

Aus dem Institut/der Klinik für Public Health
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Beta-Trace Protein als endogener renaler Biomarker zur Be-
stimmung der Nierenfunktion bei Individuen im Alter von 70
Jahren und älter

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Camilla Koep

aus Berlin

Datum der Promotion: 13.12.2019

Teilergebnisse der vorliegenden Arbeit wurden veröffentlicht in: Scientific Reports, 4. Oktober 2017. (Ebert N, Koep C, Schwarz K, Martus P, Mielke N, Bartel J, Kuhlmann M, Gaedeke J, Toelle M, van der Giet M, Schuchardt M, Schaeffner E. Beta Trace Protein does not outperform Creatinine and Cystatin C in estimating Glomerular Filtration Rate in Older Adults. Sci Rep. 4. Oktober 2017;7(1):12656.)

Lizenz für die verwendeten Abbildungen aus: Scientific Reportsvolume 7, Artikelnummer: 12656 (2017)

<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/legalcode.de>

Es wurden keine Änderungen der Abbildungen vorgenommen.

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	III
Abbildungs- und Tabellenverzeichnis	V
Glossar	VI
Abstrakt	VIII
Abstract	X
1. Einleitung	1
1.1 Hintergrund: Nierenfunktion	1
1.1.1 Niere: Aufbau.....	1
1.1.2 Nierenfunktion im Alter	3
1.1.3 Relevanz der Nierenfunktionsbestimmung	4
1.2 Methoden der Nierenfunktionsbestimmung	4
1.2.1 Die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR).....	5
1.2.2 Bestimmung der Nierenfunktion mit der Clearance-Technik	6
1.2.3 Bestimmung der Nierenfunktion mit Schätzformeln.....	7
1.3 Bestimmung der Nierenfunktion mit exogenen Biomarkern	9
1.3.1 Inulin.....	9
1.3.2 Iohexol.....	10
1.4 Bestimmung der Nierenfunktion mit endogenen Biomarkern	11
1.4.1 Kreatinin	11
1.4.2 Cystatin C.....	13
1.4.3 Beta-Trace Protein	14
1.5 Zielsetzung	15
2. Methodik	17
2.1 Die Berliner Initiative Studie	17
2.2 Studiendesign und -population	18

2.3 Iohexol-Subpopulation: Studienablauf	19
2.3.1 Protokoll der Iohexol-Messung	19
2.3.2 Weitere Untersuchungen	20
2.3.3 Datenschutz	20
2.4 Laboranalyse	21
2.5 Statistik	23
3. Ergebnisse	26
3.1 Patientencharakteristika der Iohexol-Subpopulation mit BTP	26
3.2 Vergleich von BTP, Kreatinin und Cystatin C mit der mGFR sowie miteinander	29
3.3 Validierung von BTP-basierten eGFR-Formeln	32
3.4 Vergleich von BTP und anderen endogenen Biomarkern	39
4. Diskussion	44
4.1 Hauptergebnis: BTP als renaler Biomarker erzielt keinen Vorteil	45
4.2 Vergleich unserer Ergebnisse mit der aktuellen Studienlage	46
4.3 Übertragbarkeit der vorliegenden Ergebnisse	50
4.4 Limitationen der Studie	51
4.5 Implikationen für Klinik und Forschung	55
4.6 Schlussfolgerung	56
Literaturverzeichnis	57
Eidesstattliche Versicherung	72
Lebenslauf	73
Publikationsliste	74
Danksagung	75

Abbildungs- und Tabellenverzeichnis

1.1.1	Abbildung 1: Struktureller Aufbau der Niere	2
1.1.1	Abbildung 2: Aufbau eines Glomerulus.....	3
3.1	Tabelle 1: Charakteristika der Iohexol-Subpopulation mit BTP.....	27
3.1	Abbildung 3: Median-BTP Konzentrationen der BIS Iohexol Subpopulation aufgeteilt in Alter und Geschlecht.....	28
3.1	Tabelle 2: Genaue Median-BTP-Konzentrationen in verschiedenen Altersgruppen a) Männer, b) Frauen.....	29
3.2	Tabelle 3: Pearson-Rho(ρ)-Korrelationskoeffizienten des Logarithmus der endogenen Filtrationsmarker.....	29
3.2	Tabelle 4: Siebzehn Regressionsmodelle mit den einzelnen renalen Biomarkern oder deren Kombination	31
3.3	Tabelle 5: Ergebnisse der eGFR-Berechnung mithilfe BTP-basierter Formeln.....	32
3.3	Abbildung 4: Boxplots: Vergleich der mGFR mit den vier BTP-basierten GFR-Gleichungen.....	33
3.3	Abbildung 5: Boxplots: Vergleich der mGFR mit den kombinierten Kreatinin/ Cystatin C eGFR-Formeln.....	34
3.3	Abbildung 6: Differenz der sieben eGFR-Formeln im Vergleich zur mGFR.....	34
3.3	Tabelle 6: Bias, Präzision, Genauigkeit der eGFR-Formeln bei Individuen von 70 Jahren.....	36
3.3	Abbildung 7: Bland-Altman-Diagramm: BTP-basierte eGFR-Formeln im Vergleich zur mGFR.....	37
3.3	Abbildung 8: Bland-Altman-Diagramm: Kreatinin/ Cystatin C-basierte eGFR-Formel versus mGFR.....	38
3.4	Tabelle 7: Genaue McNemar-Signifikanz-Wahrscheinlichkeit für jeweilige eGFR-Schätzformel.....	40
3.4	Tabelle 8: Beispiel aus Tabelle 7.....	40
3.4	Tabelle 9: Doppelt logarithmisches lineares Regressionsmodell.....	41
3.4	Tabelle 10: Standardisierte und nicht-standardisierte doppelt logarithmische Regressionsmodelle.....	42-43

Glossar

AASK	African American Study of Kidney (Afro-Amerikanische Nierenstudie)
aHT	arterielle Hypertonie
ARIC	Atherosclerosis Risk in Communities (Atherosklerose Risiko in der Allgemeinbevölkerung)
ATP	Adenosin-Triphosphat
BIS	Berliner Initiative Studie
BMI	Body Mass Index
BSA	Body Surface Area (Körperoberfläche)
BTP	Beta-Trace Protein
B2M	Beta-2 Mikroglobulin
CI	Confidence Intervall (Konfidenzintervall)
CKD	Chronic Kidney Disease (chronische Nierenkrankheit)
CKD-EPI	Chronic Kidney Disease Epidemiology (Chronische Nierenkrankheit Epidemiologie)
COX	Cyclooxygenase
CRIC	Chronic Renal Insufficiency Cohort (Chronische Niereninsuffizienz Kohorte)
CRP	C-reaktives Protein
CysC	Cystatin C
Da	Dalton
DM	Diabetes mellitus
ELISA	Enzym-linked Immunosorbent Assay (Antikörper basiertes Nachweisverfahren)
ESRD	End Stage Renal Disease (Niereninsuffizienz im Endstadium)
FAS	Full Age Spectrum (Gesamtes Altersspektrum)
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate
eGFR	estimated GFR (geschätzte GFR)
mGFR	measured GFR (gemessene GFR)
Krea	Kreatinin
KDIGO	Kidney Disease: Improving Global Outcomes
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease (Modifizierung der Ernährung bei Nierenkrankheit)
ml	Milliliter

NSAR Nicht steroidales Antirheumatikum
SKr Serum Kreatinin

Abstrakt

Einleitung

Die exakte Bestimmung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) trägt entscheidend zur Diagnostik und Therapie von Patienten mit Nierenerkrankungen bei. Die etablierten endogenen Biomarker Kreatinin und Cystatin C weisen einige Nachteile auf, sodass trotz intensiver Forschung der ideale Biomarker zur Bestimmung der Nierenfunktion noch nicht identifiziert werden konnte. Insbesondere in der älteren Bevölkerung ist die exakte Bestimmung jedoch unerlässlich für wichtige Therapieentscheidungen und die Verlaufsbeurteilung der chronischen Niereninsuffizienz. In den letzten Jahren kam das Beta-Trace Protein (BTP) als Alternative zu den etablierten Biomarkern auf.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zu überprüfen, ob BTP einen Vorteil bei der Bestimmung der Nierenfunktion bei Personen über 70 Jahren liefert.

Methodik

Bei 566 Probanden der Berliner Initiative Studie (BIS) mit einem mittleren Alter von 78,5 Jahren erfolgte die Goldstandardbestimmung der GFR mittels Iohexol-Plasmaclearance-messung. Kreatinin, Cystatin C und BTP wurden im Serum analysiert.

Die statistische Auswertung erfolgte erstens durch eine Korrelationsanalyse, in der die gemessene GFR (mGFR) mit den Biomarkern sowie die Biomarker miteinander korreliert wurden. Zweitens wurde in einem doppelt linearen logarithmischen Modell die Genauigkeit der Vorhersage der mGFR von BTP überprüft. Die Analysen fanden mit BTP alleine sowie in Kombination mit Kreatinin und Cystatin C statt. Das Modell wurde auf Alter und Geschlecht angepasst. Des Weiteren wurde die mGFR mit den Ergebnissen aus GFR-Schätzformeln (estimated GFR (eGFR)) verglichen. Subgruppenanalysen fanden in schlanken und übergewichtigen Individuen sowie bei Individuen mit arterieller Hypertonie und Diabetes mellitus statt.

Ergebnisse

In der Korrelationsanalyse zeigte Cystatin C die höchste Korrelation mit der mGFR. In dem doppelt logarithmischen Modell konnte durch die Kombination der drei Biomarker die genaueste Vorhersage der mGFR ($r^2 = 0,83$) getroffen werden, die Kombination aus Kreatinin und Cystatin C zeigte jedoch nur minimal schlechtere Ergebnisse ($r^2 = 0,82$). BTP schnitt als alleiniger Biomarker am schlechtesten ab ($r^2 = 0,67$). Im Vergleich der BTP-basierten eGFR-Schätzformeln erzielte die Inker-Formel die besten Ergebnisse.

In den Subgruppenanalysen konnte ein minimaler Vorteil bei schlanken Individuen sowie Individuen mit Diabetes mellitus und arterieller Hypertonie festgestellt werden.

Schlussfolgerung

BTP übertrifft in der Patientengruppe von Personen im Alter von 70 Jahren und älter die etablierten Filtrationsmarker Kreatinin und Cystatin C nicht und liefert keinen Vorteil bei der Bestimmung der GFR. Insbesondere dem etablierten Cystatin C ist es nicht überlegen.

Abstract

Background

The exact measurement of glomerular filtration rate (GFR) is important for diagnostics and therapy of patients with chronic kidney disease. The common used filtration markers creatinine and cystatin C show some disadvantages. Deductive, the ideal endogenous filtration marker has not been identified yet. Especially in the population of the elderly the exact height of GFR is important for clinical decision making and the progress of chronic kidney disease. During the last years, beta-Trace protein (BTP) came up as an alternative endogenous biomarker.

In the present work, the question ought to be solved whether BTP serves as an alternative endogenous marker in the prediction of GFR in the elderly (≥ 70 years).

Methods

In 566 individuals of the Berlin Initiative Study (BIS) (mean age 78.5 years) GFR was measured using Iohexol-plasmaclearance. Creatinine, Cystatin C and BTP were measured in serum. Statistical analyses were performed, correlating the three endogenous biomarker with measured GFR (mGFR) as well as with each other. In a double logarithmic linear model prediction of mGFR using BTP was evaluated. Analyses were performed with BTP only and in combination with creatinine and cystatin C. The model got adjusted for age and gender. Further, the mGFR was compared to results of GFR-estimating equations (eGFR). Subgroup analyses were performed in lean and obese individuals and in individual with diabetes mellitus and arterial hypertension.

Results

The best correlation was found between Cystatin C and mGFR. The double logarithmic linear model showed the best prediction using the combination of the three biomarkers ($r^2 = 0,83$), but the combination of creatinine and cystatin C was just slightly inferior ($r^2 = 0,82$). Using BTP only showed worst prediction ($r^2 = 0,67$). Within the BTP eGFR-equations, Inker-formula demonstrated the best results. Slight additional benefit using BTP could be found in lean, diabetic and hypertensive individuals.

Conclusion

Using BTP in the elderly does not outperform the common used endogenous filtration markers creatinine and cystatin C. Particularly cystatin C redundantises the addition of BTP.

1. Einleitung

1.1 Hintergrund: Nierenfunktion

Die Niere nimmt im komplexen System des menschlichen Körpers eine zentrale Stellung ein und ist mit ihren zahlreichen Funktionen unerlässlich für seine korrekte Funktionsweise.

Die Aufgaben der Nieren lassen sich in fünf Felder kategorisieren. Ihre Hauptaufgabe besteht in der Ausscheidung harnpflichtiger Substanzen. Hierzu zählen unter anderem Harnstoff und Harnsäure ebenso wie Medikamente und andere körperfremde Stoffe. Neben der Bilanzierung des Wasser- und Elektrolythaushaltes erhält sie über H^+ - und HCO_3^- -Ausscheidung auch das Säure-Basen-Gleichgewicht aufrecht.

Des Weiteren ist sie ein Teil des Systems, das den Blutdruck reguliert. Durch die Bildung des proteolytischen Enzyms Renin im juxtaglomerulären Apparat kommt es über mehrere Zwischenschritte zur Bildung des vasokonstriktorisch aktiven und Aldosteron-freisetzenden Angiotensin II. Dies führt zur Steigerung des Blutdrucks.

Auch an der Bildung beziehungsweise dem Abbau von Hormonen ist sie beteiligt. Hierzu zählen Erythropoetin, ein für die Blutbildung benötigtes Hormon, sowie Kalzitriol, das für den Knochenstoffwechsel relevant ist.(1)

1.1.1 Niere: Aufbau

Um all die oben genannten Funktionen zu erfüllen, sind ein komplexer Aufbau und eine hohe Spezifität der bildenden Elemente nötig. In *Abbildung 1* ist dieser Aufbau schematisch dargestellt.

Als paarig angelegtes Organ liegt die Niere im Retroperitoneum und erhält über die Arteria renalis circa 20% des Herzminutenvolumens. Nach mehreren Aufzweigungen entspringen der Arterie schließlich die Vasa afferentes. Diese gehen in kugelförmige Kapillarsysteme über, die Glomeruli corpusculi renalis (kurz Glomeruli) und bilden zusammen mit dem Tubulussystem das Nephron, die funktionelle Einheit der Niere.

In *Abbildung 2* ist ein Glomerulus schematisch dargestellt. In den circa 10^6 Glomeruli der menschlichen Niere (2) findet durch Ultrafiltration die Bildung des Primärharns statt. Den Filter hierfür bilden das Endothel der Glomeruluskapillaren, die Schlitzmembran zwischen den Podozyten der Bowman-Kapsel sowie deren gemeinsame,

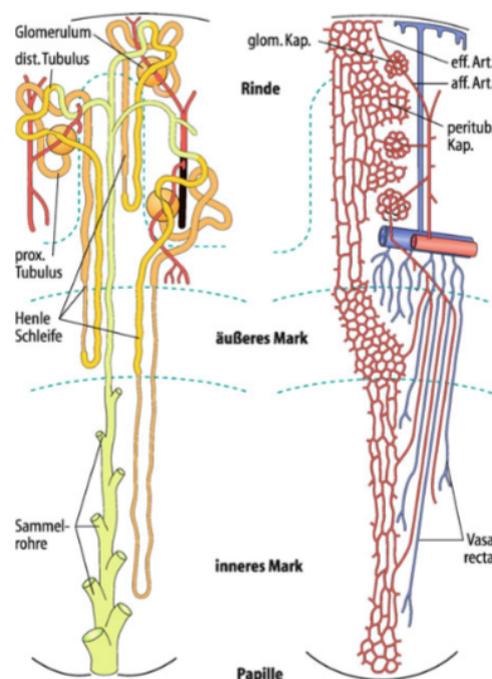
negativ geladene Basalmembran (3). Welche Substanzen hierbei gefiltert werden, ist abhängig von der Größe, der elektrischen Ladung sowie dem Molekulargewicht. Pro Minute entstehen circa 120ml Ultrafiltrat. Dieses gelangt in das sich anschließende Tubulussystem, das aus

- proximalem Tubulus mit einem gewundenen und einem geraden Teil,
- Henle-Schleife mit einem dünnen, absteigenden Teil sowie einem dünnen und dicken aufsteigenden Teil und
- distalem Tubulus mit je einem gewundenen und einem geraden Teil

besteht. Die morphologisch und somit funktionell verschiedenen Abschnitte wandeln den Primärharn in mehreren Teilschritten zu Endharn um. Durch Reabsorption können für den Organismus notwendige Substanzen zurückgehalten und durch Sekretion ausscheidungspflichtige Substanzen eliminiert werden. Über das sogenannte Sammelrohr, an dem mehrere distale Tubuli von unterschiedlichen Nephronen enden, wird der Endharn schließlich in das Nierenbecken geleitet und in Form von Urin ausgeschieden.(4)

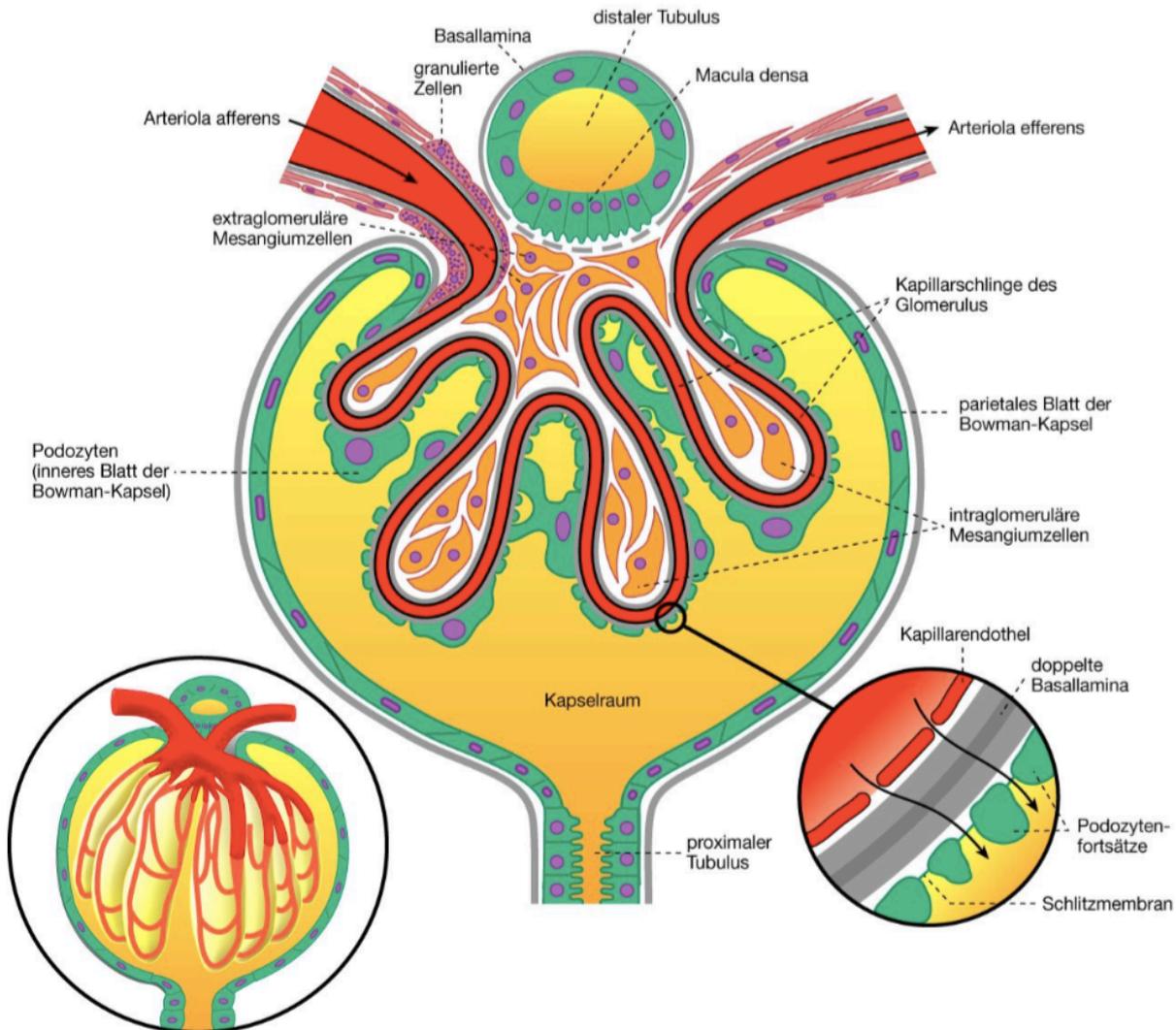
Das filtrierte Blut wird über efferente Arteriolen, Vasa efferentes, abgeleitet und versorgt nachfolgend die Nierenrinde und das -mark mit Nährstoffen.

Abbildung 1: Struktureller Aufbau der Niere



Schmidt RF, Lang F, Heckmann M, et al. Physiologie des Menschen mit Pathophysiologie. Springer Medizin Verlag Heidelberg, 2010: 630.

Abbildung 2: Aufbau eines Glomerulus



Welsch U, Lehrbuch Histologie. Elsevier Urban und Fischer; 2006: 454.

1.1.2 Nierenfunktion im Alter

Mit zunehmendem Alter kommt es zu einer Einschränkung der Nierenfunktion. So sinkt die Zahl der Glomeruli bereits ab der Geburt stetig (5) und nimmt mit steigendem Alter immer weiter ab (6). Ab dem 30. (7–10) bzw. 40. (8,11) Lebensjahr zeigen einige Studien bereits eine Abnahme der glomerulären Filtrationsrate (GFR) um circa 0,75 ml/min/1,73m² pro Jahr. Anatomische, strukturelle und funktionelle Veränderungen in der Niere sind ein Teil dieses komplexen Prozesses (12). Makroskopisch kommt es zu einer Abnahme der Nierengröße, des Nierenvolumens und der Parenchymdichte: Vom 30. bis zum 80. Lebensjahr nimmt die Nierenmasse um 20-25% ab (13). Auf mikroskopischer Ebene finden sich vermehrt Glomerulosklerose (14), interstitielle

Fibrose, Tubulusatrophie sowie Arteriosklerose (15,16). Worauf diese Prozesse beruhen, ist bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht vollends geklärt. Somit stellt sich die Frage, ob es sich bei der Abnahme der GFR um einen physiologischen Prozess handelt und somit gar keinen pathologischen Befund darstellt. In klinischen Studien, die sich mit GFR-Schätzformeln beschäftigen, sind ältere Menschen meist unterrepräsentiert (17). Keine der populationsbasierten Studien nutzte eine bei Personen >70 Jahren validierte GFR-Schätzformel, um die Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung zu bestimmen (18). Auch die aktuellen Leitlinien der Kidney Disease: Improving global outcomes (KDIGO) berücksichtigen bei der Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz das Alter nicht (19). Hinzu kommt, dass noch kein idealer endogener Nierenfunktionsmarker gefunden wurde, der eine exakte Bestimmung der GFR garantiert.

1.1.3 Relevanz der Nierenfunktionsbestimmung

Die Korrektheit der Bestimmung der GFR ist zur Abschätzung der Nierenfunktion von großer Bedeutung. So beruht die Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz maßgeblich auf der Höhe der GFR. Auch die Gabe von Kontrastmittel, die korrekte Dosierung von Medikamenten und der Zeitpunkt des Beginns einer Nierenersatztherapie sind von ihr abhängig. Die Beeinträchtigung der Nierenfunktion ist des Weiteren ein unabhängiger Risikofaktor für kardiovaskuläre Morbidität, Mortalität (20–22) sowie Gebrechlichkeit (23).

1.2 Methoden der Nierenfunktionsbestimmung

Die Vorgänge im Inneren der Niere zu bestimmen, stellte für Wissenschaftler wegen ihrer Unzugänglichkeit lange Zeit eine Schwierigkeit dar (24). Die „modernen Untersuchungstechniken“ wurden im Laufe des 20. Jahrhunderts entwickelt (1). Heutzutage kann die Nierenfunktion mithilfe unterschiedlicher Techniken und Methoden bestimmt werden.

1.2.1 Die Glomeruläre Filtrationsrate (GFR)

Um die Funktion der Niere zu bestimmen, wird weltweit die GFR als Indikator genutzt (25).

Sie ist definiert als das pro Zeiteinheit von den Glomeruli beider Nieren filtrierte Volumen und wird von drei Faktoren bestimmt:

1) Hydraulische Leitfähigkeit (L_p): Aufgrund der Porenweite und der Wandladung besteht eine hohe Durchlässigkeit für Plasma und seine gelösten Stoffe. Makromoleküle, wie zum Beispiel Albumin, sowie Blutzellen werden zurückgehalten.

2) Filterfläche (F): Diese wird durch die Anzahl der funktionsfähigen Glomeruli bestimmt.

3) Effektiver Filtrationsdruck (P_{eff}): Dieser setzt sich aus der Differenz zwischen dem intrakapillären hydrostatischen (Δp) und dem im glomerulären Kapselraum herrschenden kolloidosmotischen ($\Delta \pi$) Druck zusammen. Der kolloidosmotische Druck steigt mit zunehmender Flüssigkeitsfiltration an, sodass der effektive Filtrationsdruck am Ende der Kapillare gegen null geht. (1)

Aufgrund dessen ergeben sich folgende Gleichungen:

Formel 1:
$$GFR = L_p \cdot F \cdot P_{eff}$$

wobei:

Formel 2:
$$L_p \cdot F = K_f$$

und:

Formel 3:
$$P_{eff} = \Delta p - \Delta \pi$$

Aufgrund der Fähigkeit zur Autoregulation schafft die Niere es, auch bei wechselndem systemischen Blutdruck die Filtrationsrate konstant zu halten. Der dahinterstehende Mechanismus beruht auf Widerstandsveränderungen im zuführenden Gefäß, der Vasafferens: Vasokonstriktion bei Blutdruckanstieg bzw. Vasodilatation bei Blutdruckabfall.

So liegen die allgemein anerkannten Normwerte der GFR bei 85 – 135 ml / min pro 1,73 m² Körperoberfläche.

1.2.2 Bestimmung der Nierenfunktion mit der Clearance-Technik

Clearance (englisch= Ausscheidung, Eliminierung) ist definiert als die vollständige Reinigung eines virtuellen Plasmavolumens von einem bestimmten Stoff über einen definierten Zeitraum. Die Geschwindigkeit der Ausscheidung über die Nieren des zu eliminierenden, im Plasma vorliegenden Stoffes sollte gleich der Geschwindigkeit der Ausscheidung des Stoffes im Urin sein (26).

Falls dies gegeben ist, lässt sich die Clearance (C_x in ml/min) mithilfe folgender Formel berechnen:

Formel 4:
$$C_x = \frac{U_x}{P_x} \cdot V$$

wobei U_x der Konzentration des Stoffes X im Urin, P_x der Konzentration des Stoffes X im Plasma und V dem Harnzeitvolumen entspricht.

Die Clearance eines idealen Filtrationsmarkers, wie unten definiert, ist gleich der GFR und unabhängig von der Serumkonzentration bzw. dessen Infusionsgeschwindigkeit (25).

Ideale Filtrationsmarker sollten folgende Kriterien erfüllen:

- freie Filtration,
- keine Resorption,
- keine Sekretion,
- keine Synthese sowie kein Abbau im Tubuluslumen,
- nicht an Plasmaproteine gebunden,
- nicht toxisch,
- keine Veränderung der Nierenfunktion. (1,27)

Folgende Clearance-Verfahren sind bekannt: Exogen mit der Inulin-Clearance bzw. alternativ Iohexol-Clearance. Erstere findet in der Praxis kaum noch Anwendung. Aufgrund der leichteren Durchführbarkeit wird in der Klinik häufig die Bestimmung der Clearance mit dem endogen vorkommenden Kreatinin vorgezogen. In den Punkten

1.3.1. bzw. 1.3.2. sowie in 1.4.1. wird auf die verwendeten Filtrationsmarker näher eingegangen.

1.2.3 Bestimmung der Nierenfunktion mit Schätzformeln

Die Ermittlung der GFR mittels Clearance-Verfahren ist nur limitiert verfügbar und mit hohen Kosten sowie großem Aufwand verbunden. Daher findet im klinischen Alltag die Abschätzung der GFR mithilfe von Schätzformeln Anwendung. Diese wird auch als „estimated (englisch= abschätzen) GFR“ (eGFR) bezeichnet. Formelabhängig fließen in die Berechnung der eGFR endogene Filtrationsmarker wie Kreatinin, Cystatin C bzw. BTP, neben Alter, Geschlecht, Größe, Gewicht und eventuell Ethnizität ein.

Folgende Formeln finden heutzutage im klinischen Alltag Anwendung:

Cockcroft-Gault-Formel (28): $eGFR = ((140 - A)/S_{Kr}) \cdot (KG/72)$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 0,85 multipliziert.

MDRD-Formel (29): $eGFR = 175(\text{bzw. } 186) \cdot S_{Kr}^{-1,154} \cdot A^{-0,203}$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 0,742 multipliziert, bei schwarzer Hautfarbe mit 1,212.

CKD-EPI-Formel (30): $eGFR = 141 \cdot \min(S_{Kr}/K, 1)^\alpha \cdot \max(S_{Kr}/K, 1)^{-1,209} \cdot 0,933^A$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 1,018 multipliziert, bei schwarzer Hautfarbe mit 1,159.

Problematisch an den vorliegenden Formeln ist, dass ältere Menschen in Studienpopulationen, in denen eGFR-Formeln entwickelt werden, unterrepräsentiert sind (17). Weder die Cockcroft-Gault (CG) eGFR-Formel noch die beiden am häufigsten verwendeten eGFR-Formeln der Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) - und der Chronic Kidney Disease Epidemiology (CKD-EPI) -Studien wurden in Populationen mit älteren Patienten entwickelt. Auch wenn letztere etwa 650 Patienten älteren Alters einschloss, lag der Altersdurchschnitt bei 47 Jahren. In der Cockcroft-Gault-Population lag der Altersdurchschnitt bei 57 Jahren, in der MDRD-Population bei 50,6 Jahren. Ein Einfluss des Alters ist jedoch insbesondere bei der CG- sowie bei der MDRD-Formel festgestellt worden (31). Hinzu kommt, dass diese Formeln auch in Studien

mit älteren Patienten bisher nur unzureichend evaluiert wurden und die Testung bei Personen mit normaler Nierenfunktion nicht zu Genüge stattgefunden hat (32,33). Trotz intensiver Forschung konnte der ideale endogene Biomarker zur Bestimmung der GFR noch nicht identifiziert werden. Insbesondere das am häufigsten verwendete Kreatinin ist ungenau, da es bei älteren Personen zu abweichenden Messergebnissen kommt (34). In den letzten Jahren wurden daher Formeln entwickelt, die neben Kreatinin weitere Biomarker, wie zum Beispiel Cystatin C in die eGFR-Formeln aufnehmen (35–38). Die Verwendung der im Folgenden dargestellten Formeln diene in der vorliegenden Untersuchung Vergleichszwecken.

CKD-EPI (Krea/CysC)-Formel (35): $eGFR = 135 \cdot \min(S_{Kr}/K, 1)^\alpha \cdot \max(S_{Kr}/K, 1)^{-0,601} \cdot \min(S_{CysC}/0,8, 1)^{-0,375} \cdot \min(S_{CysC}/0,8, 1)^{-0,711} \cdot 0,995^A$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 0,969 multipliziert, bei schwarzer Hautfarbe mit 1,08.

FAS (Krea/CysC)-Formel (39): $FAS - eGFR = 107,3/(S_{Kr}/Q) \cdot 0,988^{(A-40)}$

BIS2-Formel (40): $eGFR = CysC^{-0,61} \cdot Krea^{-0,40} \cdot A^{-0,57}$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 0,87 multipliziert.

Auch um den neu auf gekommenen Biomarker BTP sind folgende Formeln entwickelt worden:

Inker (BTP)-Formel (41): $eGFR = 55 \cdot BTP^{-0,695} \cdot 0,998^A$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 0,899 multipliziert.

Pöge (BTP)-Formel (42): $eGFR = 47,17 \cdot BTP^{-0,7933}$

Pöge (BTP/Kreatinin)-Formel (42): $eGFR = 974,31 \cdot BTP^{-0,2594} \cdot Krea^{-0,6}$

White (BTP/Kreatinin)-Formel (43): $eGFR = 167,8 \cdot BTP^{-0,758} \cdot Krea^{-0,204}$

Bei Frauen wird der Wert zusätzlich mit 0,871 multipliziert.

A = Lebensalter [Jahre]

S_{Kr} = Serum-Kreatinin [mg/dL]

S_{CysC} = Serum-Cystatin C

KG = Körpergewicht [kg]

Geschlechtsabhängiger Faktor $\kappa = 0,7$ (Frau) bzw. 0.9 (Mann)

Geschlechtsabhängiger Faktor $\alpha = -0,248$ (Frau) bzw. $-0,207$ (Mann)

min = Minimum von S_{Kr}/κ oder 1

max = Maximum von S_{Kr}/κ oder 1

Q = Alters-/Geschlechtsspezifischer Mittel- oder Median-Serum-Kreatinin-Wert für gesunde Populationen

1.3 Bestimmung der Nierenfunktion mit exogenen Biomarkern

Die Grundlagen hierzu sind in Punkt 1.2.2. beschrieben worden. Grundsätzlich erfüllen exogene Biomarker die Kriterien eines idealen Filtrationsmarkers. In Abhängigkeit des Markers sind entweder sowohl Plasma- als auch Urinclearance notwendig oder aber eine Plasmaclearance-Messung ist ausreichend. Ist beides nötig wie bei Inulin, läuft in der Praxis die Bestimmung wie folgt ab:

Initial wird die Harnblase vollständig entleert und dieser Urin verworfen. So ist zu Beginn der Messung, zum Zeitpunkt 0, das Volumen ebenfalls bei 0. Dies kann zusätzlich durch eine Sonographie der Harnblase bestätigt werden. Der exogene Marker wird als Infusion kontinuierlich infundiert. Über einen definierten Zeitraum werden Blut- und Urinproben gesammelt und dessen Konzentration im Plasma sowie im Urin bestimmt. V_{Urin} wird aus dem gesammelten Urinvolumen durch den Zeitabstand berechnet und die Urin-Clearance der Markersubstanz mithilfe der in 1.2.2. genannten Formel bestimmt.

1.3.1 Inulin

Inulin gilt als Goldstandard zur Bestimmung der Nierenfunktion (44). Es ist ein vom Menschen nicht verwertbares Fructosepolymer. Seine molekulare Masse beträgt circa 5 kDa bei einem molekularen Radius von 130-150 nm.

Die Kriterien eines Filtrationsmarkers erfüllt Inulin: Es wird am Glomerulus frei filtriert und am renalen Tubulus weder reabsorbiert, sezerniert noch metabolisiert, es liegt

nicht gebunden an Plasmaproteine vor, hat keine Auswirkung auf die physiologischen Prozesse und ist nicht toxisch. (44)

Zur Bestimmung der Urin-Clearance muss Inulin kontinuierlich intravenös appliziert werden und die Messung unter standardisierten Bedingungen stattfinden. Das Nebenwirkungsspektrum ist sehr gering. Für genaue Ergebnisse ist jedoch eine Blasenkateterisierung erforderlich.

Da die Durchführung und die Lagerung sehr aufwendig und die Bedingungen insbesondere im akuten Krankheitsgeschehen schwer einzuhalten sind, findet diese Messung oft nur im wissenschaftlichen Rahmen Anwendung, nicht jedoch im klinischen Alltag (27).

Als Alternative zur kontinuierlichen intravenösen Applikation wurde die Single-Injection-Technik entwickelt, wobei nach einmaliger Bolusgabe von Inulin Blutentnahmen zur Konzentrationsbestimmung im Plasma erfolgen. Die GFR errechnet sich dann aus der Eliminationsgeschwindigkeit des Markers im Plasma (45).

Aufgrund von Vorteilen in der Anwendung wurde Inulin in den letzten Jahren durch das Polysaccharid Sinistrin ersetzt (46,47).

1.3.2 Iohexol

Iohexol wurde 1984 erstmalig zur Bestimmung der Nierenfunktion angewandt und wird seitdem oft zur Clearance-Bestimmung genutzt (48,49). Es hat ein Molekulargewicht von 821 Da (50) und weist durch seine hydrophilen Eigenschaften und geringe Osmolarität eine gute Verträglichkeit auf (51). Eine schwedische Studie zeigte, dass es mit keinen Nebenwirkungen verbunden ist (48). Auch in der Baselinestudie der Berliner Initiative Studie waren keine Nebenwirkungen festzustellen (40).

Als Filtrationsmarker wird Iohexol nicht renal sezerniert und weder metabolisiert noch resorbiert. Da es nicht nach intrazellulär gelangt, erfolgt keine Biotransformation oder extrarenale Elimination (51). Es ist kostengünstig, bedarf keiner besonderen Lagerung (48) und weist ein niedriges allergenes Potenzial auf (52). Mit circa 2% ist die Plasmaproteinbindung von Iohexol gering (53,54) und die Nachweisbarkeit im Plasma mittels Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) sehr gut (55). Ein weiterer Vorteil von Iohexol ist, dass bei der Clearancemessung auf die Bestimmung einer Urin-clearance verzichtet werden kann und eine reine Plasmaclearance-Messung

ausreicht. Dies hat im Hinblick auf die Durchführbarkeit besonders bei alten Menschen enorme Vorteile.

Der Vergleich der Iohexol-Clearance mit dem Goldstandard der Inulin-Clearance zeigte durch hohe Korrelation eine hohe Übereinstimmung der beiden Verfahren (52,56). Zwischen der Iohexol- und der Kreatinin-EDTA-Plasma-Clearance konnte ebenfalls eine hohe Korrelation belegt werden (56).

Als Kontraindikation sind aufgrund des Jodgehalts von Iohexol eine Hyperthyreose sowie eine Jodallergie. Ein Jod-Anteil von 1500 mg an der in dieser Studie verwendeten 5 ml Iohexol-Lösung (Accupaque, GE Healthcare Buchler, Braunschweig) führt laut Nilsson-Ehle et al. jedoch zu keiner Einschränkung in der Anwendung (48).

1.4 Bestimmung der Nierenfunktion mit endogenen Biomarkern

Im klinischen Alltag findet die Nierenfunktionsbestimmung hauptsächlich unter Anwendung endogener Biomarker statt. Diese sollten hierbei die in 1.2.2. genannten Kriterien erfüllen.

Faktoren, die Auswirkungen auf die endogenen Biomarker haben und von außen auch nicht zu beeinflussen sind, werden als „non-GFR determinants“ bezeichnet. Beispiele hierfür sind Alter, Geschlecht, Muskelmasse und Ernährung.

1.4.1 Kreatinin

Aktuell wird im klinischen Alltag vorwiegend das im Muskelstoffwechsel entstehende Kreatinin verwendet. Erstmals wurde es von Rehberg 1926 als endogener Marker mit der GFR in Verbindung gebracht (57). Als Kreatin in Leber und Niere synthetisiert, wird es aus dem Blut vom Muskel aufgenommen und in Form von Kreatinphosphat gespeichert. Durch kontraktionsbedingten ATP-Verbrauch und sich daraus ergebenden ATP-Bedarf, entsteht aus Kreatinphosphat in einer nicht-enzymatischen Reaktion Kreatinin (58), welches teilweise rephosphoryliert und teilweise renal ausgeschieden wird (27). Es weist ein Molekulargewicht von 113 Da auf (59). Bei Patienten mit stabiler Nierenfunktion sind die Serum-Konzentrationen mit einer täglichen Variabilität von 8% relativ konstant (60,61).

Die oben genannten Kriterien für endogene Filtrationsmarker werden von Kreatinin nur teilweise erfüllt: Zwar ist es nicht an Proteine gebunden, wird frei filtriert, von der Niere nicht metabolisiert und ist physiologisch inaktiv (27), jedoch wird es vom proximalen Tubulus sezerniert. Dies führt schlussendlich zu einer Überschätzung der GFR (27). In Situationen, in denen der Harnfluss gering ist, wie zum Beispiel bei dekompensierter Herzerkrankung oder unkontrolliertem Diabetes mellitus, scheint Kreatinin tubulär reabsorbiert zu werden (62–66). Auch wird es über den gastrointestinalen Trakt eliminiert (67).

Die endogene Kreatinin-Clearance kann mit der in 1.2.2. dokumentierten Formel errechnet werden. Mit dem Faktor 1,73 (Körperoberfläche in m²) erhält man die auf die Körperfläche angepasste Clearance. Die zur Bestimmung der Clearance notwendige Urinsammlung über einen definierten Zeitraum ist nicht nur aufwendig, sondern birgt auch das Risiko für Fehler und somit falsche Ergebnisse (27). So geben die aktuellen KDIGO Leitlinien zur Bestimmung der GFR die Messung von Serum-Kreatinin mithilfe eines standardisierten enzymatischen Assays (Roche) und die anschließende Berechnung mit einer eGFR-Schätzformel an (19). Die Kreatinin-Messung im Serum beruht hierbei auf der Annahme, dass eine wechselseitige Beziehung zwischen Plasmakonzentration und GFR einer Substanz X (S_x) besteht, unter der Voraussetzung konstanter Produktion und renaler Elimination (68). Ein Anstieg der Kreatinin-Plasmakonzentration entspricht somit einer renalen Funktionseinschränkung:

$$GFR = \frac{1}{\text{Plasmakonzentration } S_x}$$

Durch den sogenannten „Kreatinin-blinden Bereich“ ist die Sensitivität dieses Biomarkers jedoch stark eingeschränkt. So wird der Referenzbereich von Kreatinin erst bei 40-50% GFR-Einschränkung überschritten (1). Daher kommt es zu großer interindividueller Variabilität und bei Menschen unterschiedlichen Alters, Geschlechts, Körperkonstitution, Herkunft und Ethnizität zu einer großen Variationsbreite (69). Außerdem wird die Beeinflussung des Serum-Kreatinin-Spiegels durch einige Medikamente diskutiert (27).

1.4.2 Cystatin C

1985 wurde Cystatin C von Grubb et al. als Alternative zu Kreatinin zur Bestimmung der Nierenfunktion vorgeschlagen (70). Cystatin C ist ein nicht-glykosyliertes Protein, das aus 120 Aminosäuren besteht. Als Cystein-Proteinase-Inhibitor ist es unter anderem an Prozessen des intrazellulären Proteinkatabolismus und der Modulation des Immunsystems beteiligt (71). Es weist ein Molekulargewicht von rund 13 kDa auf (72). Als endogener Filtrationsmarker zeigt Cystatin C gegenüber Kreatinin einige Vorteile: Es wird kontinuierlich von allen kernhaltigen Zellen produziert (73). Am Glomerulus wird es frei filtriert, im proximalen Tubulus zwar abgebaut, jedoch weder sezerniert noch resorbiert (74). Des Weiteren ist die Serumkonzentration unabhängig von Muskelmasse und Ernährung und weniger beeinflusst von Alter, Geschlecht und Ethnizität (75).

Bei Patienten mit leichter bis moderater Nierenfunktionseinschränkung konnten Studien eine stärkere Korrelation von Cystatin C mit Goldstandardmethoden im Vergleich zu Kreatinin feststellen (76). Bei eingeschränkter GFR zeigten sich signifikante Vorteile gegenüber Kreatinin bezogen auf die Sensitivität (72,77,78). So stellten Newman et al. in zwei Studien mit 469 Patienten fest, dass Cystatin C kleinere Veränderungen der GFR besser anzeigt (72,79). 2003 bestätigte O'Riordon diese Ergebnisse und konnte mithilfe eines Regressionmodells belegen, dass Cystatin C-Konzentrationen den Referenzbereich bereits bei einer GFR von $< 64 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ übersteigen, wohingegen dies bei Kreatinin erst bei einer GFR von $< 44 \text{ mL/min/1.73 m}^2$ eintritt (80).

Mittlerweile sind schnelle, automatisierte Immunoassays (77) ebenso wie international zertifizierte Kontrollstandards (81,82) zur Bestimmung von Cystatin C verfügbar. Durch standardisierte Analysemethoden sinkt die Variation innerhalb der Assays und verbessert somit die Vorhersage für die GFR (83).

So raten die aktuellen KDIGO Leitlinien dazu, GFR-Werte zwischen 45 und 59 mL/min/1,73 m^2 , die mit Kreatinin-basierten eGFR-Formeln errechnet wurden und für die keine Evidenz für Nierenschädigung (zum Beispiel Albuminurie) vorliegt, durch eine Cystatin-C basierte eGFR-Formel zu bestätigen (19).

1.4.3 Beta-Trace Protein

BTP wurde als Lipocalin Prostaglandin D2-Synthase (L-PGDS) 1961 erstmalig im menschlichen Liquor identifiziert (84). Als Enzym katalysiert es die Reaktion von Prostaglandin H₂ (PGH₂) zu Prostaglandin D₂ (PGD₂) (85,86). Es besteht aus 168 Aminosäuren (86,87) und weist verglichen mit Kreatinin und Cystatin C eine größere molekulare Masse von 23-29 kDa, abhängig der Glykoform, auf (86,88). BTP konnte in verschiedensten Körperflüssigkeiten und Geweben nachgewiesen werden (89). Abhängig von der Glykoform ist BTP in unterschiedlichen Konzentrationen in verschiedenen Kompartimenten zu finden; die kleinere Glykoform liegt hauptsächlich im menschlichen Liquor (cerebral spinal fluid= CSF) vor. Mit einer Konzentration von circa 3% in diesem, wurde es bisweilen zur Diagnostik einer Liquorrhoe verwendet (90). Die größere Glykoform überwiegt in Serum und Urin (89). Diese könnte zur Bestimmung der GFR genutzt werden: So entdeckten bereits 1997 Hoffmann et al. (89) erhöhte Serum-BTP Werte bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion. Priem et al. (91) beschrieben BTP 1999 als neuen renalen Filtrationsmarker zur Bestimmung der GFR im Kreatinin-blinden Bereich und Melegos et al. (92) stellten im selben Jahr erhöhte Werte bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung fest. Es wird angenommen, dass BTP in konstanten Raten produziert wird. Der renale Transport von BTP ist unklar. Die Mehrzahl der durchgeführten Studien weist darauf hin, dass BTP frei filtriert wird (59). Aufgrund der Größe ist anzunehmen, dass BTP nicht in entscheidenden Mengen tubulär sezerniert wird (59). Des Weiteren scheint BTP fast vollständig renal eliminiert und so gut wie gar nicht tubulär reabsorbiert zu werden (89,93–95). Ähnlich wie Cystatin C ist BTP ebenfalls unabhängig von Körpergröße, Geschlecht, Alter und Muskelmasse (96).

Als großer Nachteil sollten die bis zum heutigen Zeitpunkt fehlenden standardisierten Analysemethoden genannt werden. Auch die Referenzwerte sind umstritten. Beide Punkte machen eine Vergleichbarkeit schwierig (59). Nachteilig scheint die Beeinflussung von BTP durch Schilddrüsenhormone sowie die Leberfunktion(59). Der Einfluss von Kortikosteroiden wird kontrovers diskutiert (97,98). Die Bestimmung von BTP zum jetzigen Zeitpunkt ist mit hohen Kosten verbunden (96).

1.5 Zielsetzung

Im klinischen Alltag findet die Bestimmung der Nierenfunktion unter Anwendung von GFR-Schätzformeln statt. Am häufigsten wird in diesen Schätzformeln Kreatinin als endogener Biomarker verwendet, obwohl die Kriterien eines optimalen endogenen Filtrationsmarker nur unzureichend erfüllt werden. Daher beschäftigte sich die Forschung in der Nephrologie mit der Suche nach einem alternativen renalen endogenen Biomarker. Cystatin C kam als Alternative auf. Es konnte gezeigt werden, dass die Kombination aus Cystatin C und Kreatinin die Schätzgenauigkeit von eGFR-Formeln deutlich verbessert (35,39,40). Dies galt insbesondere für Kinder und ältere Individuen. Beide Gruppen sind in Studien, in denen eGFR-Formeln entwickelt werden, oft unterrepräsentiert. Durch den demographischen Wandel, der durch eine immer höheren Lebenserwartung charakterisiert ist, werden Individuen über 70 Jahre jedoch zu einer Gruppe mit immer größer werdender Bedeutung in der medizinischen Versorgung.

In den letzten Jahren kam es neben Kreatinin und Cystatin C zum Aufkommen weiterer Biomarker. Einer von diesen ist das in Kapitel 1.4.3 beschriebene BTP. In einer Studie mit einer Population von Nierentransplantierten konnte gezeigt werden, dass die Anwendung von BTP als endogener Biomarker zu genaueren Vorhersagen der GFR führt (99). In einer Population von älteren Individuen fand bisher keine Untersuchung statt.

Ein weiterer entscheidender Faktor, den es bei endogenen Biomarkern zu beachten gilt, sind die „non-GFR determinants“. Über Kreatinin ist bekannt, dass vor allem die Muskelmasse Auswirkungen auf die Serumkreatinin-Spiegel hat. Dies kann insbesondere in den oben erwähnten besonderen Patientengruppen der Älteren und der Kinder zu unzuverlässigen Messergebnissen führen (100,101) und die Abschätzung der GFR beeinflussen. BTP scheint im Vergleich eine Unabhängigkeit von der Muskelmasse aufzuweisen. Es ist jedoch unbekannt, ob in einer Population von Älteren die Schätzgenauigkeit der eGFR-Formeln durch die Kombination von BTP mit bereits etablierten Biomarkern verbessert werden kann.

Ziel der vorliegenden Arbeit ist es, zu untersuchen, ob die Verwendung von BTP bei der Bestimmung der Nierenfunktion in einer älteren Population Vorteile birgt. Hierzu verglichen wir bereits entwickelte, auf BTP-basierende eGFR-Formeln erstens mit der

mGFR sowie zweitens mit eGFR-Formeln, die auf Kreatinin oder Cystatin C bzw. deren Kombination beruhen.

2. Methodik

2.1 Die Berliner Initiative Studie

In der Berliner Initiative Studie (BIS) findet die Kombination zweier Forschungsansätze Anwendung. Es wird eine Längsschnittuntersuchung mit einer Querschnittsuntersuchung kombiniert. (40,100)

Längsschnittuntersuchung

Diese begann im Januar 2010 mit über 2000 Probanden. In einem zeitlichen Abstand von zwei Jahren werden die Probanden visitiert. Krankengeschichte, inklusive kardiovaskulärer Vorfälle, Krankenhausaufenthalte sowie Mortalität, Medikamente und sozialer Status werden mit Hilfe eines standardisierten Fragebogens erfasst, Vitalparameter erhoben sowie Blut- und Urinproben entnommen. Die vierte Visite (V4) wurde im Oktober 2017 beendet.

Ziel dieses Teiles der Studie ist es, den natürlichen Verlauf der Nierenfunktion bzw. der Niereninsuffizienz im Alter ≥ 70 Jahren abschätzen und diese in Zusammenhang mit Risikofaktoren setzen zu können. (40,100)

Querschnittsuntersuchung

In einer Subpopulation der BIS, im Folgenden auch Iohexol-Subpopulation genannt, fand eine Querschnittsuntersuchung statt. Bei 610 Probanden wurde die Nierenfunktion mittels Iohexol-Plasmaclearance-Messung bestimmt. Ziel der Querschnittsuntersuchung war es, eine neue GFR-Schätzformel zur Abschätzung der Nierenfunktion in einer älteren Population zu entwickeln. Diese Patientengruppe ist bisher in vielen Studien unterrepräsentiert gewesen. (40,100)

Die Studie wurde vom lokalen Ethikausschuss genehmigt und die Satzung der Charité zur „Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis“ berücksichtigt. Die Stiftung Präventivmedizin des Kuratoriums für Dialyse und Nierentransplantation e.V. (KfH) fördert die Studie. (40,100)

2.2 Studiendesign und -population

Die hier untersuchten Daten sind ein Zusatzprojekt der Querschnittsuntersuchung. Dieser Teil umfasst eine Subpopulation (n=566) der longitudinal populationsbasierten Berliner Initiative Studie (BIS) (n=2069).

Probandenrekrutierung der BIS-Population

Die Teilnehmer wurden durch eine große deutsche gesetzliche Krankenkasse (AOK Nordost - Die Gesundheitskasse) ausgewählt. Diese versichert fast 50% der Personen über 70 Jahren in Berlin (102).

Folgende Auswahlkriterien mussten erfüllt werden:

- Bei der AOK versicherte Person,
- wohnhaft in Berlin,
- mit einem Alter von ≥ 70 Jahren,
- die weder dialysepflichtig ist
- noch ein Nierentransplantat erhalten hat. (40,100)

Um Selektionsbias zu vermeiden, wählte die AOK zufällig Probanden aus, die diese Kriterien erfüllten. Aufgrund einer erwarteten Antwortrate von 10-20% wurden in schrittweisem Vorgehen 10000 bis 20000 Personen von der AOK kontaktiert. In dem Anschreiben wurde eine kostenlose Nierenuntersuchung in einem der 13 über Berlin verteilten Studienzentren angeboten. Den Ort der Untersuchung durften die Probanden frei wählen. (40,100)

Im Jahr 2009 begann die Baseline-Visite. Diese beinhaltete neben einem standardisierten Interview auch die Bestimmung von Blutdruck, Puls, Body-Mass-Index, Waist-Hip Ratio (engl. Taille-Hüft Verhältnis) sowie die Abnahme von Blut- und Urinproben. (40,100)

2.3 Iohexol-Subpopulation: Studienablauf

2.3.1 Protokoll der Iohexol-Messung

Bei den 566 Teilnehmern fand eine Iohexol-Plasmaclearance-Messung in der Charité Universitätsmedizin, Berlin, Deutschland statt.

Die Messung wurde von ausgewähltem, geschultem Personal durchgeführt. Sie begann zwischen 8:00 und 10:30 Uhr.

Um Einflüsse auf die Nierenfunktion zu vermeiden, wurden im Voraus Instruktionen bezüglich Nahrungsmitteln und Getränken erteilt.

Diese beinhalteten:

- proteinarme Diät,
- 4-stündige Nahrungskarenz vor der Messung (Diabetiker 2 Stunden),
- Verzicht auf harntreibende Substanzen (Kaffee, schwarzer und grüner Tee) sowie
- Abstinenz von nicht steroidalen Antirheumatika (NSAR) (Aspirin, Diclofenac, Ibuprofen, selektive Cyclooxygenase-2 (COX-2)-Hemmer). (40,100)

Die Einnahme sonstiger Medikamente war gestattet.

Diese Informationen erhielten die Probanden schriftlich sowie telefonisch im Voraus. Bei Nicht-Einhalten der Vorgaben wurde die Messung zu einem späteren Zeitpunkt durchgeführt. (40,100)

Die Blutentnahme zur BTP-, Kreatinin- und Cystatin C-Bestimmung erfolgte über eine periphere Venenverweilkanüle vor der Iohexol-Injektion.

Eine intravenöse Injektion von 5mL Iohexol-Lösung erfolgte in die Ellenbeuge oder in den Handrücken auf kontralateraler Seite. Diese enthielt 3235 mg Iohexol (Accupaque, GE Healthcare Buchler, Braunschweig, Deutschland). Anschließend wurde mit 10 ml physiologischer Kochsalzlösung (NaCl-Lösung 0,9%) gespült. Auf einem standardisierten Messprotokoll wurden Uhrzeit sowie Entnahmeseite protokolliert.

30, 60, 90, 120, 150, 180, 240, und 300 Minuten nach Injektion wurden Blutproben aus der Venenverweilkanüle entnommen. Auch hier wurde der genaue Zeitpunkt auf dem Messprotokoll notiert. (40,100)

Zwischen den Blutentnahmen durften sich die Probanden frei bewegen, essen und trinken. Auf die Einnahme von Kaffee, Tee und NSAR wurde bis zu dem Zeitpunkt der letzten Blutentnahme verzichtet. (40,100)

2.3.2 Weitere Untersuchungen

In einem Fragebogen wurden die medizinische Vorgeschichte sowie der sozio-ökonomische Status erfasst. Dieser beinhaltete unter anderem Fragen zu Herkunft, Bildung, Familienstand, Alkohol- und Nikotinkonsum, Vorerkrankungen, medizinischen Interventionen sowie Ursachen von Nierenerkrankungen.

Auch die aktuelle Medikation wurde erfragt und probandenbezogen vermerkt.

Die Größe wurde mit einem stationären Längenmaßstab gemessen, das Gewicht mittels einer elektrischen Waage ermittelt. Körperumfänge wurden mithilfe eines nicht elastischen Maßbandes in stehender Position am unbekleideten Probanden erhoben. Die Quantifizierung des Blutdrucks erfolgte zweimalig bei sitzendem Probanden durch ein automatisches, durch die Hochdruckliga zertifiziertes Oberarmblutdruckmessgerät (Duo Tensoval, Hartman AG, Deutschland). Stündlich wurde diese Messung wiederholt. Des Weiteren wurde die Pulsfrequenz bestimmt.

Unter Anwendung eines Urineststreifentests (Roche Mannheim, Combur 9-Test) erfolgte die qualitative Urinuntersuchung auf Erythrozyten, Leukozyten, Nitrit und Eiweiß (semiquantitativ). Eine Mittelstrahl-Urinprobe wurde für die weiterführende quantitative Diagnostik (Urin-Kreatinin, Urin-Albumin) gewonnen. (40,100)

2.3.3 Datenschutz

Jeder Proband gab sein schriftliches Einverständnis. Eine Patientenidentifikationsnummer (PID) wurde jedem Probanden zugewiesen. Alle Daten wurden unter dieser PID pseudonymisiert erhoben und gespeichert. Die entnommenen Blutproben wurden ebenfalls mit der PID versehen und ohne namentliche Kennung versendet und analysiert. (40,100)

2.4 Laboranalyse

Innerhalb von zwei Stunden wurden die Proben zehn Minuten bei 1500 Umdrehungen pro Minute (rpm) zentrifugiert. Das Serum wurde pipettiert, bei -20°C bis zum Labortransport aufbewahrt und schließlich bei -80°C zur weiteren Analyse auf Trockeneis gelagert. Iohexol wurde mittels HPLC innerhalb der folgenden sieben Tage bestimmt.

Kreatinin-Messung

Kreatinin wurde direkt nach der Studienvisite in den Jahren 2010 und 2011 im medizinischen Labor SYNLAB Medizinisches Versorgungszentrum Heidelberg, Eppelheim, Deutschland analysiert. Hierbei erfolgte die Bestimmung nach den Standards in Form der Isotopenverdünnungsanalyse enzymatisch in einem Roche Modular Analyser P-Module.

Die Interassay-Variationskoeffizienten für Serum-Kreatinin lagen bei einer mittleren Konzentration von 0,99 mg/dL bei 2,3% und bei 3,75 mg/dL bei 3,4%.

Cystatin C-Messung

Cystatin C wurde 2011 nephelometrisch mit dem N-Latex® Assay von Siemens auf dem BN ProSpect System im Labor Berlin- Charité Vivantes, Berlin, Deutschland analysiert. Bis zum Zeitpunkt der Analyse erfolgte die Lagerung der Proben in gefrorener Form bei -80°C.

Die Interassay-Variationskoeffizienten für Serum Cystatin C lagen bei einer mittleren Konzentration von 0,8 mg/L bei 1,5%, bei 2,3 mg/L bei 3,5% und bei 7,4 mg/L bei 2,4%. Das Referenzintervall für Cystatin C wurde für BN Systeme nach dem internationalen Laborstandard ERM-DA 471/IFCC festgelegt und lag in dieser Analyse zwischen 0,59 – 1,05 mg/L.

Die verwendeten Reagenzien und Prüfungsmaterialien stammten von Siemens Healthcare Diagnostics.

BTP-Messung

Die BTP-Bestimmung erfolgte 2015 immunonephelometrisch mittels Partikel-verstärkter Immunnephelometrie (PENIA) im Labor Limbach, Heidelberg, Deutschland. Es wurde der N-Latex® Assay auf dem BNTM II System (Siemens Health Care

Diagnostics, ex-Dade-Behring, Marburg, Germany) genutzt. Die Proben wurden ebenfalls bis zum Zeitpunkt der Analyse in gefrorener Form bei -80°C gelagert.

Der Interassay-Variationskoeffizient für Serum BTP Level lag bei BTP-Konzentrationen von 1,76 mg/L bei 3,45%.

Grundlage: Funktionsweise Nephelometrie

Durch optische Analyse wird in Flüssigkeiten oder Gasen quantitativ der Feststoffanteil bestimmt. Dieser Anteil verursacht eine Trübung, sodass der eintreffende Lichtstrahl bei Lichteinfall abgelenkt wird. Dies wird auch als „Tyndall-Effekt“ bezeichnet. Das entstandene Streulicht wird über ein Linsensystem auf einen Photodetektor, das Nephelometer, gelenkt und gemessen. Unter Anwendung der Rayleigh-Gleichung kann ein Zusammenhang zwischen Trübungsgrad und Menge des trübenden Stoffes dargestellt werden. In der hier vorliegenden Studie wurde dieses Verfahren zur Konzentrationsbestimmung von Cystatin C und BTP im Patientenserum genutzt. (103–105)

Grundlage: Funktionsweise Isotopenverdünnungsanalyse

Mithilfe dieser Methode können Elementkonzentrationen bestimmt werden. Das zu bestimmende Element befindet sich in einer Probe mit bekannter Isotopenzusammensetzung. Dieser Probe wird ein sogenannter „Spike“ in definierter Menge hinzugefügt. Der Spike enthält das zu bestimmende Element in bekannter Konzentration jedoch in anderer Isotopenzusammensetzung. Nach Abtrennung des Elements können die Isotopenverhältnisse unter Anwendung der Massenspektrometrie bestimmt werden. Im Folgenden wird unter Kenntnis der Isotopenzusammensetzung der Probe, der Mischung und der Spikes die Elementkonzentration errechnet. In der hier vorliegenden Studie wurde dieses Verfahren zur Konzentrationsbestimmung von Kreatinin genutzt. (106,107)

2.5 Statistik

Für kontinuierliche Variablen umfasst die deskriptive Datenanalyse Mittelwerte, Standardabweichungen, Spannweiten und Mediane. Für kategoriale Variablen beinhaltet sie absolute Häufigkeiten und Prozentwerte.

Body Surface Area (BSA)

Die Einheit der GFR wird in ml/ min angegeben. Da dieser Wert individuell ist und keine Vergleichbarkeit zwischen den Individuen zulässt, werden die absolut gemessenen GFR Werte auf die Körperoberfläche (BSA) indexiert. Als Standard wurde hierfür 1,73 m² festgelegt (108).

Entsprechend der DuBois- DuBois Korrekturformel erfolgt die Normierung (109):

$$BSA = W^{0,425} \cdot H^{0,725} \cdot 0,00718$$

W= Körpergewicht in kg

H= Körpergröße in cm

Korrelationsanalyse

Mit der Korrelationsanalyse wird ein monotoner Zusammenhang zwischen zwei Variablen gemessen. Nach Pearson korrelierten wir jeden Biomarker logarithmisch mit der mGFR und beurteilten den Korrelationskoeffizienten (r). Auch wurden die Biomarker miteinander korreliert. Die Ergebnisse der Korrelationsanalyse können zwischen -1 und 1 liegen. So zeigen Korrelationswerte von 1 einen perfekten positiven Zusammenhang der Variablen, Werte von -1 einen perfekten negativen Zusammenhang, Werte nahe 0 deuten auf keinen Zusammenhang hin. Werte < 0 zeigen eine negative Korrelation: Je niedriger der X-Wert desto höher der Y-Wert. Werte > 0 zeigen eine positive Korrelation: Je höher der X-Werte desto höher Y-Wert. Alle Analysen sind zusätzlich auf Alter, Geschlecht und BMI angepasst worden.

Regressionsmodell

Mithilfe eines Regressionsmodells wird der Zusammenhang zwischen einer abhängigen und einer oder mehreren unabhängigen Größen geprüft. In der vorliegenden Analyse stellt die abhängige Größe die gemessene Iohexol-Plasmaclearance dar, die

unabhängigen Größen sind die endogenen Filtrationsmarker Kreatinin, Cystatin C und BTP. Diese wurden, neben Geschlecht und Alter, sowohl einzeln als auch in Kombination miteinander in das Modell aufgenommen. Das Bestimmtheitsmaß R^2 wurde berechnet. Da R^2 jedoch mit jeder Hinzunahme einer unabhängigen Variable größer wird, auch wenn kein direkter Zusammenhang vorliegt, errechneten wir den Determinationskoeffizienten, sog. korrigiertes R^2 . Ziel dessen war es, zu quantifizieren, in welchem Ausmaß das Einfügen von BTP das mGFR-Modell verbessern würde. Grundsätzlich zeigt ein Korrelationskoeffizient von 0, dass es keinen Zusammenhang gibt, ein Koeffizient von 1 stellt den bestmöglichen Zusammenhang dar. So kann zusammenfassend gesagt werden, dass mit steigendem R^2 die Variabilität des Regressionsmodells abnimmt.

Zusätzlich wurden das Konfidenzintervall für R^2 und die mittlere quadratische Abweichung berechnet.

Vergleich der mGFR mit GFR-Schätzformeln (eGFR)

Mit den in 1.2.3 dargestellten BTP-basierten GFR-Schätzformeln Inker_(BTP), Pöge_(BTP), Pöge_(BTP/Krea) und White_(BTP) wurde die eGFR errechnet. Um BTP-basierte Formeln mit Kreatinin- und Cystatin C-basierten Formeln zu vergleichen, errechneten wir die eGFR außerdem mit den Formeln BIS2, CKD-EPI_(Krea/ CysC)- und FAS_(Krea/ CysC).

Wir berechneten jeweils den Mittelwert und den Median sowie den Bias der sieben eGFR-Formeln, um ihre Schätzgenauigkeit zu überprüfen. Der Bias gilt als Mittel- und Mediandifferenz zwischen eGFR und mGFR. Die GFR gilt als überschätzt, wenn der Bias positiv ist. Zur Bestimmung der Präzision errechneten wir die Standardabweichung des Bias sowie den Interquartilsabstand (IQR). Dieser errechnet sich aus der Differenz zwischen erster und dritter Quartile, entspricht somit dem Bereich, in dem 50% der Werte liegen und ist unempfindlich gegenüber Ausreißern. Die Genauigkeit wird als Schätzwert innerhalb von 10% und 30% der mGFR angegeben und als P10 bzw. P30 bezeichnet.

McNemar-Signifikanz

Der McNemar-Test aus der Gruppe der Chi-Quadrat-Tests wurde angewendet, um die P30-Werte der GFR-Schätzgleichungen miteinander zu vergleichen und die Ergebnisse auf ihre Signifikanz hin zu testen.

Bland-Altman-Methode

Diese Methode dient dem Vergleich von zwei Messmethoden. Hierzu werden die Differenzen der beiden Messmethoden gegen den Mittelwert dieser beiden aufgetragen und in einem Diagramm dargestellt. In unserer Studie stellen die mGFR und die verschiedenen eGFR-Formeln diese beiden Messmethoden dar. Auch die Streuung der Differenz der einzelnen Messwertepaare wird gezeigt. Die Differenz wird für jeden Probanden berechnet ($eGFR - mGFR$) und gegen den Mittelwert der beiden Messungen ($(eGFR + mGFR)/2$) aufgetragen.

Der Bias ist als mittlere Differenz der beiden Messmethoden festgelegt, die Übereinstimmungsgrenzen entsprechen dem Bias ± 2 Standardabweichungen.

Subgruppenanalyse

Ältere Individuen mit arterieller Hypertonie (aHT), Diabetes mellitus (DM) sowie schlanke ($BMI \leq 23$) und übergewichtige ($BMI > 30$) Probanden wurden in je einer Subgruppe zusammengefasst. Die arterielle Hypertonie wurde als Verschreibung von Antihypertensiva definiert, Diabetes mellitus als Hämoglobin A1c $> 6,5\%$ und/ oder der Verschreibung von Antidiabetika. Die Definition von "schlanken" Individuen als $BMI \leq 23$ basiert auf der Tatsache, dass die niedrigste Perzentile des BMI innerhalb der Studienpopulation als „schlank“ definiert wurde.

In der Subgruppenanalyse errechneten wir für jede dieser Gruppen den Determinationskoeffizienten (korrigiertes R^2), um zu quantifizieren, inwieweit das Hinzufügen von BTP den Vorhersagewert der eGFR verbessern würde. Die Genauigkeit wurde durch die Berechnung der mittleren quadratischen Abweichung überprüft und die Ergebnisse auf Signifikanz getestet. Um die verschiedenen Maßeinheiten der unabhängigen Variablen Kreatinin, Cystatin C und BTP auszugleichen, errechneten wir außerdem den standardisierten Regressionskoeffizienten. Hierzu wurden die ursprünglichen nicht-standardisierten Regressionskoeffizienten der unabhängigen Variable mit ihrer Standardabweichung multipliziert und durch die Standardabweichung der abhängigen Variable, das heißt der mGFR, dividiert.

Für die Analysen wurden SPSS, Version 23 und STATA (StataCorp. 2015. State Statistical Software: Release 14. College Station, TX: StataCorp LP) verwendet.

3. Ergebnisse

3.1 Patientencharakteristika der Iohexol-Subpopulation mit BTP

In *Tabelle 1* sind die Charakteristika der Iohexol-Subpopulation dargestellt, in der auch die BTP-Bestimmung stattfand.

566 kaukasische Probanden nahmen an der Untersuchung teil. Sie waren im Durchschnitt 78,5 Jahre alt, die Standardabweichung (SD) lag bei $\pm 6,2$. Der prozentuale Anteil der Frauen an der Gesamtpopulation betrug 43%. Nahezu ein Viertel (24%) der Probanden war an Diabetes mellitus erkrankt und drei Viertel (77%) wiesen eine arterielle Hypertonie auf. Circa die Hälfte der Probanden war normalgewichtig (BMI 25-29,9 kg/m²). Die anderen beiden Viertel teilten sich fast gleichermaßen auf in Patienten mit Übergewicht (BMI > 30 kg/m²) (27,9%) und Patienten mit einem BMI < 25 kg/m² (26,5%). Die mittlere Körperoberfläche betrug 1,85 m².

Der Mittelwert für Serum BTP lag bei 0,75mg/L, für Kreatinin sowie Cystatin C lag dieser bei 0,99 mg/dl bzw. 1,14 mg/L.

Das mittlere Hämoglobin wies einen Wert von 14g/dL auf. Der Mittelwert für Albumin lag bei 40 g/L und für CRP bei 3,4 mg/L.

Die mittlere gemessene GFR (mGFR) lag bei 60,4 ml/min/1,73m² und wies eine relativ große Spannweite von 16-117 ml/min/1,73m² auf.

Tabelle 1: Charakteristika der Iohexol-Subpopulation mit BTP (110).

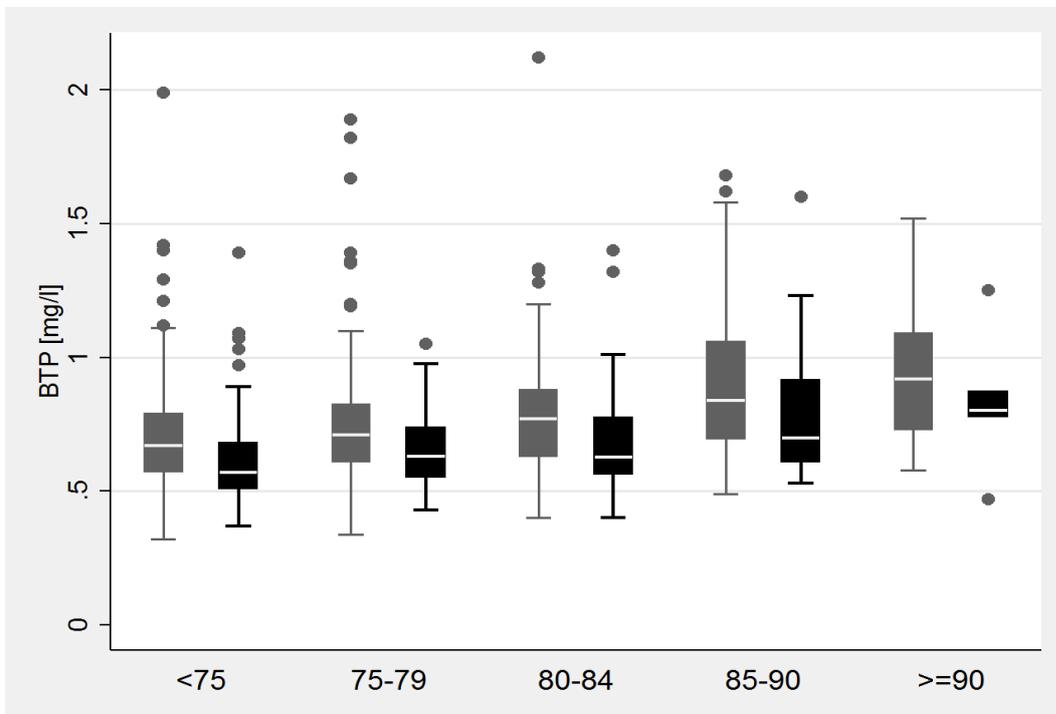
Charakteristika	gesamte Subgruppe
Teilnehmer, n	566
mittleres Alter, y (SD)	78,5 (\pm 6,2)
Frauen, n (%)	242 (42,8)
Diabetes mellitus, n (%)	136 (24,0)
arterielle Hypertonie, n (%)	435 (76,9)
Body mass index, n (%)	
< 25 kg/m ²	150 (26,5)
25 – 29.9 kg/m ²	258 (45,6)
\geq 30 kg/m ²	158 (27,9)
mittlere BSA (Spannbreite), m ²	1,85 (1,4-2,4)
mittleres Serum BTP (Spannbreite), mg/L	0,75 (0,32-4,25)
mittleres Serum Kreatinin Level (Spannbreite), μ mol/L	87,9 (40,7-421,7)
mg/dl	0,99 (0,46-4,77)
mittleres Serum Cystatin C Level (Spannbreite), mg/L	1,14 (0,61-4,40)
mittleres Hämoglobin (Spannbreite), g/dl	13,6 (9,5-19,1)
mittleres Albumin (Spannbreite), g/L	40,3 (30,8-51,9)
mittleres C-reaktives Protein (CRP), mg/L	3,40 (0,23-44,21)
mittlere mGFR (Spannbreite) ml/min/1,73m ²	60,4 (15,5-116,69)

Zur Umrechnung von Hämoglobin von mmol/L zu g/dL Division durch 0,621. Zur Umrechnung von Albumin von g/L zu g/dL Multiplikation mit 0,1. Zur Umrechnung von C-reaktivem Protein von mg/L zu mg/dL Multiplikation mit 0,1 zur Umrechnung von Cystatin C von mg/L zu nmol/L Multiplikation mit 74,9.

BTP-Konzentrationen

Zur Analyse der BTP-Konzentrationen wurden Gruppierungen nach Geschlecht (männlich, weiblich) und Alter (70-74, 75-79, etc.) vorgenommen (*Abbildung 3*). Bei den Männern lag der mittlere BTP Wert bei den <75-jährigen bei 0,67 mg/L, bei den >90-jährigen stieg er auf 0,92 mg/L. Im weiblichen Teil der Population zeigte sich bei den <75-jährigen ein mittleres BTP von 0,57 mg/L sowie ein Anstieg auf 0,8 mg/L bei den >90-jährigen (*Tabelle 2 a*) und *b*). Diese Analysen lassen zwei Schlussfolgerungen zu. Erstens ist eine Altersabhängigkeit von BTP festzustellen. Die Median-Werte steigen sowohl bei Männern als auch bei Frauen um ca. 14% zwischen der Gruppe der 70-75-jährigen und der >90-jährigen. Zweitens ist eine Abhängigkeit der BTP-Konzentration vom Geschlecht zu bemerken. Die Männer weisen in allen Altersgruppen höhere BTP-Konzentrationen auf als die Frauen. Die Differenz des Gesamt-Medians zwischen Männern und Frauen lag bei 0,11 mg/L.

Abbildung 3: Median-BTP Konzentrationen der BIS Iohexol Subpopulation aufgeteilt in Alter und Geschlecht (n=566) (110).



Altersgruppen 70-75 bis ≥ 90 Jahre; Alter angegeben in Jahren, Männer in grau und Frauen in schwarz.

Tabelle 2: Genaue Median-BTP-Konzentrationen in verschiedenen Altersgruppen (110).

a) Männer

b) Frauen

Altersgruppe	Median (mg/l)	Anzahl n	Altersgruppe	Median (mg/l)	Anzahl n
70-74	0,67	105	70-74	0,57	106
75-79	0,71	84	75-79	0,63	66
80-84	0,77	66	80-84	0,63	36
85-89	0,84	41	85-89	0,70	28
≥90	0,92	28	≥90	0,80	6
Gesamt	0,73	324	Gesamt	0,62	242

3.2 Vergleich von BTP, Kreatinin und Cystatin C mit der mGFR sowie miteinander

Korrelationsanalyse

In *Tabelle 3* sind die Ergebnisse der Korrelationsanalyse nach Pearson-Rho (ρ) dargestellt, in der die drei endogenen Filtrationsmarker negativ mit der mGFR sowie miteinander korreliert wurden. Es zeigte sich die geringste Korrelation zwischen der mGFR und BTP (-0,780), gefolgt von der mGFR und Kreatinin (-0,781). Die höchste Korrelation fand sich zwischen der mGFR und Cystatin C (-0,871). Die Korrelation der Biomarker miteinander zeigte die niedrigste Korrelation zwischen BTP und Kreatinin (0,771), Kreatinin und Cystatin C wiesen einen Koeffizienten von 0,817 auf. Der größte Zusammenhang bestand zwischen BTP und Cystatin C (0,832).

Tabelle 3: Pearson-Rho(ρ)-Korrelationskoeffizienten des Logarithmus der endogenen Filtrationsmarker (Kreatinin, Cystatin C und BTP) aufgetragen gegen den Logarithmus der mGFR sowie gegen sich selbst (110).

Variable	mGFR	Kreatinin	Cystatin C	BTP
mGFR		-0,781	-0,871	-0,780
Kreatinin			0,817	0,771
Cystatin C				0,832

Regressionsmodelle

In *Tabelle 4* sind die Ergebnisse der Regressionsanalysen dargestellt.

Die Regressionsmodelle ohne die Anpassung auf Alter, Geschlecht und BMI legten dar, dass der Einfluss dieser Größen auf BTP geringer war als auf Kreatinin ($R^2= 0,632$ vs. $R^2= 0,609$). Über Cystatin C ist dieser Vorteil gegenüber Kreatinin bereits beschrieben (35,40).

Die Regressionsmodelle, die auf Alter und Geschlecht angepasst wurden und nur einen Biomarker mit in das Modell aufnahmen, zeigten die höchste Genauigkeit für Cystatin C ($R^2= 0,780$), gefolgt von Kreatinin ($R^2= 0,740$). Die schlechteste Vorhersage erzielte in diesem Modell BTP ($R^2= 0,671$).

Regressionsmodelle, die zusätzlich zu Alter und Geschlecht noch auf den BMI angepasst wurden und ebenfalls nur einen Biomarker mit einbezogen, wiesen ebenfalls die schlechteste Vorhersage für BTP ($r^2 = 0,670$) auf. Cystatin C zeigte auch hier als alleiniger Biomarker im oben genannten Modell die besten Ergebnisse ($R^2= 0,786$).

In Kombination zeigten BTP, Kreatinin und Cystatin C angepasst auf Alter, Geschlecht und BMI die besten Ergebnisse zur Vorhersage der mGFR ($R^2 = 0,833$). Die Vorhersage durch die Kombination von Kreatinin und Cystatin C wich jedoch auch nur minimal ab ($R^2 = 0,828$). Des Weiteren übertraf weder die Kombination aus Kreatinin und BTP ($R^2= 0,789$) noch die Kombination aus Cystatin C und BTP ($R^2= 0,802$) die Kombination aus Kreatinin und Cystatin C ($R^2= 0,828$).

Tabelle 4: Siebzehn Regressionsmodelle mit den einzelnen renalen Biomarkern oder deren Kombination bei Personen ≥ 70 Jahren (n=566) (110).

Regressionsmodell	Anpassungsgüte	
	Korrigierter R^2 (95% CI)	Maßzahl (95% CI)
BTP	0,632 (0,565 - 0,698)	0,184 (0,169 – 0,198)
BTP, Alter, Geschlecht	0,671 (0,611 - 0,730)	0,174 (0,159 – 0,188)
BTP, Alter, Geschlecht, BMI	0,670 (0,608-0,732)	0,174 (0,161-0,187)
CysC	0,759 (0,718 - 0,799)	0,149 (0,138 – 0,159)
CysC, Alter, Geschlecht	0,780 (0,746 - 0,815)	0,142 (0,132 – 0,151)
CysC, Alter, Geschlecht, BMI	0,786 (0,751-0,821)	0,140 (0,131 – 0,149)
CysC + BTP, Alter, Geschlecht, BMI	0,802 (0,770 - 0,835)	0,135 (0,126 - 0,143)
Krea	0,609 (0,547 - 0,670)	0,189 (0,175 – 0,203)
Krea, Alter, Geschlecht	0,740 (0,695 - 0,784)	0,154 (0,142 – 0,167)
Krea, Alter, Geschlecht, BMI	0,744 (0,694 - 0,794)	0,153 (0,141 – 0,165)
Krea + BTP, Alter, Geschlecht, BMI	0,789 (0,751 - 0,827)	0,139 (0,129 – 0,149)
Krea + CysC	0,772 (0,736 – 0,809)	0,144 (0,135 – 0,153)
Krea + CysC, Alter, Geschlecht	0,821 (0,792 - 0,850)	0,128 (0,118 – 0,138)
Krea + CysC, Alter, Geschlecht, BMI	0,828 (0,797 - 0,858)	0,125 (0,117 – 0,135)
Krea + CysC + BTP	0,782 (0,747 – 0,816)	0,141 (0,133 – 0,150)
Krea + CysC + BTP, Alter, Geschlecht	0,828 (0,799 - 0,859)	0,125 (0,117 – 0,134)
Krea + CysC + BTP, Alter, Geschlecht, BMI	0,833 (0,804 – 0,862)	0,124(0,115 – 0,132)

Das Konfidenzintervall für R^2 -Werte und RMSE wurde mittels Bootstrapping-Resampling-Methode errechnet.

3.3 Validierung von BTP-basierten eGFR-Formeln

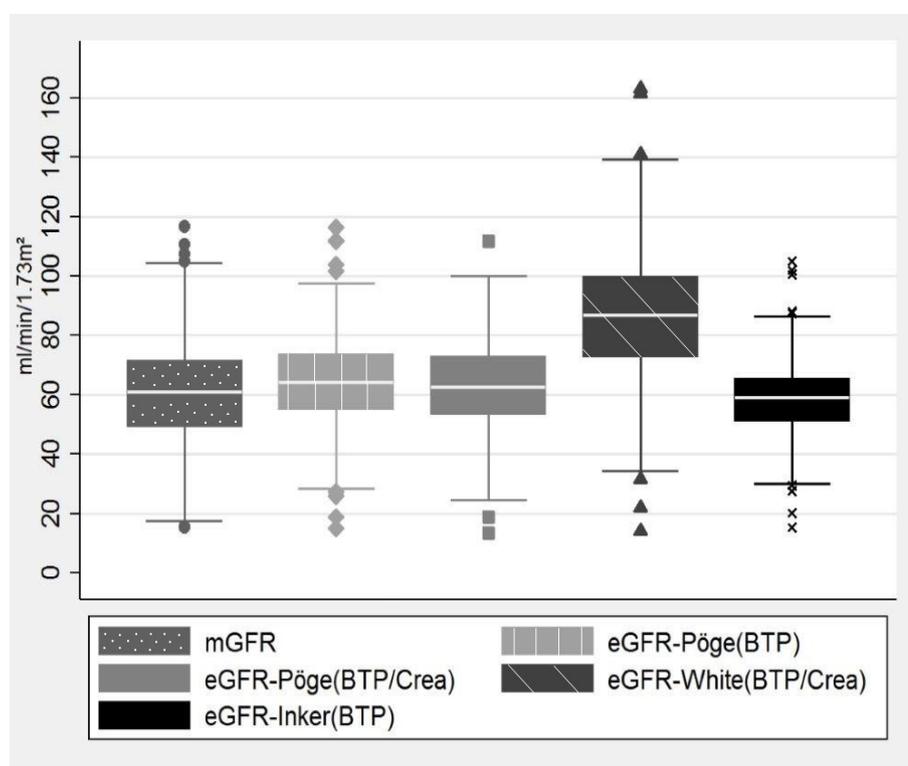
Der Mittelwert der gemessenen GFR lag in unserer Population bei 60,4 ml/min/1,73m² und wies eine Spannweite von 16-117 ml/min/1,73m² auf. Mithilfe der in Kapitel 1.2.3 beschriebenen BTP-basierten GFR-Schätzformeln wurden die in *Tabelle 5* dargestellten Ergebnisse berechnet. Die beste Annäherung an die mGFR wurde mithilfe der Inker_(BTP)-Formel errechnet. Die eGFR (Spannweite) lag bei 58 (15-105) ml/min/1,73 m². Die beiden Pöge-Formeln, Pöge_(BTP/Krea) und Pöge_(BTP), zeigten ebenfalls eine geringe Abweichung. Die eGFR (Spannweite) lag hier bei 63 (13-112) bzw. 64 (15-117) ml/min/1,73m². Die höchste eGFR fanden wir in der White_(BTP/Kreatinin)-Formel mit einem Wert von 86 ml/min/1,73 m². Im Vergleich aller Formeln wies sie die größte Spannweite auf (14-163 ml/min/1,73m²).

Tabelle 5: Ergebnisse der eGFR-Berechnung mithilfe BTP-basierter Formeln (110).

GFR	Ergebnis
mittlere mGFR (Spannweite) ml/min/1,73m ²	60,4 (15,5-116,69) 101,19
mittlere eGFR Inker _(BTP) (Spannweite) ml/min/1,73m ²	58,4 (15,5-105,0) 89,5
mittlere eGFR Pöge _(BTP) (Spannweite) ml/min/1,73m ²	63,9 (15,0-116,5) 101,5
mittlere eGFR Pöge _(BTP/Krea) (Spannweite) ml/min/1,73m ²	62,8 (13,4-111,8) 98,4
mittlere eGFR White _(BTP/Krea) (Spannweite) ml/min/1,73m ²	86,24 (14,2-163,0) 148,8

Die Darstellung in Form eines Boxplots (*Abbildung 4*) veranschaulicht die Ergebnisse aus *Tabelle 5*. Die mithilfe der $\text{Inker}_{(\text{BTP})}$ -Formel berechnete GFR zeigt die genaueste Abschätzung der mGFR. Der Interquartilsabstand ist der kleinste im Vergleich aller BTP-basierten Schätzformeln. Die beiden Pöge-Formeln, $\text{Pöge}_{(\text{BTP}/\text{Kreatinin})}$ und $\text{Pöge}_{(\text{BTP})}$, überschätzten die mGFR leicht. Die Ergebnisse der White-Formel führten zu einer deutlichen Überschätzung der mGFR. Zusätzlich zeigte sie von allen vier BTP-basierten Formeln den größten Interquartilsabstand.

Abbildung 4: Boxplots: Vergleich der mGFR mit den vier BTP-basierten GFR-Gleichungen (110).



Legende *Abbildung 4*, *5* und *6*: Die Boxen beinhalten den Median (Linie innerhalb der Box), Quartile (obere und untere Ränder der Box). Die Antennen definieren sich aus oberer-unterer-Boxrand $\pm 1,5 \times$ Interquartilsabstand. Ausreißer sind als Kreise, Vierecke und Dreiecke dargestellt. Detaillierte Informationen über eGFR-Schätzformeln können dem Methodikteil entnommen werden.

Abbildung 5 vergleicht die mGFR mit den drei auf Kreatinin/ Cystatin C-basierten eGFR-Formeln, die bei älteren Menschen anwendbar sind. Die genaueste Abschätzung der mGFR erzielte hierbei die BIS2-Formel. Die $\text{CDK-EPI}_{(\text{Kreatinin}/\text{Cystatin C})}$ -Formeln überschätzte die GFR und wies einen größeren Interquartilsabstand auf. Die $\text{FAS}_{(\text{Kreatinin}/\text{Cystatin C})}$ -Formel hingegen unterschätzte die GFR leicht.

Abbildung 5: Boxplots: Vergleich der mGFR mit den kombinierten Kreatinin/ Cystatin C eGFR-Formeln, anwendbar bei älteren Menschen (110).

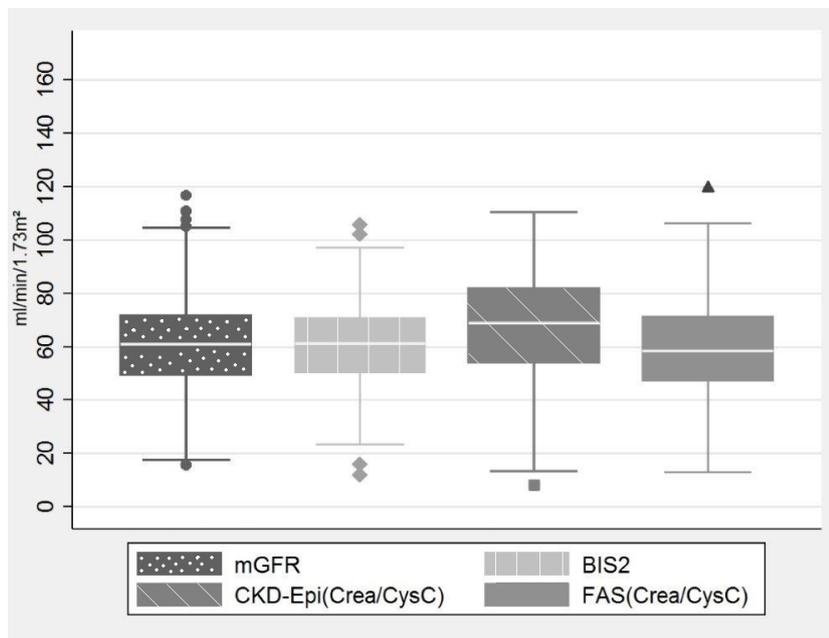
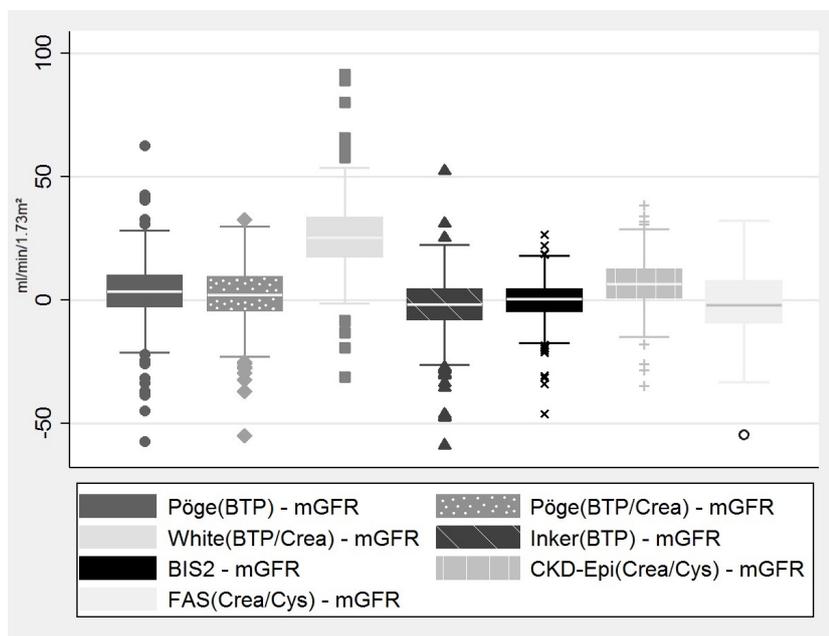


Abbildung 6 stellt die Differenz zwischen den sieben eGFR-Formeln und der mGFR dar. Die bereits beschriebenen Ergebnisse werden hierdurch nochmals bestätigt. Zusammenfassend schätzt die BIS2-Formel die GFR am besten und die White (Krea/CysC)-Formel diese am schlechtesten ab.

Abbildung 6: Boxplots: Differenz der sieben eGFR-Formeln im Vergleich zur mGFR (110).



„Performance“ von BTP-basierten Schätzformeln und ihr Vergleich mit etablierten Schätzformeln

Die „Performance“ der eGFR-Formeln wird in *Tabelle 6* dargestellt.

Im Vergleich der vier BTP-basierten eGFR-Formeln mit der mittleren mGFR demonstrierten die Inker_(BTP)- und die Pöge_(BTP/Kreatinin)-Formeln mit Werten von -2 bzw. +2 ml/min/1,73m² das kleinste Bias. Daran schloss sich die Pöge_(BTP)-Formel mit einem Bias von 4 ml/min/1,73m² an. Das größte Bias wies die White_(BTP/Kreatinin)-Formel mit 26 ml/min/1,73m² auf. Die Ergebnisse der Präzisionsberechnung ließen sich ebenfalls in dieser Reihenfolge anordnen: Die genaueste Präzision erzielten die Inker_(BTP)- und die Pöge_(BTP/Kreatinin)-Formeln mit 10,4 bzw. 10,9 ml/min/1,73m², die Pöge_(BTP)-Formel erreichte eine Präzision von 11,5 ml/min/1,73m² und die White_(BTP/Kreatinin)-Formel war mit 13 ml/min/1,73m² am unpräzisesten.

Die genauesten Ergebnisse wurden durch die Berechnung mit der Inker_(BTP)-Formel (P10= 44,9%; P30= 90,5%) erzielt. Die beiden Pöge-Formeln erzielten annähernd so gute P10-Werte wie die Inker-Formel, jedoch wich der P30-Wert stärker ab. Die ungenauesten Ergebnisse wies die White_(BTP/Kreatinin)-Formel (P10= 3,4%; P30= 25,6%) auf.

So lässt sich zusammenfassen, dass von den vier neuen, BTP-basierten Schätzformeln, die Inker_(BTP)-Formel am besten und die White_(BTP/Kreatinin)-Formel am schlechtesten abschnitt.

Des Weiteren verglichen wir die neuen BTP-basierten Formeln mit den etablierten Kreatinin/ Cystatin C-basierten Formeln CKD-EPI_(Krea/CysC), BIS2 und FAS.

Die BIS2-Formel zeigte im Vergleich aller Formeln mit -0,15 ml/min/1,73m² den kleinsten Bias sowie die beste Präzision und Genauigkeit. Daran schloss sich die FAS-Formel an. Somit zeigten beide Formeln bessere Ergebnisse als die CKD-EPI_(Krea/ CysC)-Formel.

Von den BTP-basierten Schätzformeln übertraf die Inker_(BTP)-Formel die CKD-EPI_(Krea/ CysC)-Formel. Sie zeigte mit -2 ml/min/1,73m² einen kleineren Bias als die CKD-EPI_(Krea/ CysC)-Formel mit 7 ml/min/1,73m². Auch waren Präzision und Genauigkeit der Inker_(BTP)-Formel besser. Der P10-Wert der Inker_(BTP)-Formel lag bei 45%, der P30-Wert bei 91%. Im Vergleich erzielte die CKD-EPI_(Krea/ CysC)-Formel nur einen P10-Wert von 40% sowie einen P30-Wert von 88%. Trotz der relativ guten Ergebnisse der

beiden Pöge-Formeln im Vergleich der BTP-basierten Schätzformeln, konnten sie die etablierten Kreatinin/ Cystatin C- basierten Formeln nicht übertreffen. Die White-Formel schnitt auch hier im Vergleich aller Formeln am schlechtesten ab.

Tabelle 6: Bias, Präzision, Genauigkeit der eGFR-Formeln bei Individuen von ≥ 70 Jahren (n=566) (110).

Formel	mittleres Bias (ml/min/1,73m ²)	Standardabweichung der Unterschiede (ml/min/1,73m ²)	P10 (%)	P30 (%)
Inker _(BTP)	-2,00	10,9	44,9	90,5
Pöge _(BTP)	3,50	11,5	45,2	85,2
Pöge _(BTP/Krea)	2,38	10,4	44,9	87,8
White _(BTP/Krea)	25,88	13,0	3,4	25,6
BIS2 *	-0,15	7,7	60,1	96,6
CKD-EPI _(Krea/CysC)	6,95	8,9	39,6	88,2
FAS _(Krea/CysC)	-0,32	8,0	57,1	96,3

*Die Ergebnisse der BIS2 unterscheiden sich leicht von vorherigen Publikationen(40), in denen die Formelvalidierung innerhalb des BIS-Datensatzes nur in der Hälfte der Iohexol-Subpopulation durchgeführt wurde. Zu Vergleichszwecken: Die aktuelle Validierung für die BIS2-Formel fand in der gesamten BIS-Iohexol-Population (n=566) statt. Dies beinhaltet auch die vorherige Entwicklungs- und Validierungsstichprobe und führt daher zu leicht vorteilhafteren Ergebnissen.

In den *Abbildungen 7 und 8* werden in Bland-Altman-Diagrammen die Mittelwerte der vier BTP- sowie der drei Kreatinin/ Cystatin C-basierten Schätzformeln und der mGFR gegen die Differenz dieser beiden aufgetragen dargestellt. Der Großteil der Werte der Schätzformeln liegt innerhalb des Übereinstimmungsintervalls (grauer Balken). Die in *Tabelle 6* dargestellten Ergebnisse sind wiederzufinden. So wird bei der BIS2-Formel durch die Gruppierung der Werte um die Mittellinie herum, das kleinste Bias dargestellt. Bei der White-Formel hingegen sind eine größere Streuung um die Mittellinie sowie eine steigende Tendenz zu beobachten.

Bei allen sieben eGFR-Schätzformeln ergibt sich erstens eine größere Streuung der Werte bei höherer GFR. Zweitens sind „Ausrecher“ aus dem Übereinstimmungsintervall festzustellen. Folglich ist eine ungenauere Abschätzung der GFR bei höherem GFR-Niveau festzustellen.

Abbildung 7: Bland-Altman-Diagramm: BTP-basierte eGFR-Formeln im Vergleich zur mGFR (110).

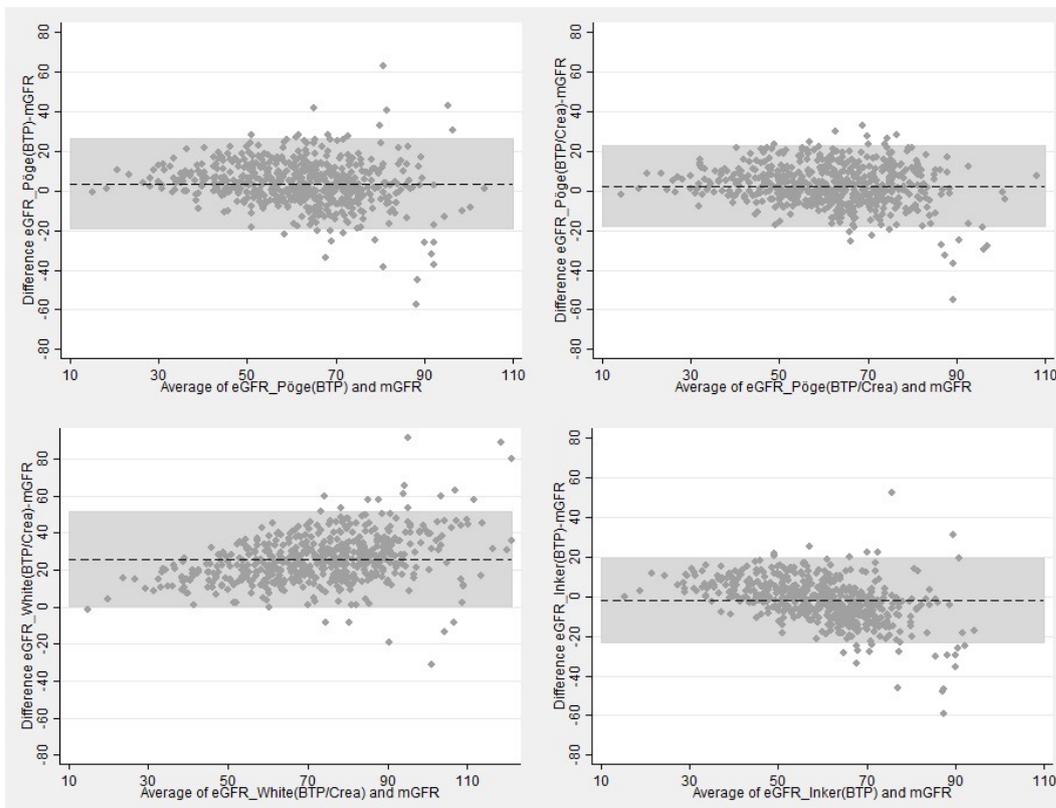
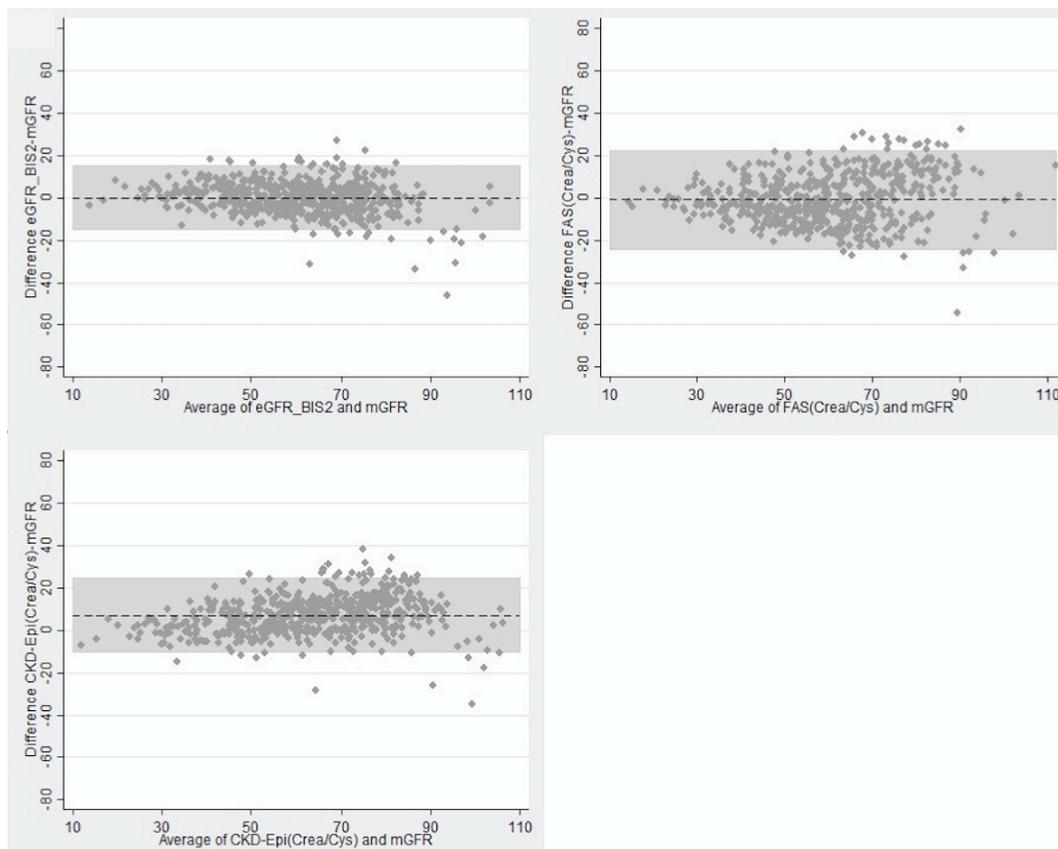


Abbildung 8: Bland-Altman-Diagramm: Kreatinin/ Cystatin C-basierte eGFR-Formel versus mGFR (110).



Legende *Abbildung 7 & 8*: Das Bias wird durch die gestrichelte Mittellinie dargestellt. Der horizontale graue Balken repräsentiert den Bereich zwischen oberen und unteren Grenzen der Übereinstimmungsgrenzen. Detaillierte Informationen über eGFR-Schätzformeln können dem Methodikteil entnommen werden.

3.4 Vergleich von BTP und anderen endogenen Biomarkern

BTP- versus Kreatinin/ Cystatin C-basierte GFR-Schätzformeln

Die genaue McNemar-Signifikanz-Wahrscheinlichkeit für die jeweiligen eGFR-Schätzformeln mit Gebrauch der P30-Kriterien ist in *Tabelle 7* dargestellt.

Die Zeilen sind nach absteigenden P30-Werten geordnet, sodass die BIS2-Formel die besten (96,6%) und die White_(BTP/Krea)-Formel die schlechtesten (25,6%) Ergebnisse aufweist. Auch hier gilt wieder auf die Entwicklung und Validierung der Formel in der Iohexol-Population hinzuweisen. Die Differenz der BIS2-Formel verglichen mit jeder der sechs Formeln war signifikant. Das Gleiche galt für die White_(BTP/Krea)-Formel. Weitere signifikante Differenzen wies die FAS_(Krea/ CysC)-Formel mit der CKD-EPI_(Krea/ CysC)-, der Pöge_(BTP/ Krea)- sowie der Pöge_(BTP)- Formel auf. Auch die Inker_(BTP)- und Pöge_(BTP)-Formel zeigten eine signifikante Differenz. Die restlichen Differenzen der eGFR-Schätzformeln waren nicht signifikant.

Tabelle 8 zeigt ein Beispiel aus *Tabelle 7*, in dem die Pöge_(BTP)-Formel und die mGFR mit der Pöge_(BTP/Krea)-Formel und der mGFR verglichen werden. Die Pöge_(BTP)-Formel weist einen P30-Wert von 85,2% auf, die Pöge_(BTP/Krea)-Formel schneidet mit einem P30-Wert von 87,7% besser ab. Die Differenz ist jedoch nicht signifikant. Wir prüften, ob die Differenz N=41 und N=26 zufällig aufgetreten sein könnte.

Tabelle 7: Genaue McNemar-Signifikanz-Wahrscheinlichkeit für jeweilige eGFR-Schätzformel. Das P30 Kriterium wird genutzt (ja, innerhalb von 30% Genauigkeit=1/ nein, nicht innerhalb der 30% Genauigkeit=0) (110).*

eGFR-Formel (P30-Wert)	BIS2	FAS (Krea/CysC)	Inker _(BTP)	CKD- EPI (Krea/CysC)	Pöge (BTP/Krea)	Pöge (BTP)	White (BTP/Krea)
BIS2 (96.6%)							
FAS (Krea/CysC) (91.2%)	0.00						
Inker _(BTP) (90.5%)	0.00	0.7310					
CKD-EPI (Krea/CysC) (88.2%)	0.00	0.0363	0.2229				
Pöge (BTP/Krea) (87.8%)	0.00	0.0145	0.1147	0.9036			
Pöge _(BTP) (85.2%)	0.00	0.0006	0.0000	0.1145	0.0864		
White (BTP/Krea) (25.6%)	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	

P30 entspricht den prozentualen Unterschieden [(eGFR – mGFR) / mGFR x 100].

*Gleiches gilt auch für Tabelle 8.

Tabelle 8: In dieser Tabelle wird ein Beispiel aus *Tabelle 7* gezeigt. Die Pöge_(BTP)-Formel und die mGFR werden mit der Pöge_(BTP/Krea)-Formel und der mGFR verglichen (110).

		Pöge _(BTP) -Formel vs. mGFR		
		Diff ≤ 30%	Diff > 30%	Total
Pöge _(BTP/Krea) - Formel vs. mGFR	Diff ≤ 30%	N=456	N=41	497
	Diff > 30%	N=26	N=43	69
	Total	482	84	566

Subgruppenanalyse

Um zu untersuchen, ob BTP bei einzelnen Patientengruppen zusätzliche Vorteile gegenüber Kreatinin und Cystatin C bringen könnte, wurden Subgruppenanalysen bei Individuen mit arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus sowie niedrigem bzw. hohem BMI durchgeführt. Es konnte ein leichter zusätzlicher Vorteil durch die Hinzunahme von BTP in das Vorhersagemodell zur Bestimmung der GFR bei Patienten mit arterieller Hypertonie, Diabetes mellitus und bei schlanken Individuen gezeigt werden. Der Zuwachs des Bestimmtheitsmaßes lag bei je 0,01 bei Patienten mit arterieller Hypertonie, 0,011 bei schlanken Individuen sowie 0,012 bei Diabetes mellitus. Diese Ergebnisse waren signifikant (*Tabelle 9*).

Tabelle 9: Doppelt logarithmisches lineares Regressionsmodell mit der Kombination aus Kreatinin und Cystatin C bzw. Kreatinin, Cystatin C und BTP für vier unterschiedliche Subgruppen in Individuen von ≥ 70 Jahren (n=566) (110).

Subgruppen	Regressionsmodell angepasst auf Alter und Geschlecht	Korr. R ²	RMSE	p-Wert		
				Krea	CysC	BTP
aHT, n= 435	Krea + CysC	0.819	0.126	<0.001	<0.001	
	Krea + CysC + BTP	0.829	0.122	<0.001	<0.001	<0.001
DM, n=136	Krea + CysC	0.849	0.124	<0.001	<0.001	
	Krea + CysC + BTP	0.861	0.119	<0.001	<0.001	0.001
BMI ≤ 23 , n= 53	Krea + CysC	0.885	0.113	<0.001	<0.001	
	Krea + CysC + BTP	0.896	0.107	<0.001	0.001	0.015
BMI ≥ 30 , n= 158	Krea + CysC	0.830	0.123	<0.001	<0.001	
	Krea + CysC + BTP	0.833	0.122	<0.001	<0.001	0.065

Korr. R²= Bestimmtheitsmaß; RMSE: Root Square Mean Error (mittlere quadratische Abweichung).

In *Tabelle 10* sind die Ergebnisse nach Anpassung der Maßeinheiten als standardisierte Koeffizienten im Regressionsmodell angepasst auf Alter und Geschlecht dargestellt. Hierbei zeigt sich, dass BTP in allen Subgruppen mit Ausnahme der Patienten mit einem BMI ≤ 23 einen höheren Wert nach Vereinheitlichung aufweist. Cystatin C zeigt in allen Subgruppen und allen Regressionsmodellen den höchsten Koeffizienten.

Tabelle 10: Standardisierte und nicht-standardisierte doppelt logarithmische Regressionsmodelle angepasst auf Alter und Geschlecht für die BIS-Subgruppe mit und ohne Diabetes mellitus bzw. Hypertonie sowie für schlanke (BMI ≤ 23), übergewichtige (BMI ≥ 30) und normalgewichtige Patienten (BMI 23 - 30) (110).

Subgruppen	Regressionsmodell angepasst auf Alter und Geschlecht	standardisierte Koeffizienten	nicht- standardisierte Koeffizienten	Standardfehler
aHT, n= 435	Krea +	-0.407	-0.414	0.040
	CysC	-0.530	-0.592	0.042
	Krea + CysC + BTP	-0.365 -0.421 -0.184	-0.371 -0.471 -0.176	0.040 0.048 0.035
keine aHT, n=131	Krea +	-0.396	-0.403	0.080
	CysC	-0.536	-0.599	0.087
	Krea + CysC + BTP	-0.343 -0.459 -0.137	-0.349 -0.514 -0.130	0.086 0.101 0.079
DM, n=136	Krea +	-0.286	-0.307	0.073
	CysC	-0.642	-0.723	0.075
	Krea + CysC+ BTP	-0.290 -0.494 -0.187	-0.312 -0.556 -0.179	0.070 0.086 0.050

Subgruppen	Regressionsmodell angepasst auf Alter und Geschlecht	standardi- sierte Koeffi- zienten	nicht- standar- disierte Koeffi- zienten	Standard- fehler
kein DM, n=430	Krea + CysC	-0.423 -0.511	-0.433 -0.575	0.041 0.044
	Krea + CysC + BTP	-0.370 -0.437 -0.142	-0.378 -0.492 -0.138	0.044 0.050 0.041
	BMI ≤23, n= 53	Krea + CysC	-0.531 -0.554	-0.574 -0.622
Krea + CysC + BTP		-0.487 -0.393 -0.235	-0.526 -0.441 -0.237	0.100 0.119 0.094
23<BMI<30 n=355		Krea + CysC	-0.430 -0.494	-0.448 -0.567
	Krea + CysC + BTP	-0.377 -0.391 -0.173	-0.393 -0.449 -0.169	0.047 0.058 0.045
	BMI ≥30. n= 158	Krea + CysC	-0.283 -0.652	-0.282 -0.689
Krea + CysC + BTP		-0.256 -0.599 -0.099	-0.255 -0.633 -0.092	0.068 0.073 0.050

4. Diskussion

Die Forschungen im Bereich der Nephrologie verfolgen seit langem das Ziel, die Genauigkeit von GFR-Schätzformeln zu verbessern. Viele Entscheidungen im klinischen Alltag sind maßgeblich von ihrem Ergebnis abhängig. So beruht die Stadieneinteilung der chronischen Nierenkrankheit und der Zeitpunkt des Beginns von Nierenersatzverfahren auf der Höhe der GFR. Auch die Dosierung bzw. Anpassung von Medikamenten sowie die Applikation von Kontrastmittel sind von ihr abhängig. Des Weiteren ist die GFR ein Kriterium bei der Auswahl möglicher Organspender. Nicht zuletzt gilt sie als Faktor zur Vorhersage von kardiovaskulärem Risiko, das mit chronischer Nierenerkrankung assoziiert ist. Da diese Konstellationen besonders häufig bei älteren Patienten auftreten, ist die genaue Abschätzung folglich in dieser Patientengruppe besonders relevant.

Die Forschungsergebnisse im Bereich der Nephrologie der letzten Jahre zeigten, dass der endogene Biomarker Cystatin C die Präzision und Genauigkeit von GFR-Schätzformeln verbessert (35,39,40,111). Diese Verbesserung gilt insbesondere für die Patientengruppe der älteren Individuen. Die Erklärung hierfür wird in der Unabhängigkeit des Biomarkers von Geschlecht, Alter und Muskelmasse vermutet.

In den letzten Jahren wurde in einigen Studien BTP als neuer Biomarker in die Berechnung der GFR einbezogen. Hier zeigte sich, dass auch BTP weniger abhängig von der Muskelmasse ist als Kreatinin (96,112).

Da der ideale renale endogene Biomarker bis zum jetzigen Zeitpunkt noch nicht entdeckt wurde, stellt BTP eine mögliche Option dar.

Wir untersuchten BTP in der vorliegenden Studie erstmalig in einer Population, die sich einzig aus älteren Individuen zusammensetzt. Die Untersuchung stand unter der Fragestellung, ob durch die Hinzunahme von BTP eine Verbesserung in der Berechnung der GFR erzielt werden könnte.

Insbesondere in der geriatrischen Nephrologie würde dies einen wichtigen Schritt bei der Therapie von älteren Patienten darstellen.

4.1 Hauptergebnis: BTP als renaler Biomarker erzielt keinen Vorteil

Bei 566 Probanden ≥ 70 Jahre bestimmten wir die GFR durch Iohexol-Plasmaclearance Messung.

In dieser Population der Alten bis Hochaltrigen konnten wir zeigen, dass durch die Hinzunahme von BTP zu einem mGFR-Regressionsmodell keine signifikanten Vorteile im Sinne einer präziseren GFR-Schätzung erzielt werden konnten. Dies galt auch nach Adjustierung für Geschlecht und Alter sowie für BTP als einzelnen Biomarker im Modell bzw. in Kombination mit Kreatinin und/ oder Cystatin C.

Ähnlich wie Cystatin C scheint BTP im Vergleich zu Kreatinin weniger beeinflusst von Alter, Geschlecht und BMI. Aufgrund dieser Ähnlichkeit erscheint es derzeit jedoch sehr fraglich, ob sich die zusätzlichen Kosten einer BTP-Bestimmung lohnen.

Altersabhängigkeit von BTP

Entgegen der Erwartung und im Gegensatz zu vorherigen Studien (113) zeigten unsere Daten einen Zusammenhang zwischen BTP und Alter: Die mittlere BTP-Konzentration stieg mit zunehmendem Alter. Zwischen der Altersgruppe der 70-Jährigen und der ≥ 90 -Jährigen kam es zu einer Zunahme von circa 14%. Folglich ergibt sich eine höhere Prävalenz der GFR < 60 ml/min/1.73m² je älter die Probanden werden. Allerdings ist eine Zunahme der Biomarker-Konzentration mit zunehmenden Alter auch für Kreatinin und Cystatin C beschrieben (114). Dieser Aspekt ist immer wieder Ausgangspunkt einer angeregten Debatte, ob es sich hierbei um eine pathologische Abnahme der Nierenfunktion oder ein Zeichen von physiologischer Nierenseneszenz handelt (115,116).

Ein weiterer Aspekt ist, dass Kreatinin Veränderungen der Nierenfunktion erst ab einer Abnahme der GFR von circa 50% anzeigt. Bei frühzeitiger GFR-Abnahme ist Cystatin C sensitiver (117). Für BTP konnte in vorherigen Studien dieser Vorteil gegenüber Kreatinin ebenfalls belegt werden (91,118). In unserer Studie fanden wir jedoch keinen Anhalt hierfür.

Geschlechtsabhängigkeit von BTP

Wir konnten des Weiteren feststellen, dass Männer in allen Altersgruppen höhere BTP-Konzentrationen (mg/L) als Frauen aufwiesen. Die beiden BTP-basierten eGFR-

Schätzformeln von Pöge berücksichtigen diese Tatsache nicht und nahmen im Vergleich zur Inker_(BTP) und White_(BTP/ K_{rea}) -Formel keinen Faktor für weibliches Geschlecht mit in ihre Formel auf. Dies könnte ein Grund für die leichte Überschätzung der GFR besonders in der weiblichen Gruppe darstellen.

BTP birgt keinen Vorteil in besonderen Patientengruppen

Außerdem untersuchten wir, ob BTP Vorteile bei der Nierenfunktionsbestimmung in bestimmten Subgruppen, wie beispielsweise Patienten mit Hypertonie, Diabetes mellitus sowie Unter- bzw. Übergewicht zeigen würde.

Die leichte Verbesserung, die für Hypertoniker, Diabetiker sowie schlanke Patienten durch die Hinzunahme von BTP im Vergleich mit der Kombination von Kreatinin und Cystatin C für das Prädiktionsmodell erzielt wurde, bietet dennoch zu wenig zusätzliche Information, um im Alter eine bessere Unterscheidung zwischen krankheits- bzw. altersbedingter, „physiologischer“ Nierenfunktionsveränderung zu liefern.

Einschränkungen von BTP im Labor

Die Variation der BTP-Laboranalysen ist verglichen mit denen von Kreatinin und Cystatin C weiterhin sehr hoch und großen Schwankungen unterlegen (82,119). Dies liegt sicherlich unter anderem daran, dass bisher keine zertifizierte, standardisierte Methode für die Laboranalyse von BTP erfolgreich etabliert werden konnte (120). Dieser Faktor erschwert die Vergleichbarkeit und trägt zur Ungenauigkeit der Ergebnisse bei.

4.2 Vergleich unserer Ergebnisse mit der aktuellen Studienlage

International untersuchen unterschiedliche Arbeitsgruppen BTP als neuen endogenen renalen Biomarker zur Bestimmung der Nierenfunktion.

Untersuchungen der Biochemie

White (59) und Filler (96) fassten 2014 die Grundlagen und den aktuellen Wissensstand über den neuen renalen endogenen Biomarker BTP zusammen. Sie kamen zu

dem Ergebnis, dass BTP gegenüber den etablierten Biomarkern Kreatinin und Cystatin C eine vielversprechende Alternative wäre: Filler schlug BTP als integrierten Marker zur GFR-Berechnung vor. White nannte konkret den Vorteil der Verwendung in den Patientengruppen der Schwangeren und Neugeborenen. Beide verwiesen auf weitere notwendige Untersuchungen, um dies zu bestätigen.

Korrelationsanalyse von Kreatinin, Cystatin C und BTP mit der mGFR

Die Ergebnisse unserer Korrelationsanalyse stimmten mit denen aus anderen Studien überein. Die Studiengruppe um Foster und Inker veröffentlichte im Jahr 2016 zwei Paper (41,71), in denen die endogenen Biomarker mit der mGFR sowie miteinander korreliert wurden. Die Ergebnisse ihrer Analysen korrespondieren mit unseren: Cystatin C korrelierte als renaler Biomarker am stärksten mit der mGFR. Zwischen Cystatin C und BTP fand sich die stärkste Korrelation der Biomarker untereinander. Insgesamt waren in dieser Studie stärkere Korrelationen als in der unseren zu finden. Ein Grund hierfür könnten die „non-GFR determinants“, wie zum Beispiel das hohe Alter und andere mit ihm vergesellschaftete Faktoren, sein.

Spanaus et al. (121) fanden 2010 eine starke Korrelation von Serum-Kreatinin, Cystatin C und BTP mit der mGFR. Die genauen Werte werden in dem Paper nicht dargestellt. Die Korrelationen der Biomarker untereinander waren insgesamt sehr hoch. Auch in diesen Analysen schnitt die Korrelation zwischen Cystatin C und BTP am besten ab. Die Ergebnisse sind aufgrund kleiner Studienpopulation sowie unterschiedlicher Formen der Nierenfunktionseinschränkung in ihrer Übertragbarkeit auf die Iohexol-Population kritisch zu bewerten.

BTP-basierte GFR-Schätzformeln

Die $Inker_{(BTP)}$ -Formel (41) zeigte im Vergleich von allen BTP-basierten GFR-Schätzformeln das beste Ergebnis. Diese BTP-basierte Formel wurde in einer Population von Patienten mit bereits eingeschränkter Nierenfunktion entwickelt und mit der etablierten $CKD-EPI_{(Kreatinin-Cystatin\ C)}$ -Formel verglichen. Während Inker et al. keinen Vorteil der $Inker_{(BTP)}$ -Formel gegenüber der $CKD-EPI_{(Kreatinin-Cystatin\ C)}$ -Formel in ihrer Population feststellten, zeichnete sie sich in unseren Analysen durch ein wesentlich kleineres Bias und eine höhere Präzision aus. Dies war ein überraschendes Ergebnis, da

unsere Regressionsanalysen zeigten, dass die Korrelation zwischen BTP mit der mGFR niedriger war als zwischen Kreatinin und Cystatin C mit der mGFR. Eine mögliche Erklärung wären die „non-GFR determinants“. Unsere Ergebnisse bestätigend, zeigte sich BTP in den Analysen von Inker ebenfalls weniger beeinflusst von Alter und Geschlecht als Kreatinin.

Die White $_{(BTP/Krea)}$ -Formel (43) lieferte im Vergleich aller Formeln die ungenauesten Ergebnisse und überschätzte die mGFR. Erstens unterschieden sich die Studienpopulationen bezüglich Alter und Nierenfunktion. Zweitens waren die Probanden nierentransplantiert. Drittens war die Kohorte mit 163 Individuen relativ klein.

Die beiden Pöge-Formeln (42), $Pöge_{(BTP)}$ sowie $Pöge_{(BTP/Kreatinin)}$, überschätzten die mGFR leicht. Sie wurden ebenfalls in Populationen von nierentransplantierten Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion entwickelt. In den durchgeführten Analysen kam es weder durch das Hinzufügen von Alter, noch von Gewicht, BMI, Größe oder Geschlecht zu genaueren Ergebnissen. Dementsprechend könnten fehlende Korrekturfaktoren für diese Variablen einen Grund für die Überschätzung liefern. Da die Population der Pöge-Formeln im Vergleich zu der unseren aus „jungen“ Individuen besteht, könnte auch hierin eine weitere Ursache für die Überschätzung liegen.

Die BIS2-Formel schätzte die GFR am genauesten. Da ihr ebenfalls der BIS-Datensatz zugrunde liegt, war dieses Ergebnis jedoch nicht überraschend. Hierbei sollte erwähnt werden, dass sich die Ergebnisse der BIS2 von vorherigen Publikationen leicht unterscheiden (40). In diesen fand die Validierung der Formel nur in der Hälfte der Iohexol-Subpopulation statt. Die aktuelle Validierung hingegen wurde in der gesamten BIS-Iohexol-Population ($n=566$) durchgeführt. Da diese Population auch die vorherige Entwicklungsstichprobe umfasst, kommt es daher zu leicht vorteilhafteren Ergebnissen.

Die FAS-Formel (39) lieferte annähernd so gute Ergebnisse wie die BIS2-Formel. Dies ist bemerkenswert, da die Formel ausschließlich Kreatinin-basiert ist. In die Studie wurden fast 1.800 Probanden über 70 Jahre eingeschlossen. Ab dem 40. Lebensjahr floss aufgrund der altersbedingten Nierenfunktionsabnahme ein Korrekturfaktor für das Alter mit in die Formel ein. 2017 veröffentlichte die Studiengruppe weitere Formeln (39), die Cystatin C als Biomarker integrierten. Sowohl die FAS $_{(CysC)}$ - als auch die FAS $_{(Krea/CysC)}$ -Formel übertrafen die CKD-EPI $_{(CysC)}$ - bzw. $_{(Krea/CysC)}$ -Formel.

Foster et al. (122) veröffentlichten 2017 Ergebnisse aus einer Querschnittsstudie mit 956 Individuen und einem Altersdurchschnitt >70 Jahren. Sie kamen zu dem

Ergebnis, dass BTP-basierte eGFR-Formeln weniger stark mit Alter und Geschlecht assoziiert sind als eGFR_(Kreatinin)-Formeln. Auch wenn diese Ergebnisse eine gewisse Unabhängigkeit von Alter und Geschlecht vermuten lassen, konnten wir dies in unserer Arbeit nicht bestätigen und konstatieren zusammenfassend, dass wir keinen zusätzlichen Vorteil in der Anwendung der BTP-basierten GFR-Schätzformeln (41–43) bei alten Menschen im Vergleich zu den Kreatinin/Cystatin C-basierten Formeln CKD-EPI_(Kreatinin-Cystatin C) sowie FAS_(Kreatinin-Cystatin C) (39–41) sehen.

Eine weitere Publikation der FAS-Arbeitsgruppe (123) arbeitete mit „umskalierten BTP-Werten“ (in Analogie zu „umskalierten“ Kreatinin- und Cystatin C-Werten in den FAS-Publikationen. „Umskalieren“ beschreibt einen statischen Vorgang, der die Normierung von Werten, die auf unterschiedlichen Skalen gemessen wurden, anstrebt. Hierzu wird der Wert des Biomarkers durch eine festgelegte Konstante dividiert. Umskaliertes BTP wies die gleichen Referenzintervalle wie Krea und CysC auf. In die FAS-Schätzformel integriert, zeigte die Anwendung von umskaliertem BTP ähnlich gute Ergebnisse wie umskaliertes Kreatinin und Cystatin C. Die Kombination der drei umskalierten Biomarker in einer Formel übertraf die Kombination aus Krea und Cystatin C jedoch nicht. Schlussfolgernd stellt die Umskalierung von BTP zwar technisch eine gute Möglichkeit dar, diesen Biomarker in der Nierenfunktionsdiagnostik zu verwenden, bisher allerdings ohne greifbare Vorteile.

Prädiktion von kardiovaskulären Ereignissen und/ oder Tod

Von der Prädiktion der GFR abzugrenzen, um die es in dieser Arbeit vorrangig geht, ist die Prädiktion von in der Zukunft liegenden Ereignissen wie beispielsweise Myokardinfarkten, Schlaganfällen, akutem Nierenversagen oder Tod. In diesem Zusammenhang wurden 2012 Ergebnisse der ARIC-Studie (n= 9.988) nach einem 10-Jahres Follow-up publiziert (124). Sie zeigten, dass das Hinzufügen von BTP zu eGFR-Modellen, die die CKI-EPI-Schätzformel enthalten, den Voraussagewert über ungünstige Ereignisse (zum Beispiel akutes Nierenversagen oder Mortalität) erhöht.

Foster et al. (125) veröffentlichten 2016 Untersuchungen der CRIC-Studie (n= 3.613) nach einem Follow-up von 6 Jahren. Wie schon die ARIC-Studie kamen auch sie zu dem Ergebnis, dass das Hinzufügen von BTP zu auf Kreatinin- und Cystatin C-basierenden Schätzformeln, als unabhängiger Prädiktor in direktem Zusammenhang dialysepflichtiger Niereninsuffizienz und Mortalität steht.

Eine Metaanalyse von Inker aus dem Jahr 2017 bestätigte, dass BTP-basierte eGFR-Formeln die Vorhersage für chronische Niereninsuffizienz und Mortalität verbessern (126).

Auch Rebholz et al. (127) stellten einen direkten Zusammenhang zwischen der Abnahme der GFR mittels BTP-basierter eGFR-Schätzformel und dem Fortschreiten der chronischen Niereninsuffizienz über ein Jahr fest.

4.3 Übertragbarkeit der vorliegenden Ergebnisse

Die 566 Patienten unserer Studie stellen einen repräsentativen Querschnitt der Allgemeinbevölkerung in dieser Altersgruppe dar. Hierzu trug zum einen das Auswahlkriterium der Krankenversicherung bei: Die AOK ist eine Krankenkasse, die in Berlin mehr als 50% aller über 70-Jähriger versichert (102). Zum anderen wurde eine Stichprobe von Versicherten gezogen. Des Weiteren wurde ein ausführlicher Vergleich von Verteilung und Häufigkeit der Morbiditäten in der BIS-Population mit der Häufigkeit und Verteilung der gleichen Morbiditäten in der Population der AOK-Nordost durchgeführt (und dies alters- und geschlechtsgewichtet). Dieser Vergleich zeigte eine hohe Übereinstimmung der Morbiditäten der beiden Gruppen (114): Bei keiner Morbidität konnte eine größere Differenz als 6% festgestellt werden.

Viele der Ergebnisse der in Kapitel 4.2 diskutierten Studien basieren auf einem longitudinalen Studiendesign. Im Jahr 2016 konnten Foster et al. zum Beispiel zeigen, dass BTP über die bisher genutzten Biomarker Kreatinin und Cystatin C hinaus einen Beitrag zur Prädiktion möglicher negativer „Outcomes“ leisten könnte (125). Bei der hier vorliegenden Arbeit handelt es sich jedoch um eine reine Querschnittsanalyse unter der Fragestellung der Prädiktion der GFR unter Einbeziehung von BTP. Für diese Analysen sind keine Längsschnittdaten erforderlich. Folglich können aber auch keine Aussagen über Verläufe getroffen werden, beispielsweise die Vorhersage der Nierenfunktion oder das Auftreten kardiovaskulärer Erkrankungen oder Mortalität. Da dies auch nicht Ziel der vorliegenden Arbeit war, werden sich kommende Analysen der BIS diesen Fragestellungen widmen.

4.4 Limitationen der Studie

Anwendbarkeit der Ergebnisse

Grundsätzlich sind unsere Ergebnisse nur auf Individuen übertragbar, die denen in unserer Population gleichen.

Unsere Studie beschränkte sich auf ältere Individuen. Dies ermöglicht ausschließlich Aussagen über einen möglichen Vorteil des BTP-Biomarkers in dieser ausgewählten Population. Trotz dieser „Altersbeschränkung“, bestätigen die Ergebnisse dennoch Erkenntnisse aus Studien anderer Altersgruppen. So lieferte BTP bisher weder in Populationen von Kindern (128,129) noch von Erwachsenen (97,130) bessere Ergebnisse als Kreatinin bzw. Cystatin C.

Des Weiteren können wir keine Aussage über den Einfluss anderer Ethnizitäten treffen, da unsere Population einzig Kaukasier einschloss.

Auch fehlt die Grundlage zum Vergleich von Individuen mit schwerwiegender Nierenfunktionseinschränkung, da es sich bei der BIS um eine populationsbasierte Kohorte handelt. Folglich wiesen nur wenige Studienteilnehmer zu Studienbeginn eine schwere Einschränkung der Nierenfunktion auf.

Fehlerquellen im Rahmen der Iohexolmessung (Goldstandard)

Bei Studien, die sich auf einen Goldstandard beziehen, ist dieser immer kritisch zu beurteilen. In diesem Zusammenhang könnten mögliche Fehlerquellen bereits vor Beginn des Messzeitpunktes gelegen haben. Hierzu zählen die Einnahme von NSARs, ein proteinreiches Frühstück oder der Genuss von koffeinhaltigen Getränken.

Vertreter der NSARs sind Acetylsalicylsäure, Ibuprofen und Diclofenac. Sie hemmen das Enzym Cyclooxygenase (COX). Diese Hemmung führt zu einer Abnahme der GFR und einer Erhöhung der Plasmakonzentrationen von z.B. Iohexol (131). Im Rahmen der Iohexol-Plasmaclearance Messung wurde den Probanden die Anweisung erteilt, auf NSARs zu verzichten. Vor Beginn der Messung wurde die Einhaltung dieser Anweisung nochmals erfragt. Falls NSARs eingenommen worden sind, erfolgte die Messung zu einem anderen Zeitpunkt.

Proteinreiche Ernährung vor dem Zeitpunkt der Messung führt zu einer Zunahme der GFR (132). Hierbei kommt es über die Abnahme des renalen Gefäßwiderstandes zu

einer Steigerung des renalen Plasmaflusses (133). Diesbezüglich wurden den Probanden im Voraus konkrete Anweisungen erteilt, was morgens verzehrt werden durfte und was nicht (zum Beispiel kein Joghurt, kein Quark, kein Käse, keine Wurst).

Die Wirkstoffe von Kaffee (Koffein) sowie von Tee (Theophyllin) sind Adenosin-Rezeptor-Antagonisten (134). Diese inhibieren die renale Reabsorption und bewirken folglich eine Natriurese sowie gesteigerte Diurese (135). Am Tag der Messung galt es daher, morgens vor der Messung sowie zwischen den Blutentnahmen auf Kaffee sowie schwarzen und grünen Tee zu verzichten.

Auch zum Messzeitpunkt besteht die Möglichkeit von Fehlern. Hierzu zählt eine fehlerhafte Applikation von Iohexol paravasal, die Blutentnahme zu falschen Zeitpunkten oder die Verwechslung von Proben. Gut geschultes medizinisches Personal sowie das Führen eines genauen Protokolls minimierten diese Fehler.

Einschränkung der endogenen Marker

Kreatinin

Kreatinin-Spiegel werden von „non-GFR determinants“ bestimmt: Die in unserer Studienpopulation wohl prominentesten Nierenfunktions-unabhängigen Faktoren stellen das Geschlecht, die im Alter häufig anzutreffende verminderte Muskelmasse sowie ein geringer Fleisch-bzw. Proteinkonsum (bis hin zur Malnutrition) dar.

Eine der entscheidendsten Determinanten im Alter ist die Muskelmasse, die im Rahmen der Sarkopenie abnimmt (136). Außerdem führen Krankheiten zu einer Abnahme der Muskelmasse. Beispiele hierfür sind Muskeldystrophien, amyotrophe Lateralsklerose, Dermato- und Poliomyositis sowie Hyperthyreose. Immobilisation und Glukokortikoidtherapie(137) stellen weitere Ursachen dar. Reduzierte Muskelmasse führt zu erniedrigtem Kreatinin-Serum-Spiegel. Daraus resultiert eine Überschätzung der GFR.

Zweitens hat auch die Ernährung Einfluss auf die Kreatinin-Konzentration: Patienten mit einem hohen Fleischkonsum weisen höhere Kreatinin-Werte auf (138). Umgekehrt zeigen Patienten mit niedrigem Fleischkonsum eine bis zu 15% geringere Kreatinin-Ausscheidung im Harn (139). Bei chronisch niereninsuffizienten Patienten führt die stark eingeschränkte Nierenfunktion und somit die mangelnde Elimination von Kreatinin vermehrt zu extrarenaler Elimination, zum Beispiel über den Magen-Darm-Trakt (140). Dies kann einen gewissen Einfluss auf die Serum-Kreatinin-Spiegel nehmen.

Des Weiteren sollten Medikamente mit in die Einschätzung einbezogen werden. Antibiotika führen durch die Inhibition der im Darm sitzenden Kreatininkinase zu abnehmender extrarenaler Kreatininelimination und folglich steigenden Serum-Spiegeln. Durch Medikamente wie Trimethoprim, Cimetidin und Fenofibrat wird die tubuläre Kreatinin-Sekretion gehemmt (19). Beides führt zu einer Unterschätzung der GFR.

Cystatin C

Es gibt einige klinische Situationen, die mit erhöhten Serum-Cystatin C-Konzentrationen assoziiert sind. Insbesondere in einer Population wie der BIS sind diese kritisch zu bewerten.

Systemische Inflammation wird mit erhöhten Serum-CysC Konzentrationen in Verbindung gebracht (141–145). In unserer Population lag das mittlere CRP im Normbereich. Der Einfluss bei einzelnen Probanden kann aufgrund der Spannweite (0,23–44,21 mg/L) jedoch nicht ausgeschlossen werden.

In der Annahme, dass Fettzellen eine Art Inflammationskaskade in Gang setzen, lassen sich evtl. erhöhte Cystatin C-Werte bei Übergewicht erklären (141–145). So ist ein erhöhter BMI mit erhöhten Cystatin C-Werten assoziiert und führt folglich zu einer erniedrigten eGFR - ein Faktor, der insbesondere in einer älteren Population wie der BIS relativ weit verbreitet ist: Rund ein Viertel der Probanden war mit einem BMI $>30\text{kg/m}^2$ übergewichtig.

Weiterhin sorgen Diabetes und Mangelernährung für erhöhte Cys-C Werte (146). Auch diese beiden klinischen Situationen sind bei rund einem Viertel der Probanden zu finden.

Außerdem sind Erkrankungen der Schilddrüse mit höheren CysC-Spiegeln assoziiert (19,147). Eine Hyperthyreose war aufgrund der Gefahr einer thyreotoxischen Krise nach Gabe von jodhaltigem Iohexol ein Ausschlusskriterium für die Teilnahme an der vorliegenden Studie.

Des Weiteren sind Nikotinkonsum (141,143,144) und maligne Neoplasien (148) Faktoren, die in den meisten Studien mit höheren CysC-Spiegeln in Verbindung gebracht werden. Auch Medikamente, die den Zellumsatz steigern, führen zu einer Erhöhung des CysC-Spiegels. Hierzu zählen Chemotherapien (146) und hohe Dosen von Kortikosteroiden (19).

Interferenzen mit dem Cystatin C-Assay sind bisher nur durch heterophile Antikörper bekannt (19). Als unspezifische Antikörper sind sie in der Lage, an Antigene des Assays zu binden und so falsch positive Messergebnisse zu verursachen.

Zusammenfassend zeigt sich, dass die CysC-Serumkonzentration nicht nur von der Nierenfunktion abhängig ist, sondern auch multiplen anderen Einflüssen unterliegt.

Dennoch belegen unsere Ergebnisse wie auch andere aktuelle Studien, dass erhöhte CysC-Serumkonzentrationen stärker mit eingeschränkter Nierenfunktion assoziiert sind als das Serum-Kreatinin (35,149,150). Sowohl eine höhere Sensitivität als auch Spezifität gelten hierbei über alle GFR-Bereiche hinweg (78). Schlussfolgernd kann somit festgestellt werden, dass Cystatin C in Populationen, in denen häufiger die oben beschriebenen Eigenschaften oder Krankheitszustände anzutreffen sind, dem Serum-Kreatinin als Indikator zur Bestimmung der Nierenfunktion überlegen zu sein scheint.

BTP

Zum heutigen Zeitpunkt ist das Wissen über die biologischen Eigenschaften von BTP noch recht oberflächlich. So ist wenig über seine Synthese sowie renale und nicht-renale Eliminationswege bekannt. Dies trägt dazu bei, dass es an Referenzwerten fehlt. Folglich ist die Vergleichbarkeit insbesondere zwischen unterschiedlichen Patientengruppen nicht ohne weiteres gegeben.

Über Faktoren, die die Serum-BTP Spiegel beeinflussen, ist wenig bekannt. Der Einfluss von Kortikosteroiden wird kontrovers diskutiert (97,98). Auch der Einfluss von Schilddrüsenerkrankungen und der Leberfunktion wird von White et al. kritisch beleuchtet (59). Eine Studie konnte erhöhte Serum-BTP Konzentrationen bei Patienten mit Schlafapnoe und vermehrter Tagesmüdigkeit feststellen (151).

Labormethoden zur Bestimmung der BTP-Konzentration sind bis zum jetzigen Zeitpunkt nicht standardisiert. Zwar sind eine Vielzahl von Methoden verfügbar, von denen die Nephelometrie und der ELISA kommerziell genutzt werden (59). Dies führt aber zu wesentlich höheren Laborkosten im Vergleich zu Kreatinin oder Cystatin C.

BTP scheint in Kombination mit beta2-Microglobulin genauere Ergebnisse zu liefern (41). Da in unserer Population kein B2M gemessen wurde, konnten wir unsere Analysen nur mit BTP bzw. in Kombination mit Kreatinin und/oder Cystatin C durchführen. Auch wären klinische Konstellationen möglich, die in unseren Analysen nicht berücksichtigt wurden und in denen BTP einen Vorteil zur Bestimmung der GFR liefert.

Hierzu zählt beispielsweise eine bereits eingeschränkte Nierenfunktion, Dialysepflichtigkeit oder eine andere Ethnizität.

Eine Vielzahl von Studien (121,124,125,152–157) stellten eine stärkere Assoziation von Tod, kardiovaskulären Erkrankungen und Folgen von Nierenerkrankungen mit BTP als mit Kreatinin fest. Da dies nicht Thema der vorliegenden Arbeit war, kann hierzu keine Aussage getroffen werden.

4.5 Implikationen für Klinik und Forschung

Trotz der Tatsache, dass die in dieser Dissertation dargestellten Ergebnisse keinen Vorteile von BTP gegenüber herkömmlichen Biomarkern feststellen konnten, haben sie die Suche nach „dem optimalen“ endogenen renalen Filtrationsmarker ein weiteres Stück vorangebracht. Es konnte gezeigt werden, dass die alleinige Einbeziehung von BTP in eine Formel zur Berechnung der GFR bei älteren Individuen keinen Vorteil birgt. Die longitudinale Analyse wird zeigen, ob BTP kardiovaskuläre Ereignisse oder Mortalität besser präzisieren kann als Kreatinin oder Cystatin C.

Unsere Studie hat die Notwendigkeit verdeutlicht, die Beschaffenheit der Studienpopulationen, in denen die Biomarker-Vergleiche stattfinden, zu berücksichtigen. So liegen zwar viele Analysen zur Verwendung von BTP als renalem Biomarker zur Bestimmung der Nierenfunktion vor. Jedoch war zu sehen, dass die Formeln, die in jüngeren Studienteilnehmern entwickelt wurden, größtenteils schlechter abschnitten. Daher gilt es immer zu hinterfragen, ob die Ergebnisse übertragbar sind.

Der aktuelle Wissenstand reicht jedoch noch nicht aus, um eine definitive Aussage zur Qualität von BTP als renalem Biomarker zur Bestimmung der Nierenfunktion treffen zu können. So bleiben weitere Untersuchungen und Analysen zu diesem Thema notwendig.

Auch die Standardisierung der Laborverfahren sowie die Definition von Referenzwerten ist ein dringlicher nächster Schritt, um die Vergleichbarkeit zu erhöhen.

Die Populationen der AGES- und MESA-Studie weisen in Bezug auf das Alter ein ähnliches Patientenspektrum wie die BIS auf. Dies böte die Möglichkeit, die Größe der Population zu erweitern bzw. eine Population im gleichen Alter zu Vergleichszwecken heran zu ziehen. Auch ließe sich überprüfen, ob unsere Ergebnisse auf Patienten mit bereits eingeschränkter Nierenfunktion und andere Ethnizitäten übertragen werden können.

4.6 Schlussfolgerung

Zum jetzigen Zeitpunkt und nach heutigem Wissenstand liefert BTP zur Abschätzung der GFR keinen Vorteil bei älteren Individuen. Dies gilt sowohl für die Verwendung von BTP als alleinigen Biomarker in einem Modell als auch für die Kombination mit Kreatinin und/ oder Cystatin C. Insbesondere scheint mit Cystatin C ein endogener Biomarker entdeckt worden zu sein, der BTP gegenüber überlegen ist und seine Hinzunahme überflüssig macht.

Auch bei bestimmten Patientengruppen wie Hypertonikern, Diabetikern sowie unter- bzw. übergewichtigen Patienten bietet BTP keinen klaren zusätzlichen Vorteil.

Ob BTP als endogener Biomarker einen Vorteil in der Risikoabschätzung und Prognose von kardiovaskulären Ereignissen oder Tod bei älteren Individuen liefert und in diesen Punkten eventuell sogar Kreatinin und/ oder Cystatin C übertreffen kann, ist bei dem jetzigen Stand der Analyse nicht zu beurteilen. Zusätzliche Untersuchungen sind notwendig, um zu diesen Punkten eine qualitative Aussage treffen zu können.

Literaturverzeichnis

1. Klinker R, Pape H-C, Kurtz A, Sibernagl S. Physiologie. 6. Aufl. Georg Thieme Verlag; 2009. 330–78.
2. Moore RA. The total number of glomeruli in the normal human kidney. *Anat Rec.* 1931;48:153–68.
3. Welsch U. Lehrbuch Histologie. Elsevier Urban und Fischer; 2006. 449–66.
4. Arastéh K, Baenkler H-W, Bieber C, Brandt R, Chatterjee TT. Duale Reihe Innere Medizin. Georg Thieme Verlag; 2009. 845–54 S.
5. Rule AD, Amer H, Cornell LD, Taler SJ, Cosio FG, Kremers WK, Textor SC, Stegall MD. The association between age and nephrosclerosis on renal biopsy among healthy adults. *Ann Intern Med.* 4. Mai 2010;152(9):561–7.
6. Goyal VK. Changes with age in the human kidney. *Exp Gerontol.* 1982;17(5):321–31.
7. Smith HW. Comparative physiology of the kidney. *J Am Med Assoc.* 26. Dezember 1953;153(17):1512–4.
8. Davies DF, Shock NW. Age changes in glomerular filtration rate, effective renal plasma flow, and tubular excretory capacity in adult males. *J Clin Invest.* Mai 1950;29(5):496–507.
9. Bäck SE, Ljungberg B, Nilsson-Ehle I, Borgå O, Nilsson-Ehle P. Age dependence of renal function: clearance of iohexol and p-amino hippurate in healthy males. *Scand J Clin Lab Invest.* November 1989;49(7):641–6.
10. Lindeman RD, Tobin J, Shock NW. Longitudinal studies on the rate of decline in renal function with age. *J Am Geriatr Soc.* April 1985;33(4):278–85.
11. Pottel H, Hoste L, Yayo E, Delanaye P. Glomerular Filtration Rate in Healthy Living Potential Kidney Donors: A Meta-Analysis Supporting the Construction of the Full Age Spectrum Equation. *Nephron.* 2017;135(2):105–19.
12. Lindeman RD, Goldman R. Anatomic and physiologic age changes in the kidney. *Exp Gerontol.* 1986;21(4–5):379–406.
13. Beck LH. Changes in renal function with aging. *Clin Geriatr Med.* Mai 1998;14(2):199–209.
14. Neugarten J, Gallo G, Silbiger S, Kasiske B. Glomerulosclerosis in aging humans is not influenced by gender. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* November 1999;34(5):884–8.
15. Fuiano G, Sund S, Mazza G, Rosa M, Caglioti A, Gallo G, Natale G,

- Andreucci M, Memoli B, De Nicola L, Conte G. Renal hemodynamic response to maximal vasodilating stimulus in healthy older subjects. *Kidney Int.* März 2001;59(3):1052–8.
16. Melk A, Halloran PF. Cell senescence and its implications for nephrology. *J Am Soc Nephrol JASN.* Februar 2001;12(2):385–93.
 17. Rule AD, Larson TS, Bergstralh EJ, Slezak JM, Jacobsen SJ, Cosio FG. Using serum creatinine to estimate glomerular filtration rate: accuracy in good health and in chronic kidney disease. *Ann Intern Med.* 21. Dezember 2004;141(12):929–37.
 18. Coresh J, Astor BC, Greene T, Eknoyan G, Levey AS. Prevalence of chronic kidney disease and decreased kidney function in the adult US population: Third National Health and Nutrition Examination Survey. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* Januar 2003;41(1):1–12.
 19. KDIGO.
 20. Matsushita K, Mahmoodi BK, Woodward M, Emberson JR, Jafar TH, Jee SH, Polkinghorne KR, Shankar A, Smith DH, Tonelli M, Warnock DG, Wen C-P, Coresh J, Gansevoort RT, Hemmelgarn BR, Levey AS, Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium. Comparison of risk prediction using the CKD-EPI equation and the MDRD study equation for estimated glomerular filtration rate. *JAMA.* 9. Mai 2012;307(18):1941–51.
 21. Moukarbel GV, Yu Z-F, Dickstein K, Hou YR, Wittes JT, McMurray JJV, Pitt B, Zannad F, Pfeffer MA, Solomon SD. The impact of kidney function on outcomes following high risk myocardial infarction: findings from 27 610 patients. *Eur J Heart Fail.* März 2014;16(3):289–99.
 22. Weiner DE, Tighiouart H, Amin MG, Stark PC, MacLeod B, Griffith JL, Salem DN, Levey AS, Sarnak MJ. Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality: a pooled analysis of community-based studies. *J Am Soc Nephrol JASN.* Mai 2004;15(5):1307–15.
 23. Chowdhury R, Peel NM, Krosch M, Hubbard RE. Frailty and chronic kidney disease: A systematic review. *Arch Gerontol Geriatr.* Februar 2017;68:135–42.
 24. Carl W Gottschalk, Robert W Berliner, Gerhard H Giebisch. *Renal physiology- People and ideas.* Springer-Verlag New York; 1987.
 25. Smith HW. *The Kidney: Structure and Function in Health and Disease.* Oxford University Press; 1951.
 26. Möller E, McIntosh JF, Van Slyke DD. *STUDIES OF UREA EXCRETION. II:*

Relationship Between Urine Volume and the Rate of Urea Excretion by Normal Adults. *J Clin Invest.* Dezember 1928;6(3):427–65.

27. Perrone RD, Madias NE, Levey AS. Serum creatinine as an index of renal function: new insights into old concepts. *Clin Chem.* Oktober 1992;38(10):1933–53.
28. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron.* 1976;16(1):31–41.
29. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med.* 16. März 1999;130(6):461–70.
30. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, Zhang YL, Castro AF, Feldman HI, Kusek JW, Eggers P, Van Lente F, Greene T, Coresh J, CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med.* 5. Mai 2009;150(9):604–12.
31. Verhave JC, Fesler P, Ribstein J, du Cailar G, Mimran A. Estimation of renal function in subjects with normal serum creatinine levels: influence of age and body mass index. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* August 2005;46(2):233–41.
32. Lin J, Knight EL, Hogan ML, Singh AK. A comparison of prediction equations for estimating glomerular filtration rate in adults without kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN.* Oktober 2003;14(10):2573–80.
33. Bostom AG, Kronenberg F, Ritz E. Predictive performance of renal function equations for patients with chronic kidney disease and normal serum creatinine levels. *J Am Soc Nephrol JASN.* August 2002;13(8):2140–4.
34. Fliser D, Ritz E. Serum cystatin C concentration as a marker of renal dysfunction in the elderly. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* Januar 2001;37(1):79–83.
35. Inker LA, Schmid CH, Tighiouart H, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, Kusek JW, Manzi J, Van Lente F, Zhang YL, Coresh J, Levey AS, CKD-EPI Investigators. Estimating glomerular filtration rate from serum creatinine and cystatin C. *N Engl J Med.* 5. Juli 2012;367(1):20–9.
36. Grubb A, Horio M, Hansson L-O, Björk J, Nyman U, Flodin M, Larsson A, Bökenkamp A, Yasuda Y, Blufpand H, Lindström V, Zegers I, Althaus H, Blirup-Jensen S, Itoh Y, Sjöström P, Nordin G, Christensson A, Klima H, Sunde K, Hjort-Christensen P, Armbruster D, Ferrero C. Generation of a new cystatin C-based estimating

equation for glomerular filtration rate by use of 7 assays standardized to the international calibrator. *Clin Chem*. Juli 2014;60(7):974–86.

37. Filler G, Lepage N. Should the Schwartz formula for estimation of GFR be replaced by cystatin C formula? *Pediatr Nephrol Berl Ger*. Oktober 2003;18(10):981–5.

38. Larsson A, Malm J, Grubb A, Hansson LO. Calculation of glomerular filtration rate expressed in mL/min from plasma cystatin C values in mg/L. *Scand J Clin Lab Invest*. 2004;64(1):25–30.

39. Pottel H, Delanaye P, Schaeffner E, Dubourg L, Eriksen BO, Melsom T, Lamb EJ, Rule AD, Turner ST, Glassock RJ, De Souza V, Selistre L, Goffin K, Pauwels S, Mariat C, Flamant M, Ebert N. Estimating glomerular filtration rate for the full age spectrum from serum creatinine and cystatin C. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 01 2017;32(3):497–507.

40. Schaeffner ES, Ebert N, Delanaye P, Frei U, Gaedeke J, Jakob O, Kuhlmann MK, Schuchardt M, Tölle M, Ziebig R, van der Giet M, Martus P. Two novel equations to estimate kidney function in persons aged 70 years or older. *Ann Intern Med*. 2. Oktober 2012;157(7):471–81.

41. Inker LA, Tighiouart H, Coresh J, Foster MC, Anderson AH, Beck GJ, Contreras G, Greene T, Karger AB, Kusek JW, Lash J, Lewis J, Schelling JR, Navaneethan SD, Sondheimer J, Shafi T, Levey AS. GFR Estimation Using β -Trace Protein and β 2-Microglobulin in CKD. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Januar 2016;67(1):40–8.

42. Pöge U, Gerhardt T, Stoffel-Wagner B, Palmedo H, Klehr H-U, Sauerbruch T, Woitas RP. Beta-trace protein-based equations for calculation of GFR in renal transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. März 2008;8(3):608–15.

43. White CA, Akbari A, Doucette S, Fergusson D, Hussain N, Dinh L, Filler G, Lepage N, Knoll GA. A novel equation to estimate glomerular filtration rate using beta-trace protein. *Clin Chem*. November 2007;53(11):1965–8.

44. Barratt, T Martin, Avner, Ellis D, Harmon, William. *Pediatric nephrology*. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 1999.

45. Frennby B, Sterner G, Almén T, Hagstam KE, Hultberg B, Jacobsson L. The use of iohexol clearance to determine GFR in patients with severe chronic renal failure--a comparison between different clearance techniques. *Clin Nephrol*. Januar 1995;43(1):35–46.

46. Nitsch E, Iwanov W, Lederer K. Molecular characterization of sinistirin. *Carbohydr Res.* 1. Juli 1979;72:1–12.
47. Buclin T, Pechère-Bertschi A, Séchaud R, Décosterd LA, Munafo A, Burnier M, Biollaz J. Sinistrin clearance for determination of glomerular filtration rate: a reappraisal of various approaches using a new analytical method. *J Clin Pharmacol.* August 1997;37(8):679–92.
48. Nilsson-Ehle P. Iohexol clearance for the determination of glomerular filtration rate: 15 years' experience in clinical practice. *eJIFCC.* 2001;48–52.
49. Guesry P, Kaufman L, Orloff S, Nelson JA, Swann S, Holliday M. Measurement of glomerular filtration rate by fluorescent excitation of non-radioactive meglumine iothalamate. *Clin Nephrol.* 1975;3(4):134–8.
50. Schwartz GJ, Furth S, Cole SR, Warady B, Muñoz A. Glomerular filtration rate via plasma iohexol disappearance: pilot study for chronic kidney disease in children. *Kidney Int.* Juni 2006;69(11):2070–7.
51. Mützel W, Speck U. Pharmacokinetics and biotransformation of iohexol in the rat and the dog. *Acta Radiol Suppl.* 1980;362:87–92.
52. Gaspari F, Perico N, Ruggenti P, Mosconi L, Amuchastegui CS, Guerini E, Daina E, Remuzzi G. Plasma clearance of nonradioactive iohexol as a measure of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol JASN.* August 1995;6(2):257–63.
53. Krutzén E, Bäck SE, Nilsson-Ehle I, Nilsson-Ehle P. Plasma clearance of a new contrast agent, iohexol: a method for the assessment of glomerular filtration rate. *J Lab Clin Med.* Dezember 1984;104(6):955–61.
54. Bäck SE, Krutzén E, Nilsson-Ehle P. Contrast media as markers for glomerular filtration: a pharmacokinetic comparison of four agents. *Scand J Clin Lab Invest.* Mai 1988;48(3):247–53.
55. Cavalier E, Rozet E, Dubois N, Charlier C, Hubert P, Chapelle J-P, Krzesinski J-M, Delanaye P. Performance of iohexol determination in serum and urine by HPLC: validation, risk and uncertainty assessment. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* Oktober 2008;396(1–2):80–5.
56. Soveri I, Berg UB, Björk J, Elinder C-G, Grubb A, Mejare I, Sterner G, Bäck S-E, SBU GFR Review Group. Measuring GFR: a systematic review. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* September 2014;64(3):411–24.
57. Rehberg PB. Studies on Kidney Function: The Rate of Filtration and Reabsorption in the Human Kidney. *Biochem J.* 1926;20(3):447–60.

58. Püschel GP, Kietzmann T, Doenecke D, Kühn H. Taschenlehrbuch Biochemie. Georg Thieme Verlag; 2011. 727 S.
59. White CA, Ghazan-Shahi S, Adams MA. β -Trace protein: a marker of GFR and other biological pathways. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Januar 2015;65(1):131–46.
60. Dondi M, Fanti S. Determination of individual renal function through noninvasive methodologies. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. November 1995;4(6):520–4.
61. Brøchner-Mortensen J. Current status on assessment and measurement of glomerular filtration rate. *Clin Physiol Oxf Engl*. Februar 1985;5(1):1–17.
62. Miller BF, Leaf A, Mamby AR, Miller Z. Validity of the endogenous creatinine clearance as a measure of glomerular filtration rate in the diseased human kidney. *J Clin Invest*. März 1952;31(3):309–13.
63. Mandel EE, Jones FL, Willis MJ, Cargill WH. Renal excretion of creatinine and inulin in man. *J Lab Clin Med*. Oktober 1953;42(4):621–37.
64. Baldwin DS, Sirota JH, Villarreal H. Diurnal variations of renal function in congestive heart failure. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N*. Juli 1950;74(3):578–81.
65. McCance RA, Widdowson EM. Functional disorganization of the kidney in disease. *J Physiol*. 14. Februar 1939;95(1):36–44.
66. Chesley LC. RENAL EXCRETION AT LOW URINE VOLUMES AND THE MECHANISM OF OLIGURIA. *J Clin Invest*. September 1938;17(5):591–7.
67. Hankins DA, Babb AL, Uvelli DA, Scribner BH. Creatinine degradation I: the kinetics of creatinine removal in patients with chronic kidney disease. *Int J Artif Organs*. Januar 1981;4(1):35–9.
68. Smith HW, Goldring W, Chasis H. THE MEASUREMENT OF THE TUBULAR EXCRETORY MASS, EFFECTIVE BLOOD FLOW AND FILTRATION RATE IN THE NORMAL HUMAN KIDNEY. *J Clin Invest*. Mai 1938;17(3):263–78.
69. Peralta CA, Katz R, Sarnak MJ, Ix J, Fried LF, De Boer I, Palmas W, Siscovick D, Levey AS, Shlipak MG. Cystatin C identifies chronic kidney disease patients at higher risk for complications. *J Am Soc Nephrol JASN*. Januar 2011;22(1):147–55.
70. Grubb A, Simonsen O, Sturfelt G, Truedsson L, Thysell H. Serum concentration of cystatin C, factor D and beta 2-microglobulin as a measure of glomerular filtration rate. *Acta Med Scand*. 1985;218(5):499–503.
71. Liu X, Foster MC, Tighiouart H, Anderson AH, Beck GJ, Contreras G, Coresh

J, Eckfeldt JH, Feldman HI, Greene T, Hamm LL, He J, Horwitz E, Lewis J, Ricardo AC, Shou H, Townsend RR, Weir MR, Inker LA, Levey AS, CRIC (Chronic Renal Insufficiency Cohort) Study Investigators. Non-GFR Determinants of Low-Molecular-Weight Serum Protein Filtration Markers in CKD. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Dezember 2016;68(6):892–900.

72. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C measured by automated immunoassay: a more sensitive marker of changes in GFR than serum creatinine. *Kidney Int*. Januar 1995;47(1):312–8.

73. Abrahamson M, Olafsson I, Palsdottir A, Ulvsbäck M, Lundwall A, Jensson O, Grubb A. Structure and expression of the human cystatin C gene. *Biochem J*. 1. Juni 1990;268(2):287–94.

74. Jacobsson B, Lignelid H, Bergerheim US. Transthyretin and cystatin C are catabolized in proximal tubular epithelial cells and the proteins are not useful as markers for renal cell carcinomas. *Histopathology*. Juni 1995;26(6):559–64.

75. Levey AS, Inker LA. Assessment of Glomerular Filtration Rate in Health and Disease: A State of the Art Review. *Clin Pharmacol Ther*. September 2017;102(3):405–19.

76. Dharnidharka VR, Kwon C, Stevens G. Serum cystatin C is superior to serum creatinine as a marker of kidney function: a meta-analysis. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. August 2002;40(2):221–6.

77. Price CP, Finney H. Developments in the assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. Juli 2000;297(1–2):55–66.

78. Kyhse-Andersen J, Schmidt C, Nordin G, Andersson B, Nilsson-Ehle P, Lindström V, Grubb A. Serum cystatin C, determined by a rapid, automated particle-enhanced turbidimetric method, is a better marker than serum creatinine for glomerular filtration rate. *Clin Chem*. Oktober 1994;40(10):1921–6.

79. Newman DJ, Thakkar H, Edwards RG, Wilkie M, White T, Grubb AO, Price CP. Serum cystatin C: a replacement for creatinine as a biochemical marker of GFR. *Kidney Int Suppl*. November 1994;47:S20-21.

80. O’Riordan SE, Webb MC, Stowe HJ, Simpson DE, Kandarpa M, Coakley AJ, Newman DJ, Saunders JA, Lamb EJ. Cystatin C improves the detection of mild renal dysfunction in older patients. *Ann Clin Biochem*. November 2003;40(Pt 6):648–55.

81. Blirup-Jensen S, Grubb A, Lindstrom V, Schmidt C, Althaus H.

Standardization of Cystatin C: development of primary and secondary reference preparations. *Scand J Clin Lab Investig Suppl.* 2008;241:67–70.

82. Grubb A, Blirup-Jensen S, Lindström V, Schmidt C, Althaus H, Zegers I, IFCC Working Group on Standardisation of Cystatin C (WG-SCC). First certified reference material for cystatin C in human serum ERM-DA471/IFCC. *Clin Chem Lab Med.* November 2010;48(11):1619–21.

83. Ebert N, Delanaye P, Shlipak M, Jakob O, Martus P, Bartel J, Gaedeke J, van der Giet M, Schuchardt M, Cavalier E, Schaeffner E. Cystatin C standardization decreases assay variation and improves assessment of glomerular filtration rate. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem.* 1. Mai 2016;456:115–21.

84. Clausen J. Proteins in normal cerebrospinal fluid not found in serum. *Proc Soc Exp Biol Med.* 1961;107:170–2.

85. Watanabe T, Narumiya S, Shimizu T, Hayaishi O. Characterization of the biosynthetic pathway of prostaglandin D₂ in human platelet-rich plasma. *J Biol Chem.* 25. Dezember 1982;257(24):14847–53.

86. Hoffmann A, Conradt HS, Gross G, Nimtz M, Lottspeich F, Wurster U. Purification and chemical characterization of beta-trace protein from human cerebrospinal fluid: its identification as prostaglandin D synthase. *J Neurochem.* August 1993;61(2):451–6.

87. White DM, Mikol DD, Espinosa R, Weimer B, Le Beau MM, Stefansson K. Structure and chromosomal localization of the human gene for a brain form of prostaglandin D₂ synthase. *J Biol Chem.* 15. November 1992;267(32):23202–8.

88. Urade Y, Hayaishi O. Biochemical, structural, genetic, physiological, and pathophysiological features of lipocalin-type prostaglandin D synthase. *Biochim Biophys Acta.* 18. Oktober 2000;1482(1–2):259–71.

89. Hoffmann A, Nimtz M, Conradt HS. Molecular characterization of beta-trace protein in human serum and urine: a potential diagnostic marker for renal diseases. *Glycobiology.* Juni 1997;7(4):499–506.

90. Hochwald GM, Pepe AJ, Thorbecke GJ. Trace proteins in biological fluids. IV. Physicochemical properties and sites of formation of gamma-trace and beta-trace proteins. *Proc Soc Exp Biol Med Soc Exp Biol Med N Y N.* März 1967;124(3):961–6.

91. Priem F, Althaus H, Birnbaum M, Sinha P, Conradt HS, Jung K. Beta-trace protein in serum: a new marker of glomerular filtration rate in the creatinine-blind range. *Clin Chem.* April 1999;45(4):567–8.

92. Melegos DN, Grass L, Pierratos A, Diamandis EP. Highly elevated levels of prostaglandin D synthase in the serum of patients with renal failure. *Urology*. Januar 1999;53(1):32–7.
93. Hirawa N, Uehara Y, Yamakado M, Toya Y, Gomi T, Ikeda T, Eguchi Y, Takagi M, Oda H, Seiki K, Urade Y, Umemura S. Lipocalin-type prostaglandin d synthase in essential hypertension. *Hypertens Dallas Tex* 1979. Februar 2002;39(2 Pt 2):449–54.
94. Hirawa N, Uehara Y, Ikeda T, Gomi T, Hamano K, Totsuka Y, Yamakado M, Takagi M, Eguchi N, Oda H, Seiki K, Nakajima H, Urade Y. Urinary prostaglandin D synthase (beta-trace) excretion increases in the early stage of diabetes mellitus. *Nephron*. April 2001;87(4):321–7.
95. Dajak M, Ignjatović S, Stojimirović B, Gajić S, Majkić-Singh N. Urinary beta-trace protein as a tubular marker of renal dysfunction in patients with chronic kidney disease. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 5. August 2010;411(15–16):1154–5.
96. Filler G, Kusserow C, Lopes L, Kobrzyński M. Beta-trace protein as a marker of GFR--history, indications, and future research. *Clin Biochem*. September 2014;47(13–14):1188–94.
97. Huber AR, Risch L. Recent developments in the evaluation of glomerular filtration rate: is there a place for beta-trace? *Clin Chem*. August 2005;51(8):1329–30.
98. Abbink FCH, Laarman CARC, Braam KI, van Wijk JAE, Kors WA, Bouman AA, Spreeuwenberg MD, Stoffel-Wagner B, Bökenkamp A. Beta-trace protein is not superior to cystatin C for the estimation of GFR in patients receiving corticosteroids. *Clin Biochem*. März 2008;41(4–5):299–305.
99. Pöge U, Gerhardt TM, Stoffel-Wagner B, Palmedo H, Klehr H-U, Sauerbruch T, Woitas RP. beta-Trace protein is an alternative marker for glomerular filtration rate in renal transplantation patients. *Clin Chem*. August 2005;51(8):1531–3.
100. Schaeffner ES, Giet M van der, Gaedeke J, Tölle M, Ebert N, Kuhlmann MK, Martus P. The Berlin initiative study: the methodology of exploring kidney function in the elderly by combining a longitudinal and cross-sectional approach. *Eur J Epidemiol*. 1. März 2010;25(3):203–10.
101. Ebert N, Loesment A, Martus P, Jakob O, Gaedeke J, Kuhlmann M, Bartel J, Schuchardt M, Tölle M, Huang T, van der Giet M, Schaeffner E. Iohexol plasma clearance measurement in older adults with chronic kidney disease-sampling time matters. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*.

August 2015;30(8):1307–14.

102. Bundesamt S. Berlin i-Punkt. Dezember 2005.

103. GmbH DMS. Nephelometrie [Internet]. DocCheck Flexikon. [zitiert 4. April 2018]. Verfügbar unter: <http://flexikon.doccheck.com/de/Nephelometrie>

104. Nephelometrie [Internet]. [zitiert 4. April 2018]. Verfügbar unter:

<https://www.spektrum.de/lexikon/chemie/nephelometrie/6218>

105. Renz H. Praktische Labordiagnostik Lehrbuch zur Laboratoriumsmedizin, Klinischen Chemie und Hamätologie. De Gruyter; 2009. 528 S.

106. Isotopenverdünnungsanalyse [Internet]. [zitiert 4. April 2018]. Verfügbar unter:

<https://www.spektrum.de/lexikon/geowissenschaften/isotopenverduennungsanalyse/7837>

107. Isotopenverdünnungsanalyse [Internet]. [zitiert 4. April 2018]. Verfügbar unter:

<http://www.chemie.de/lexikon/Isotopenverd%C3%BCnnungsanalyse.html>

108. Fleming JS, Zivanovic MA, Blake GM, Burniston M, Cosgriff PS, British Nuclear Medicine Society. Guidelines for the measurement of glomerular filtration rate using plasma sampling. Nucl Med Commun. August 2004;25(8):759–69.

109. Du Bois D, Du Bois EF. A formula to estimate the approximate surface area if height and weight be known. 1916. Nutr Burbank Los Angel Cty Calif. Oktober 1989;5(5):303–11; discussion 312-313.

110. Ebert N, Koep C, Schwarz K, Martus P, Mielke N, Bartel J, Kuhlmann M, Gaedeke J, Toelle M, van der Giet M, Schuchardt M, Schaeffner E. Beta Trace Protein does not outperform Creatinine and Cystatin C in estimating Glomerular Filtration Rate in Older Adults. Sci Rep. 4. Oktober 2017;7(1):12656.

111. Fan L, Levey AS, Gudnason V, Eiriksdottir G, Andresdottir MB, Gudmundsdottir H, Indridason OS, Palsson R, Mitchell G, Inker LA. Comparing GFR Estimating Equations Using Cystatin C and Creatinine in Elderly Individuals. J Am Soc Nephrol JASN. August 2015;26(8):1982–9.

112. Juraschek SP, Coresh J, Inker LA, Levey AS, Köttgen A, Foster MC, Astor BC, Eckfeldt JH, Selvin E. Comparison of serum concentrations of β -trace protein, β 2-microglobulin, cystatin C, and creatinine in the US population. Clin J Am Soc Nephrol CJASN. April 2013;8(4):584–92.

113. White CA, Akbari A, Doucette S, Fergusson D, Ramsay T, Hussain N, Dinh L, Filler G, Lepage N, Knoll GA. Effect of clinical variables and immunosuppression on serum cystatin C and beta-trace protein in kidney transplant recipients. Am J Kidney

Dis Off J Natl Kidney Found. November 2009;54(5):922–30.

114. Ebert N, Jakob O, Gaedeke J, van der Giet M, Kuhlmann MK, Martus P, Mielke N, Schuchardt M, Tölle M, Wenning V, Schaeffner ES. Prevalence of reduced kidney function and albuminuria in older adults: the Berlin Initiative Study. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 1. Juni 2017;32(6):997–1005.

115. Glassock R, Delanaye P, El Nahas M. An Age-Calibrated Classification of Chronic Kidney Disease. *JAMA*. 11. August 2015;314(6):559–60.

116. Glassock RJ, Winearls C. An epidemic of chronic kidney disease: fact or fiction? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. April 2008;23(4):1117–21.

117. Shlipak MG, Praught ML, Sarnak MJ. Update on cystatin C: new insights into the importance of mild kidney dysfunction. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. Mai 2006;15(3):270–5.

118. Filler G, Priem F, Lepage N, Sinha P, Vollmer I, Clark H, Keely E, Matzinger M, Akbari A, Althaus H, Jung K. Beta-trace protein, cystatin C, beta(2)-microglobulin, and creatinine compared for detecting impaired glomerular filtration rates in children. *Clin Chem*. Mai 2002;48(5):729–36.

119. Stevens LA, Stoycheff N. Standardization of serum creatinine and estimated GFR in the Kidney Early Evaluation Program (KEEP). *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. April 2008;51(4 Suppl 2):S77-82.

120. White CA, Akbari A, Eckfeldt JH, Chakraborty D, McCudden C, Flemming JA, Lowe C, Labrecque P, Parent JL, Fergusson D, Gill JS, Knoll GA. β -Trace Protein Assays: A Comparison Between Nephelometric and ELISA Methodologies. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Juni 2017;69(6):866–8.

121. Spanaus K-S, Kollerits B, Ritz E, Hersberger M, Kronenberg F, von Eckardstein A, Mild and Moderate Kidney Disease (MMKD) Study Group. Serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein in diagnostic staging and predicting progression of primary nondiabetic chronic kidney disease. *Clin Chem*. Mai 2010;56(5):740–9.

122. Foster MC, Levey AS, Inker LA, Shafi T, Fan L, Gudnason V, Katz R, Mitchell GF, Okparavero A, Palsson R, Post WS, Shlipak MG. Non-GFR Determinants of Low-Molecular-Weight Serum Protein Filtration Markers in the Elderly: AGES-Kidney and MESA-Kidney. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. September 2017;70(3):406–14.

123. Pottel H, Schaeffner E, Ebert N. Evaluating the diagnostic value of rescaled β -trace protein in combination with serum creatinine and serum cystatin C in older adults. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. Mai 2018;480:206–13.
124. Astor BC, Shafi T, Hoogeveen RC, Matsushita K, Ballantyne CM, Inker LA, Coresh J. Novel markers of kidney function as predictors of ESRD, cardiovascular disease, and mortality in the general population. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Mai 2012;59(5):653–62.
125. Foster MC, Coresh J, Hsu C-Y, Xie D, Levey AS, Nelson RG, Eckfeldt JH, Vasani RS, Kimmel PL, Schelling J, Simonson M, Sondheimer JH, Anderson AH, Akkina S, Feldman HI, Kusek JW, Ojo AO, Inker LA, CKD Biomarker Consortium and the CRIC Study Investigators. Serum β -Trace Protein and β 2-Microglobulin as Predictors of ESRD, Mortality, and Cardiovascular Disease in Adults With CKD in the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) Study. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Juli 2016;68(1):68–76.
126. Inker LA, Coresh J, Sang Y, Hsu C-Y, Foster MC, Eckfeldt JH, Karger AB, Nelson RG, Liu X, Sarnak M, Appel LJ, Grams M, Xie D, Kimmel PL, Feldman H, Ramachandran V, Levey AS, CKD Biomarkers Consortium. Filtration Markers as Predictors of ESRD and Mortality: Individual Participant Data Meta-Analysis. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 6. Januar 2017;12(1):69–78.
127. Rebholz CM, Inker LA, Chen Y, Liang M, Foster MC, Eckfeldt JH, Kimmel PL, Vasani RS, Feldman HI, Sarnak MJ, Hsu C-Y, Levey AS, Coresh J, Chronic Kidney Disease Biomarkers Consortium. Risk of ESRD and Mortality Associated With Change in Filtration Markers. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. Oktober 2017;70(4):551–60.
128. Filler G, Guerrero-Kanan R, Alvarez-Elías AC. Assessment of glomerular filtration rate in the neonate: is creatinine the best tool? *Curr Opin Pediatr*. April 2016;28(2):173–9.
129. Filler G, Alvarez-Elías AC, Westreich KD, Huang S-HS, Lindsay RM. Can the new CKD-EPI BTP-B2M formula be applied in children? *Pediatr Nephrol Berl Ger*. Dezember 2016;31(12):2175–7.
130. Priem F, Althaus H, Jung K, Sinha P. Beta-trace protein is not better than cystatin C as an indicator of reduced glomerular filtration rate. *Clin Chem*. Dezember 2001;47(12):2181.
131. Mohrs A, Flören M, Düsseldorf H-H-U, Zerres M, Kojda DG,

Fortbildungsfragebogen D, Pharmazie F. Akute und chronische Nephrotoxizität von nicht-steroidalen Antirheumatika und Paracetamol. :17.

132. Bosch JP, Saccaggi A, Lauer A, Ronco C, Belledonne M, Glabman S. Renal functional reserve in humans. Effect of protein intake on glomerular filtration rate. *Am J Med.* Dezember 1983;75(6):943–50.

133. Bosch JP, Lauer A, Glabman S. Short-term protein loading in assessment of patients with renal disease. *Am J Med.* November 1984;77(5):873–9.

134. Marx B, Scuvée É, Scuvée-Moreau J, Seutin V, Jouret F. [Mechanisms of caffeine-induced diuresis]. *Med Sci MS.* Mai 2016;32(5):485–90.

135. Shirley DG, Walter SJ, Noormohamed FH. Natriuretic effect of caffeine: assessment of segmental sodium reabsorption in humans. *Clin Sci Lond Engl* 1979. November 2002;103(5):461–6.

136. Loesment-Wendelmuth A, Schaeffner E, Ebert N. Two elderly patients with normal creatinine and elevated cystatin C - a case report. *BMC Nephrol.* 14 2017;18(1):87.

137. Horber FF, Scheidegger J, Frey FJ. Overestimation of renal function in glucocorticosteroid treated patients. *Eur J Clin Pharmacol.* 1985;28(5):537–41.

138. Preiss DJ, Godber IM, Lamb EJ, Dalton RN, Gunn IR. The influence of a cooked-meat meal on estimated glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem.* Januar 2007;44(Pt 1):35–42.

139. Crim MC, Calloway DH, Margen S. Creatine metabolism in men: urinary creatine and creatinine excretions with creatine feeding. *J Nutr.* April 1975;105(4):428–38.

140. Mitch WE, Collier VU, Walser M. Creatinine metabolism in chronic renal failure. *Clin Sci Lond Engl* 1979. April 1980;58(4):327–35.

141. Stevens LA, Schmid CH, Greene T, Li L, Beck GJ, Joffe MM, Froissart M, Kusek JW, Zhang YL, Coresh J, Levey AS. Factors other than glomerular filtration rate affect serum cystatin C levels. *Kidney Int.* März 2009;75(6):652–60.

142. Macdonald J, Marcora S, Jibani M, Roberts G, Kumwenda M, Glover R, Barron J, Lemmey A. GFR estimation using cystatin C is not independent of body composition. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* November 2006;48(5):712–9.

143. Knight EL, Verhave JC, Spiegelman D, Hillege HL, de Zeeuw D, Curhan GC, de Jong PE. Factors influencing serum cystatin C levels other than renal function and the impact on renal function measurement. *Kidney Int.* April 2004;65(4):1416–

21.

144. Mathisen UD, Melsom T, Ingebretsen OC, Jenssen T, Njølstad I, Solbu MD, Toft I, Eriksen BO. Estimated GFR associates with cardiovascular risk factors independently of measured GFR. *J Am Soc Nephrol JASN*. Mai 2011;22(5):927–37.

145. Rule AD, Bailey KR, Lieske JC, Peyser PA, Turner ST. Estimating the glomerular filtration rate from serum creatinine is better than from cystatin C for evaluating risk factors associated with chronic kidney disease. *Kidney Int*. Juni 2013;83(6):1169–76.

146. Schaeffner E. Determining the Glomerular Filtration Rate-An Overview. *J Ren Nutr Off J Counc Ren Nutr Natl Kidney Found*. November 2017;27(6):375–80.

147. Manetti L, Pardini E, Genovesi M, Campomori A, Grasso L, Morselli LL, Lupi I, Pellegrini G, Bartalena L, Bogazzi F, Martino E. Thyroid function differently affects serum cystatin C and creatinine concentrations. *J Endocrinol Invest*. April 2005;28(4):346–9.

148. Levey AS, Inker LA. Assessment of Glomerular Filtration Rate in Health and Disease: A State of the Art Review. *Clin Pharmacol Ther*. September 2017;102(3):405–19.

149. Menon V, Shlipak MG, Wang X, Coresh J, Greene T, Stevens L, Kusek JW, Beck GJ, Collins AJ, Levey AS, Sarnak MJ. Cystatin C as a risk factor for outcomes in chronic kidney disease. *Ann Intern Med*. 3. Juli 2007;147(1):19–27.

150. Christensson A, Ekberg J, Grubb A, Ekberg H, Lindström V, Lilja H. Serum cystatin C is a more sensitive and more accurate marker of glomerular filtration rate than enzymatic measurements of creatinine in renal transplantation. *Nephron Physiol*. 2003;94(2):p19-27.

151. Barceló A, de la Peña M, Barbé F, Pierola J, Bosch M, Agustí AGN. Prostaglandin D synthase (beta trace) levels in sleep apnea patients with and without sleepiness. *Sleep Med*. August 2007;8(5):509–11.

152. Tangri N, Inker LA, Tighiouart H, Sorensen E, Menon V, Beck G, Shlipak M, Coresh J, Levey AS, Sarnak MJ. Filtration markers may have prognostic value independent of glomerular filtration rate. *J Am Soc Nephrol JASN*. Februar 2012;23(2):351–9.

153. Bhavsar NA, Appel LJ, Kusek JW, Contreras G, Bakris G, Coresh J, Astor BC, AASK Study Group. Comparison of measured GFR, serum creatinine, cystatin C, and beta-trace protein to predict ESRD in African Americans with hypertensive

CKD. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* Dezember 2011;58(6):886–93.

154. Foster MC, Inker LA, Hsu C-Y, Eckfeldt JH, Levey AS, Pavkov ME, Myers BD, Bennett PH, Kimmel PL, Vasan RS, Coresh J, Nelson RG, CKD Biomarkers Consortium. Filtration markers as predictors of ESRD and mortality in Southwestern American Indians with type 2 diabetes. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* Juli 2015;66(1):75–83.

155. Foster MC, Inker LA, Levey AS, Selvin E, Eckfeldt J, Juraschek SP, Coresh J, CKD Biomarkers Consortium. Novel filtration markers as predictors of all-cause and cardiovascular mortality in US adults. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* Juli 2013;62(1):42–51.

156. Cheung AK, Rocco MV, Yan G, Leypoldt JK, Levin NW, Greene T, Agodoa L, Bailey J, Beck GJ, Clark W, Levey AS, Ornt DB, Schulman G, Schwab S, Teehan B, Eknoyan G. Serum beta-2 microglobulin levels predict mortality in dialysis patients: results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol JASN.* Februar 2006;17(2):546–55.

157. Liabeuf S, Lenglet A, Desjardins L, Neiryck N, Glorieux G, Lemke H-D, Vanholder R, Diouf M, Choukroun G, Massy ZA, European Uremic Toxin Work Group (EUTox). Plasma beta-2 microglobulin is associated with cardiovascular disease in uremic patients. *Kidney Int.* Dezember 2012;82(12):1297–303.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Camilla Koep, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Beta-Trace Protein als endogener renaler Biomarker zur Bestimmung der Nierenfunktion bei Individuen im Alter von 70 Jahren und älter“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem/der Betreuer/in, angegeben sind. Sämtliche Publikationen, die aus dieser Dissertation hervorgegangen sind und bei denen ich Autor bin, entsprechen den URM (s.o) und werden von mir verantwortet.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum

Unterschrift

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Camilla Koep hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

Publikation 1: Ebert N, Koep C, Schwarz K, Martus P, Mielke N, Bartel J, Kuhlmann M, Gaedeke J, Toelle M, van der Giet M, Schuchardt M, Schaeffner E. Beta Trace Protein does not outperform Creatinine and Cystatin C in estimating Glomerular Filtration Rate in Older Adults. Sci Rep. 4. Oktober 2017;7(1):12656.

Beitrag im Einzelnen:

- Erhebung der Originaldaten und -proben über einen Zeitraum von 3 Jahre
- Blutentnahmen inklusive der Biobank Blutproben
- Datenvalidierung inklusive Endpunktvalidierung
- Kommunikation mit Studienschnittstellen (Datenmanagement, Biobank, Labor Limbach)
- ausführliche Literaturrecherche
- Datenanalyse
- Verfassen und kritische Durchsicht des Manuskriptes

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers/der betreuenden Hochschullehrerin

Unterschrift des Doktoranden/der Doktorandin

Danksagung

An erster Stelle bedanke ich mich bei Frau Prof. Dr. E. Schäffner für die Möglichkeit, über dieses Thema promovieren zu dürfen. Bei der Betreuung vermittelte sie mir nicht nur ihr Wissen, sondern stand mir auch immer zur Seite.

Auch Frau Dr. N. Ebert möchte ich danken. Sie unterstützte mich zu jedem nur erdenklichen Zeitpunkt und war wesentlich an der Analyse und Interpretation der Daten beteiligt.

Ich danke den Mitarbeitern, die an der Probandenrekrutierung teilgenommen. Auch danke ich den Mitarbeitern, die in den Laboren die Proben untersucht haben: Frau Dr. M. Schuchardt im Labor der Charité Benjamin Franklin und Herrn J. Bartel im Labor Limbach, Heidelberg. Herrn Prof. Dr. P. Martus und Frau K. Schwarz danke ich für die Unterstützung in statistischen Fragen.

Auch danke ich meiner Familie und meinen Freunden, die mich mit konstruktiven Vorschlägen begleitet und moralisch unterstützt haben.

Ohne die Probanden und ihre Teilnahme wäre diese Arbeit überhaupt gar nicht zustanden gekommen, sodass ihnen mein größter Dank gilt.