nikoo, L. Malekmakan, M. Tabandeh, J. Roozbeh, M. H. Nasab, M. A. Ostovan, S. Salari, M. Kafi, N. M. Vaziri, F. Adl, M. Hosseini, and P. Khajehdehi. 2009. A comparison of sodium bicarbonate infusion versus normal saline infusion and its combination with oral acetazolamide for prevention of contrast-induced nephropathy: a randomized, double-blind trial. *Int. Urol. Nephrol.* 41(3):629-634.
- Pannu, N., N. Wiebe, and M. Tonelli. 2006. Prophylaxis strategies for contrast-induced nephropathy. *JAMA.* 295(23):2765-2779.
- Persson, P. B., and M. Tepel. 2006. Contrast medium-induced nephropathy: the pathophysiology. *Kidney Int. Suppl.*(100):S8-10.
- Pluta, R. M., E. H. Oldfield, K. D. Bakhtian, A. R. Fathi, R. K. Smith, H. L. Devroom, M. Nahavandi, S. Woo, W. D. Figg, and R. R. Lonser. 2011. Safety and feasibility of long-term intravenous sodium nitrite infusion in healthy volunteers. *PLoS. ONE.* 6(1):e14504.
- Pohlmann, A., K. Cantow, J. Hentschel, K. Arakelyan, M. Ladwig, B. Flemming, U. Hoff, P. B. Persson, E. Seeliger, and T. Niendorf. 2013. Linking non-invasive parametric MRI with invasive physiological measurements (MR-PHYSIOL): towards a hybrid and integrated approach for investigation of acute kidney injury in rats. *Acta Physiol (Oxf).* 207(4):673-689.
- Proietto, J., F. Rohner-Jeanrenaud, E. Ionescu, J. Terrettaz, J. F. Sauter, and B. Jeanrenaud. 1987. Non-steady-state measurement of glucose turnover in rats by using a one-compartment model. *Am. J. Physiol.* 252(1 Pt 1):E77-E84.

- Rapoport, S., W.A. Brodsky, C.D. West. 1949. Excretion of solutes and osmotic work of the resting kidney of hydropenic man. *Am. J. Physiol.* 157(3):357-362.
- Recio-Mayoral, A., M. Chaparro, B. Prado, R. Cozar, I. Mendez, D. Banerjee, J. C. Kaski, J. Cubero, and J. M. Cruz. 2007. The reno-protective effect of hydration with sodium bicarbonate plus N-acetylcysteine in patients undergoing emergency percutaneous coronary intervention: the RENO Study. *J. Am. Coll. Cardiol.* 49(12):1283-1288.
- Reddan, D., M. Laville, and V. D. Garovic. 2009. Contrast-induced nephropathy and its prevention: What do we really know from evidence-based findings? *J. Nephrol.* 22(3):333-351.
- Reed, M., P. Meier, U. U. Tamhane, K. B. Welch, M. Moscucci, and H. S. Gurm. 2009. The relative renal safety of iodixanol compared with low-osmolar contrast media: a meta-analysis of randomized controlled trials. *JACC. Cardiovasc. Interv.* 2(7):645-654.
- Reed, M. C., M. Moscucci, D. E. Smith, D. Share, T. LaLonde, S. A. Mahmood, C. D'Haem, R. McNamara, A. Greenbaum, and H. S. Gurm. 2010. The relative renal safety of iodixanol and low-osmolar contrast media in patients undergoing percutaneous coronary intervention. Insights from Blue Cross Blue Shield of Michigan Cardiovascular Consortium (BMC2). *J. Invasive. Cardiol.* 22(10):467-472.
- Reinecke, H., M. Fobker, J. Wellmann, B. Becke, J. Fleiter, C. Heitmeyer, G. Breithardt, H. W. Hense, and R. M. Schaefer. 2007. A randomized controlled trial comparing hydration therapy to additional hemodialysis or N-acetylcysteine for the prevention of contrast medium-induced nephropathy: the Dialysis-versus-Diuresis (DVD) Trial. *Clin. Res. Cardiol.* 96(3):130-139.
- Reinhardt, H. W., and E. Seeliger. 2000. Toward an integrative concept of control of total body sodium. *News Physiol. Sci.* 15(6):319-325.
- Rihal, C. S., S. C. Textor, D. E. Grill, P. B. Berger, H. H. Ting, P. J. Best, M. Singh, M. R. Bell, G. W. Barsness, V. Mathew, K. N. Garratt, and D. R. Holmes, Jr. 2002. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention. *Circulation.* 105(19):2259-2264.
- Rudnick, M. R., S. Goldfarb, L. Wexler, P. A. Ludbrook, M. J. Murphy, E. F. Halpern, J. A. Hill, M. Winniford, M. B. Cohen, and D. B. VanFossen. 1995. Nephrotoxicity of ionic and nonionic contrast media in 1196 patients: a randomized trial. The Iohexol Cooperative Study. *Kidney Int* 47(1):254-261.



- Russo, D., R. Minutolo, B. Cianciaruso, B. Memoli, G. Conte, and L. De Nicola. 1995. Early effects of contrast media on renal hemodynamics and tubular function in chronic renal failure. *J. Am. Soc. Nephrol.* 6(5):1451-1458.
- Sacca, L., G. Perez, F. Rengo, and G. Critelli. 1976. Some peculiarities of the glucoregulatory response to glucose infusion in the rat. *Acta Diabetol. Lat.* 13(1-2):1-7.
- Schöbel, C., W. Clauß. 1993. Relevante Ergebnisse von Untersuchungen von nicht-ionischen Röntgenkontrastmitteln für die Risikoabschätzung für den Menschen. In: *Kontrastmittel in der Praxis*. P. Dawson and W. Clauß, ed. Springer-Verlag, Heidelberg. 12-20.
- Schmidt, P., D. Pang, D. Nykamp, G. Knowlton, and H. Jia. 2007. N-acetylcysteine and sodium bicarbonate versus N-acetylcysteine and standard hydration for the prevention of radiocontrast-induced nephropathy following coronary angiography. *Ann. Pharmacother.* 41(1):46-50.
- Schnackenberg, C. G. 2002. Physiological and pathophysiological roles of oxygen radicals in the renal microvasculature. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 282(2):R335-R342.
- Schurek, H. J. 1988. [Kidney medullary hypoxia: a key to understanding acute renal failure?]. *Klin. Wochenschr.* 66(18):828-835.
- Seeliger, E., K. Becker, M. Ladwig, T. Wronski, P. B. Persson, and B. Flemming. 2010a. Up to 50-fold increase in urine viscosity with iso-osmolar contrast media in the rat. *Radiology.* 256(2):406-414.
- Seeliger, E., K. Cantow, K. Arakelyan, M. Ladwig, P. B. Persson, and B. Flemming. 2014a. Low-dose nitrite alleviates early effects of an X-ray contrast medium on renal hemodynamics and oxygenation in rats. *Invest. Radiol.* 49(2):70-77.
- Seeliger, E., B. Flemming, T. Wronski, M. Ladwig, K. Arakelyan, M. Godes, M. Mockel, and P. B. Persson. 2007. Viscosity of contrast media perturbs renal hemodynamics. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18(11):2912-2920.
- Seeliger, E., M. Ladwig, L. Sargsyan, K. Cantow, P. B. Persson, and B. Flemming. 2012a. Proof of principle: hydration by low-osmolar mannitol-glucose solution alleviates undesirable renal effects of an iso-osmolar contrast medium in rats. *Invest. Radiol.* 47(4):240-246.

- Seeliger, E., D. C. Lenhard, and P. B. Persson. 2014b. Contrast media viscosity versus osmolality in kidney injury: lessons from animal studies. *Biomed. Res. Int.* 2014:358136.
- Seeliger, E., T. Lunenburg, M. Ladwig, and R. H. Wolfgang. 2010b. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system for control of arterial blood pressure following moderate deficit in total-body sodium - balance studies in freely moving dogs. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 37:e43-e51.
- Seeliger, E., M. Sendeski, C. S. Rihal, and P. B. Persson. 2012b. Contrast-induced kidney injury: mechanisms, risk factors, and prevention. *Eur. Heart J.* 33(16):2007-2015.
- Sendeski, M., A. Patzak, T. L. Pallone, C. Cao, A. E. Persson, and P. B. Persson. 2009. Iodixanol, constriction of medullary descending vasa recta, and risk for contrast medium-induced nephropathy. *Radiology* 251:697-704.
- Sendeski, M. M. 2011. The pathophysiology of renal tissue damage by iodinated contrast media. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.* 38:292-299.
- Sendeski, M. M., P. A. Bondke, Z. Z. Liu, J. F. Busch, S. Weikert, P. B. Persson, S. Hippenstiel, and A. Patzak. 2012. Iodinated contrast media cause endothelial damage leading to vasoconstriction of human and rat vasa recta. *Am. J. Physiol Renal Physiol.*
- Sircar, S. 2007. Principles of physical chemistry in physiology. Pages 19-24 in *Principles of medical physiology*. Thieme-Verlag, Stuttgart.
- Solomon, R. 2014. Forced diuresis with the RenalGuard system: impact on contrast induced acute kidney injury. *J. Cardiol.* 63(1):9-13.
- Solomon, R., and H. L. Dauerman. 2010. Contrast-induced acute kidney injury. *Circulation.* 122(23):2451-2455.
- Solomon, R., and A. Segal. 2008. Defining acute kidney injury: what is the most appropriate metric? *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 4(4):208-215.
- Solomon, R., C. Werner, D. Mann, J. D'Elia, and P. Silva. 1994. Effects of saline, mannitol, and furosemide to prevent acute decreases in renal function induced by radiocontrast agents. *N. Engl. J. Med.* 331(21):1416-1420.
- Speck, U. 1999. X-ray contrast media: physico-chemical properties. Pages 35-46 in *Textbook of Contrast Media*. P. Dawson, D. O. Cosgrove, and R. G. Grainger, ed. Informa Health Care, Oxford.

- Stacul, F., A. Adam, C. R. Becker, C. Davidson, N. Lameire, P. A. McCullough, and J. Tumlin. 2006. Strategies to reduce the risk of contrast-induced nephropathy. *Am. J. Cardiol.* 98(6A):59K-77K.
- Stacul, F., A. J. van der Molen, P. Reimer, J. A. Webb, H. S. Thomsen, S. K. Morcos, T. Almen, P. Aspelin, M. F. Bellin, O. Clement, and G. Heinz-Peer. 2011. Contrast induced nephropathy: updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *Eur. Radiol.*
- Stevens, M. A., P. A. McCullough, K. J. Tobin, J. P. Speck, D. C. Westveer, D. A. Guido-Allen, G. C. Timmis, and W. W. O'Neill. 1999. A prospective randomized trial of prevention measures in patients at high risk for contrast nephropathy: results of the P.R.I.N.C.E. Study. Prevention of Radiocontrast Induced Nephropathy Clinical Evaluation. *J. Am. Coll. Cardiol.* 33(2):403-411.
- Szabo, C., H. Ischiropoulos, and R. Radi. 2007. Peroxynitrite: biochemistry, pathophysiology and development of therapeutics. *Nat. Rev. Drug Discov.* 6(8):662-680.
- Tamura, A., Y. Goto, K. Miyamoto, S. Naono, Y. Kawano, M. Kotoku, T. Watanabe, and J. Kadota. 2009. Efficacy of single-bolus administration of sodium bicarbonate to prevent contrast-induced nephropathy in patients with mild renal insufficiency undergoing an elective coronary procedure. *Am. J. Cardiol.* 104(7):921-925.
- Thomsen, H. S. 2007. Current evidence on prevention and management of contrast-induced nephropathy. *Eur. Radiol.* 17 Suppl 6:F33-F37.
- Thomsen, H. S., and S. K. Morcos. 2003. Contrast media and the kidney: European Society of Urogenital Radiology (ESUR) guidelines. *Br. J. Radiol.* 76(908):513-518.
- Trivedi, H., S. Daram, A. Szabo, A. L. Bartorelli, and G. Marenzi. 2009. High-dose N-acetylcysteine for the prevention of contrast-induced nephropathy. *Am. J. Med.* 122(9):874-15.
- Tumlin, J., F. Stacul, A. Adam, C. R. Becker, C. Davidson, N. Lameire, and P. A. McCullough. 2006. Pathophysiology of contrast-induced nephropathy. *Am. J. Cardiol.* 98(6A):14K-20K.
- Ueda, J., T. Furukawa, K. Higashino, S. Takahashi, Y. Araki, K. Kubo, and T. Nakashima. 1997. Urine viscosity after injections of iotrolan or iomeprol. *Acta Radiol.* 38(6):1079-1082.

- Ueda, J., A. Nygren, P. Hansell, and U. Erikson. 1992. Influence of contrast media on single nephron glomerular filtration rate in rat kidney. A comparison between diatrizoate, iohexol, ioxaglate, and iotrolan. *Acta Radiol.* 33(6):596-599.
- Ueda, J., A. Nygren, P. Hansell, and H. R. Ulfendahl. 1993. Effect of intravenous contrast media on proximal and distal tubular hydrostatic pressure in the rat kidney. *Acta Radiol.* 34(1):83-87.
- Ueda, J., A. Nygren, M. Sjoquist, E. Jacobsson, H. R. Ulfendahl, and Y. Araki. 1998. Iodine concentrations in the rat kidney measured by X-ray microanalysis. Comparison of concentrations and viscosities in the proximal tubules and renal pelvis after intravenous injections of contrast media. *Acta Radiol.* 39(1):90-95.
- U.S. Department of Health and Human Services. Food and Drug Administration. 2005. Center for Drug Evaluation and Research: Guidance for Industry: Estimating the maximum safe starting dose in initial clinical trials for therapeutics in adult healthy volunteers. Available at:  
<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/ucm078932.pdf>.
- Van Praet, J. T., and A. S. De Vriese. 2007. Prevention of contrast-induced nephropathy: a critical review. *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 16(4):336-347.
- Venkataraman, R. 2008. Can we prevent acute kidney injury? *Crit Care Med.* 36(4 Suppl):S166-S171.
- Vicini, P., A. Caumo, and C. Cobelli. 1997. The hot IVGTT two-compartment minimal model: indexes of glucose effectiveness and insulin sensitivity. *Am. J. Physiol.* 273(5 Pt 1):E1024-E1032.
- Waikar, S. S., and J. V. Bonventre. 2009. Creatinine kinetics and the definition of acute kidney injury. *J. Am. Soc. Nephrol.* 20(3):672-679.
- Wasaki, M., J. Sugimoto, and K. Shirota. 2001. Glucose alters the susceptibility of mesangial cells to contrast media. *Invest Radiol.* 36(7):355-362.
- Waybill, M. M., and P. N. Waybill. 2001. Contrast media-induced nephrotoxicity: identification of patients at risk and algorithms for prevention. *J. Vasc. Interv. Radiol.* 12(1):3-9.
- Weisbord, S. D., M. K. Mor, A. L. Resnick, K. C. Hartwig, A. F. Sonel, M. J. Fine, and P. M. Palevsky. 2008. Prevention, incidence, and outcomes of contrast-induced acute kidney injury. *Arch. Intern. Med.* 168(12):1325-1332.

- Weisbord, S. D., and P. M. Palevsky. 2008. Prevention of contrast-induced nephropathy with volume expansion. *Clin J Am Soc Nephrol.* 3(1):273-280.
- Weisbord, S. D., and P. M. Palevsky. 2010a. Acute kidney injury: kidney injury after contrast media: marker or mediator? *Nat. Rev. Nephrol.* 6(11):634-636.
- Weisbord, S. D., and P. M. Palevsky. 2010b. Strategies for the prevention of contrast-induced acute kidney injury. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 19(6):539-549.
- Weiss, M. N. 2008. Haus- und Versuchstierpflege. 2. Auflage ed. MVS Medizinverlage Stuttgart.
- Yoshioka T. 1992. Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion. Pages 1008-1015 in . Fogo A and Beckman JK., ed.
- Zhang, Y., J. Wang, X. Yang, X. Wang, J. Zhang, J. Fang, and X. Jiang. 2012. The serial effect of iodinated contrast media on renal hemodynamics and oxygenation as evaluated by ASL and BOLD MRI. *Contrast. Media Mol. Imaging.* 7(4):418-425.
- Zoungas, S., T. Ninomiya, R. Huxley, A. Cass, M. Jardine, M. Gallagher, A. Patel, A. Vasheghani-Farahani, G. Sadigh, and V. Perkovic. 2009. Systematic review: sodium bicarbonate treatment regimens for the prevention of contrast-induced nephropathy. *Ann. Intern. Med.* 151(9):631-638.
- Zweier, J. L., H. Li, A. Samouilov, and X. Liu. 2010. Mechanisms of nitrite reduction to nitric oxide in the heart and vessel wall. *Nitric. Oxide.* 22(2):83-90.

## 7. Liste eigener Veröffentlichungen

---

### Artikel in wissenschaftlichen Zeitschriften

- Andreas, K., R. Georgieva, M. Ladwig, S. Mueller, M. Notter, M. Sittinger, and J. Ringe. 2012. Highly efficient magnetic stem cell labeling with citrate-coated superparamagnetic iron oxide nanoparticles for MRI tracking. *Biomaterials* 33(18):4515-4525.
- Arakelyan, K., K. Cantow, J. Hentschel, B. Flemming, A. Pohlmann, M. Ladwig, T. Niendorf, and E. Seeliger. 2013. Early effects of an x-ray contrast medium on renal T(2) \*/T(2) MRI as compared to short-term hyperoxia, hypoxia and aortic occlusion in rats. *Acta Physiol (Oxf)* 208(2):202-213.
- Gowik, P., B. Jülicher, M. Ladwig, and D. Behrendt. 2000. Measurement of beta-agonist residues in retinal tissue of food producing animals. *Analyst* 125(6):1103-1107.
- Grosenick, D., K. Cantow, K. Arakelyan, H. Wabnitz, B. Flemming, A. Skalweit, M. Ladwig, R. Macdonald, T. Niendorf, and E. Seeliger. 2015. Detailing renal hemodynamics and oxygenation in rats by a combined near-infrared spectroscopy and invasive probe approach. *Biomed. Opt. Express* 6(2):309-323.
- Grune, B., P.P. Tsai, H. Hackbarth, P. Steinberg, M. Ladwig, J. Völker, A. Fleig, U. Sauer, R. Nobiling, E.M. Sanfilippo, U. Schwarz. 2013. System zur Ontologie-basierten Einstufung der zu erwartenden Belastung von Tieren in Tierversuchsvorhaben – SONET. <http://www.gv-solas.de/index.php?id=61>
- Hoff, U., I. Lukitsch, L. Chaykovska, M. Ladwig, C. Arnold, V. L. Manthathi, T. F. Fuller, W. Schneider, M. Gollasch, D. N. Muller, B. Flemming, E. Seeliger, F. C. Luft, J. R. Falck, D. Dragun, and W. H. Schunck. 2011. Inhibition of 20-HETE synthesis and action protects the kidney from ischemia/reperfusion injury. *Kidney Int.* 79(1):57-65.
- Ladwig, M., K. Cantow, B. Flemming, P. Persson, and E. Seeliger. 2015. Comparison of the Effects of Iodixanol and Iopamidol on Urine Flow, Urine Viskosity, and Glomerular Filtration in Rats. *Journal of Urology and Nephrology* 2(1):7.
- Ladwig, M., B. Flemming, E. Seeliger, L. Sargsyan, and P. B. Persson. 2011. Renal effects of bicarbonate versus saline infusion for iso- and lowosmolar contrast media in rats. *Invest Radiol.* 46(11):672-677.
- Niendorf, T., A. Pohlmann, K. Arakelyan, B. Flemming, K. Cantow, J. Hentschel, D. Grosenick, M. Ladwig, H. Reimann, S. Klix, S. Waiczies, and E. Seeliger. 2015. How bold is blood oxygenation level-dependent (BOLD) magnetic resonance imaging of the kidney? Opportunities, challenges and future directions. *Acta Physiol (Oxf)* 213(1):19-38.
- Pohlmann, A., K. Arakelyan, J. Hentschel, K. Cantow, B. Flemming, M. Ladwig, S. Waiczies, E. Seeliger, and T. Niendorf. 2014. Detailing the relation between renal T2\* and renal tissue pO2 using an integrated approach of parametric magnetic resonance imaging and invasive physiological measurements. *Invest Radiol.* 49(8):547-560.

- Pohlmann, A., K. Cantow, J. Hentschel, K. Arakelyan, M. Ladwig, B. Flemming, U. Hoff, P. B. Persson, E. Seeliger, and T. Niendorf. 2013. Linking non-invasive parametric MRI with invasive physiological measurements (MR-PHYSIOL): towards a hybrid and integrated approach for investigation of acute kidney injury in rats. *Acta Physiol (Oxf)* 207(4):673-689.
- Rieke, S., F. Schmidt, T. Heise, R. Pfeil; M. Ladwig, W. Haider, K. I. Hirsch-Ernst, L. Niemann, P. Marx-Stoelting. 2013. Combination effects of (tri)azole fungicides on the adrenal gland in vivo. *Toxicology Letters* 221:S198.
- Seeliger, E., K. Becker, M. Ladwig, T. Wronski, P. B. Persson, and B. Flemming. 2010a. Up to 50-fold increase in urine viscosity with iso-osmolar contrast media in the rat. *Radiology* 256(2):406-414.
- Seeliger, E., K. Cantow, K. Arakelyan, M. Ladwig, P. B. Persson, and B. Flemming. 2014. Low-dose nitrite alleviates early effects of an X-ray contrast medium on renal hemodynamics and oxygenation in rats. *Invest Radiol.* 49(2):70-77.
- Seeliger, E., B. Flemming, T. Wronski, M. Ladwig, K. Arakelyan, M. Godes, M. Mockel, and P. B. Persson. 2007. Viscosity of contrast media perturbs renal hemodynamics. *J. Am. Soc. Nephrol.* 18(11):2912-2920.
- Seeliger, E., M. Ladwig, and H. W. Reinhardt. 2006. Are large amounts of sodium stored in an osmotically inactive form during sodium retention? Balance studies in freely moving dogs. *Am. J. Physiol Regul. Integr. Comp Physiol* 290(5):R1429-R1435.
- Seeliger, E., M. Ladwig, L. Sargsyan, K. Cantow, P. B. Persson, and B. Flemming. 2012. Proof of principle: hydration by low-osmolar mannitol-glucose solution alleviates undesirable renal effects of an iso-osmolar contrast medium in rats. *Invest Radiol.* 47(4):240-246.
- Seeliger, E., T. Lunenburg, M. Ladwig, and H. W. Reinhardt. 2010b. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system for control of arterial blood pressure following moderate deficit in total body sodium: balance studies in freely moving dogs. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 37(2):e43-e51.
- Seeliger, E., T. Wronski, M. Ladwig, L. Dobrowolski, T. Vogel, M. Godes, P. B. Persson, and B. Flemming. 2009. The renin-angiotensin system and the third mechanism of renal blood flow autoregulation. *Am. J. Physiol Renal Physiol* 296(6):F1334-F1345.
- Seeliger, E., T. Wronski, M. Ladwig, T. Rebeschke, P. B. Persson, and H. W. Reinhardt. 2005. The 'body fluid pressure control system' relies on the Renin-Angiotensin-aldosterone system: balance studies in freely moving dogs. *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol* 32(5-6):394-399.
- Schmidt, F., S. Rieke, T. Heise, M. Ladwig, W. Haider, K. Ildico Hirsch-Ernst, L. Niemann, R. Pfeil, P. Marx-Stoelting. 2013. Toxic effects of combined (tri)azole fungicides on prostate gland and testis in rats. *Toxicology Letters* 221:S202-S203.

Wiersma, L. C., S. E. Vogelzang-van Trierum, A. G. van, R. P. van, N. J. Nieuwkoop, M. Ladwig, S. Banneke, H. Schaefer, T. Kuiken, R. A. Fouchier, A. D. Osterhaus, and G. F. Rimmelzwaan. 2015b. Pathogenesis of infection with 2009 pandemic H1N1 influenza virus in isogenic guinea pigs after intranasal or intratracheal inoculation. *Am. J. Pathol.* 185(3):643-650.

Wiersma LC, J.H. Kreijtz, S.E. Vogelzang-van Trierum, G. van Amerongen, P. van Run, M.Ladwig, S. Banneke , H. Schaefer , R.A. Fouchier, T Kuiken, A.D. Osterhaus, G.F. Rimmelzwaan. 2015. Virus replication kinetics and pathogenesis of infection with H7N9 influenza virus in isogenic guinea pigs upon intratracheal inoculation. *Vaccine*. [Epub ahead of print]

Wiersma LC, S.E. Vogelzang-van Trierum, J.H. Kreijtz, G. van Amerongen, P. van Run, M. Ladwig, S. Banneke , H. Schaefer, R.A. Fouchier, T. Kuiken, A.D. Osterhaus, G.F. Rimmelzwaan. 2015. Heterosubtypic immuncity to H7N9 influenza virus in isogenic guinea pigs after infection with pandemic H1N1 virus. *Vaccine*. [Epub ahead of print]



## 8. Danksagung

---

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen bedanken, die zum Gelingen dieser Arbeit direkt oder indirekt beigetragen haben.

Diese Arbeit wurde unter der Leitung von Herrn Prof. Dr. med. H. Scholz und Dr. med. E. Seeliger am Institut für vegetative Physiologie der Charité – Universitätsmedizin Berlin angefertigt. Ich danke Ihnen für die Überlassung des Themas sowie für die gewährte Unterstützung und Beratung bei der Abfassung dieser Arbeit.

Besonders herzlich möchte ich mich bei Dr. med. E. Seeliger bedanken für die direkte Betreuung der Arbeit, seine Anleitung zu wissenschaftlichem Arbeiten, seine wertvollen Anregungen und Unterstützung in allen fachlichen Fragen, seine Geduld und seine Wertschätzung. Danke auch für die selbstlose Unterstützung meiner beruflichen Weiterentwicklung. Gemeinsam mit ihm gebührt mein Dank auch OA Dr. med. B. Flemming für die Weitergabe seines reichen Wissens, für die ständige Herausforderung, selbständig zu denken und die Einarbeitung in chirurgisch und technisch aufwendige Untersuchungsmethoden.

Herrn Prof. Dr. med. vet. J. R. Aschenbach danke ich für seine Bereitschaft, die Arbeit am Fachbereich Veterinärmedizin zu vertreten, sowie für seine konstruktive Kritik und seine hilfreichen Hinweise bei deren Fertigstellung.

Nicht zuletzt möchte ich mich auch bei meiner Familie bedanken, bei meinem Mann und unseren Kindern, denen ich eine Menge zugemutet habe und die mich besonders in der Endphase dieser Arbeit geduldig ertragen und ermutigt haben, bei meinen Eltern, die mich bedingungslos unterstützen und bei meinem Onkel Heinz und meiner Tante Maria, die den Wunsch in mir geweckt haben, Tierärztin zu werden.

Ich danke allen Kollegen, die mich unterstützt haben, sei es durch die gute Zusammenarbeit, verständnisvolles Zuhören, aufmunternde Gespräche oder bereitwilliges Korrekturlesen und allen Freunden, die mich während der verschiedenen Phasen begleitet und getragen haben.

## 9. Selbstständigkeitserklärung

---

Ich erkläre hiermit, dass ich die vorliegende Dissertation selbständig, ohne unzulässige fremde Hilfe und nur unter Verwendung der angegebenen Literatur und Hilfsmittel und der in der Danksagung erwähnten Unterstützung angefertigt habe.

Berlin, 2015

.....

Mechthild Ladwig