

Aus der Klinik für Nephrologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Erfassung und Bewertung urämischer Retentionssolute  
durch eine interaktive Datenbank

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Omar Abou Deif  
aus Hamburg

Datum der Promotion: 9. September 2016

# Inhaltsverzeichnis

1	Abstrakt.....	1
1.1	Einleitung.....	1
1.2	Methodik.....	1
1.3	Ergebnisse.....	2
1.4	Diskussion.....	3
2	Einleitung.....	4
2.1	Urämische Toxine.....	4
2.1.1	Die chronische Nierenkrankheit.....	4
2.1.2	Urämie.....	6
2.1.3	Urämische Retentionssolute.....	8
2.1.3.1	Definition und Toxizität.....	8
2.1.3.2	Physikochemische Klassifizierung.....	9
2.1.3.3	Bisherige Erfassung der bekannten urämischen Retentionssolute.....	10
2.2	Datenbanken des klinischen Forschungsbereichs.....	11
2.2.1	Definition und Terminologie der Medizininformatik.....	11
2.2.2	Biomedizinische Datenbanken.....	12
2.2.3	Aufbau einer Webapplikation.....	13
2.2.4	Datenbank-Erstellung.....	15
2.2.5	LAMP-Systeme.....	16
2.3	Aufgabenstellung.....	17
2.3.1	Digitale Erfassung und Verfügbarmachung der bekannten Retentionssolute, ihrer Konzentrationen und pathologisch relevanten Bezüge.....	18
2.3.2	Dynamische Auswertung der erfassten und zukünftigen Daten.....	18
2.3.3	Interaktive Eingabe neuer Informationen zu Retentionssoluten.....	18
3	Methodik.....	19
3.1	Datenerfassung.....	19
3.1.1	Erfassung der Retentionssolute.....	19
3.1.2	Erfassung der Konzentrationsangaben.....	20
3.1.3	Erfassung pathologischer Bezüge.....	21
3.1.4	Referenzen.....	22
3.1.5	Anmerkungen.....	23
3.2	Datenauswertung.....	23
3.2.1	Durchschnittsberechnung der Konzentrationsangaben.....	23
3.2.2	Bereichsmittel.....	25
3.2.3	Mittelwert von Standardabweichungen.....	26
3.2.4	Streuungsangaben von Mittelwerten.....	26
3.2.5	Einschätzung der Messgenauigkeit.....	26
3.2.6	Relativer Konzentrationsanstieg.....	27
3.3	Systemimplementation.....	27
3.3.1	Test- und Livesystem.....	27
3.3.2	Entwicklungswerkzeuge.....	27
3.3.3	Anforderungsermittlung und Prozessverbesserung.....	28
3.3.4	Benutzerrollen und Benutzermanagement.....	28
3.3.5	Peer-review-System.....	29
3.3.6	Applikationsarchitektur.....	30
4	Ergebnisse.....	32
4.1	Datenbankmodell.....	32
4.2	Benutzerschnittstelle der Webapplikation.....	36

4.2.1 Sprache, Vorlagengestaltung und Navigation.....	36
4.2.2 Listenansicht.....	36
4.2.3 Detailansicht.....	37
4.2.4 Auswertungsansicht.....	39
4.2.5 Registrierung und Login.....	40
4.2.6 Dateneingabe.....	41
4.3 Quantitative Analyse.....	42
4.3.1 Erfasste Retentionssolute.....	42
4.3.2 Verteilung nach physikochemischer Klassifizierung.....	43
4.3.3 Plasmakonzentrationsmessungen.....	43
4.4 Datenauswertung.....	44
4.4.1 Varianzanalyse.....	44
4.4.2 Relativer Konzentrationsanstieg.....	45
4.4.3 Einschätzung der Messunsicherheit.....	47
4.5 Pathologische Assoziationen.....	47
4.5.1 Verteilung.....	47
4.5.2 Wasserlösliche Retentionssolute.....	48
4.5.2.1 Harnstoff.....	48
4.5.2.2 Guanidine.....	49
4.5.2.3 Polyole.....	49
4.5.2.4 Mono-, Di- und Trimethylamine.....	49
4.5.2.5 Andere.....	49
4.5.3 Middle Molecules.....	50
4.5.3.1 $\beta$ 2-Mikroglobulin.....	50
4.5.3.2 Adrenomedullin.....	50
4.5.3.3 Adiponektin.....	50
4.5.3.4 Leptin.....	50
4.5.3.5 Hyaluronsäure.....	50
4.5.3.6 Atriales natriuretisches Peptid.....	51
4.5.3.7 Endothelin.....	51
4.5.3.8 Andere.....	51
4.5.4 Proteingebundene Retentionssolute.....	51
4.5.4.1 P-Cresylsulfat.....	51
4.5.4.2 Phenyllessigsäure.....	52
4.5.4.3 Retinol-bindendes Protein.....	52
4.5.4.4 Indoxylsulfat.....	52
4.5.4.5 Homocysteine.....	52
5 Diskussion.....	53
5.1 Zusammenfassung.....	53
5.2 Definition und Ausschluss von Retentionssoluten.....	54
5.3 Vergleichbarkeit von Plasmakonzentrationsmessungen.....	56
5.4 Anzahl der erfassten Retentionssolute.....	58
5.5 Pathologische Bezüge.....	59
5.6 Vorteile einer digitalen Erfassung und ihrer gemeinsamen Nutzung.....	60
5.7 Referenzierung externer Datenbanken.....	62
6 Literaturverzeichnis.....	64
7 Eidesstattliche Versicherung.....	75
8 Lebenslauf.....	76
9 Danksagung.....	77

# 1 Abstrakt

## 1.1 Einleitung

Urämische Retentionssolute sind Stoffwechselabbauprodukte, die im Endstadium der chronischen Nierenerkrankung aufgrund einer insuffizienten renalen Elimination erhöht im Körper auftreten und eine Vielzahl schwere Symptome verursachen. Obgleich ihre Entfernung durch Nierenersatztherapie eine Besserung der Symptome zur Folge hat, ist ihre genaue pathophysiologische Bedeutung in weiten Teilen unklar, aber von großer Bedeutung für die Entwicklung neuer Präventions- und Therapiestrategien. Mit der Erstellung einer Datenbank für urämische Retentionssolute wurde der Ansatz verfolgt, eine systematische digitale Erfassung und Einordnung von urämischen Retentionssoluten, deren Plasmakonzentration unter urämischen Bedingungen und ihrer bisher bekannten pathologischen Implikationen durchzuführen.

Uremic retention solutes are metabolic breakdown products whose plasmatic concentration increases and are retained during the end stages of chronic kidney disease. They are the cause of a multitude of severe symptoms. While the elimination through renal replacement therapy improves these symptoms, the precise pathophysiological role of the increased compounds remains to a great extent obscure. The creation of a database for uremic solutes serves to systematically capture and assess the solutes themselves, their uremic plasmatic concentrations and their known pathologic implications.

## 1.2 Methodik

Es wurde eine Datenbank und Webapplikation mit Hilfe zeitgemäßer informations-technologischer Werkzeuge konzipiert und modelliert, welche die Ergebnisse einer umfassenden Literaturlauswertung zu als unter Urämie erhöhten Verbindungen, ihrer durchschnittlichen normalgesunden und urämischen Plasmakonzentrationen und der mit ihnen assoziierten pathophysiologischen Verknüpfungen speichern und anzeigen konnte. Für die Webapplikation wurden Statistik- und Berechnungsmethoden zur analytischen Bewertung der erfassten Daten formuliert. Es wurde ein System konzipiert, um neue Daten durch Dritte über Webformulare vorschlagen und von fachvertrauten Gutachtern annehmen oder ablehnen zu können.

A database and web application were modeled and created to store and display the results of an extensive evaluation of relevant literature. This included studies of compounds with increased

plasmatic levels during uremia, their healthy versus uremic concentrations as well as their pathophysiologic associations. Statistical and computational methods were devised for an analytical assessment of the recorded data. A system was designed for the submission of new data from third parties through web forms, followed up by a review of an expert.

### 1.3 Ergebnisse

Insgesamt wurden 130 urämische Retentionssolute und 32843 Plasmakonzentrationsmessungen aus 442 einzelnen Studien in die Datenbank aufgenommen. Die Webapplikation stellt die erhobenen Daten in einer Übersichtsliste der Retentionssolute, einer Detailseite für jede Verbindung und auf einer Auswertungsseite zur Verfügung, wobei die dargestellten Ergebnisse dynamisch berechnet und damit mit jeder zukünftigen Dateneingabe angepasst werden. Plasmakonzentrationen verschiedener Studien wurden varianzanalytisch auf Gleichheit geprüft, nur für eine Minderheit liess sich keine statistisch signifikante Differenz zwischen den Messungen nachweisen ( $p \geq 0,05$ ). Eine 2007 beschriebene Methode zur Einschätzung der Messunsicherheit zeigte für normalgesunde Konzentrationsangaben überwiegend keine bedeutsame Messunsicherheit, während die urämischen in dieser Hinsicht gleichverteilt waren. 6 Verbindungen erfüllten nach Ermittlung ihrer durchschnittlichen normalgesunden und urämischen Konzentrationen nicht mehr die Definition eines urämischen Retentionssoluts. Bei insgesamt 55 pathophysiologischen Assoziationen überwogen kardiovaskuläre Verknüpfungen mit etwa 43%, gefolgt von nephrologischen mit etwa 14%.

In total, 130 uremic retention solutes and 32843 plasmatic concentrations from 442 single studies were included in the database. The application provides an overview of all stored retention solutes, a webpage showing all recorded details of a specific compound as well as an evaluation page displaying the dynamically calculated results of the statistical and computational methods applied. Plasmatic concentrations reported from different studies were tested for equality by analysis of variance. A minority showed no statistically significant differences between studies ( $p \geq 0.05$ ). A in 2007 described method for testing consistency of reported concentration from different studies showed the majority of healthy concentration being rather consistent, while uremic concentration were distributed at least approximately equal between rather consistent and inconsistent results. 6 compounds did not match the criteria of an uremic retention solute. From in total 55 pathological associations, approximately 43% where cardiovascular related, followed by approximately 14% with nephrological implications.

## 1.4 Diskussion

Die Definition, Konzentrationsbestimmung und pathophysiologische Bedeutung urämischer Retentionsolute unterliegt einem ständigen Wandel. Gemessene Plasmakonzentrationen sind unter dem Gesichtspunkt einer Vielzahl möglicher Beeinflussungsfaktoren zu betrachten. Nur für eine Minderheit der erfassten Verbindungen ist eine pathologische Bedeutung identifiziert. Das Datenbank- und Webapplikationssystem soll durch seine dynamische Natur, der Möglichkeit der Teilnahme durch Dritte und der zukünftigen Einbindung anderer Datenquellen zu einem wissenschaftlichen Erkenntnisgewinn beitragen.

The definition, concentrations and pathophysiological implications of uremic retention solutes are subject to constant change. Plasmatic concentrations should be considered as possibly influenced by a multitude of different factors. Only for a minority of the assessed compounds has a pathophysiological relevance been identified. The database and web application system should contribute to a gaining of knowledge in this field through its dynamic nature, by providing the possibility of third party participation and through the inclusion of other data sources.

## 2 Einleitung

### 2.1 Urämische Toxine

#### 2.1.1 Die chronische Nierenkrankheit

Die chronische Nierenkrankheit (englisch: „Chronic kidney disease“, CKD) beschreibt eine über Monate oder Jahre progredient verlaufende Nierenerkrankung, welche unabhängig ihrer Ursache mit einer irreversiblen Einschränkung der glomerulären, tubulären und endokrinen Nierenfunktion einhergeht (1).

Nach den Leitlinien der „Kidney Disease Outcomes Quality Initiative“ (KDOQI) von 2012 (2) wird die chronische Nierenkrankheit als Abnormalität der Nierenstruktur auf einer anatomisch-strukturellen, einer funktionellen sowie einer zeitlichen Komponente definiert (Tabelle 1) (3).

1.	<p>Kennzeichen einer anatomisch-strukturellen Nierenschädigung:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Albuminurie (Exkretionsrate <math>\geq 30</math> mg/24 Stunden, Albumin-Kreatinin-Ratio <math>\geq 30</math> mg/g [<math>\geq 3</math> mg/mmol])</li> <li>• Abnormalitäten im Urinsediment</li> <li>• Elektrolyt- und andere tubuläre Störungen</li> <li>• Histologische Abnormalitäten</li> <li>• Strukturelle Abnormalitäten, durch bildgebende Verfahren entdeckt</li> <li>• Zustand nach Nierentransplantation</li> </ul>
2.	<p>Kennzeichen einer funktionellen Niereneinschränkung:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Eine glomeruläre Filtrationsrate (GFR) unter 60ml/min/1,73 m<sup>2</sup>.</li> </ul>
3.	<p>Zeitliche Komponente:</p> <p>1. oder 2. länger als 3 Monate andauernd.</p>

Tabelle 1: Definition der chronischen Nierenkrankheit nach KDOQI-Leitlinien.

Eine chronische Nierenkrankheit kann sowohl primär durch die Niere betreffende Krankheiten ausgelöst werden, als auch sekundär als Folge von Systemerkrankungen. So ist nach Angaben der Qualitätssicherung-Niere gGmbH (QuaSi Niere) die häufigste Grunderkrankung einer terminalen Niereninsuffizienz bei dialysepflichtigen Patienten die diabetische Nephropathie als Folge eines Diabetes mellitus, zweithäufigste Diagnose ist eine Glomerulonephritis, an dritter Stelle steht die vaskuläre Nephropathie als Folge eines langjährigen arteriellen Hypertonus. 10 Prozent der terminalen Niereninsuffizienz haben eine unbekannte Genese (Tabelle 2) (4).

Diabetes mellitus Typ I + II	28 %
Glomerulonephritis	19 %
Vaskuläre Nephropathie	17 %
Interstitielle Nephritis	12 %
Unbekannte Genese	10 %
Zystennieren	7 %
Andere	7 %

Tabelle 2: Diagnoseverteilung bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz.

Maßgeblich zur Einschätzung des Schweregrades der chronischen Nierenerkrankung ist die Gesamtfilterleistung der Niere durch die glomeruläre Filtrationsrate (GFR). Die GFR bezeichnet das Gesamtvolumen des Primärharns, welches von den Nieren innerhalb einer definierten Zeit gefiltert wird. Sie liegt beim jungen, normalgesunden Menschen bei etwa 100-130ml/min/ 1,73 m<sup>2</sup> und vermindert sich physiologisch mit steigendem Alter und pathologisch bei Nierenerkrankungen. Die KDOQI-Leitlinien teilen die chronische Nierenerkrankung anhand der GFR in 5 Stadien ein (5). Diese Klassifizierung wurde durch die KDIGO-Stiftung (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) 2004 modifiziert (Tabelle 3) (3).

Stadium	GFR (ml/min/ 1,73 m <sup>2</sup> )	Beschreibung
1	über 89	Nierenschaden mit normaler oder erhöhter GFR
2	60-89	Nierenschaden mit leicht erniedrigter GFR
3	30-59	Moderater Nierenschaden
4	15-29	Schwerer Nierenschaden
5	< 15	Nierenversagen

Tabelle 3: Stadieneinteilung der chronischen Niereninsuffizienz, modifiziert nach KDIGO.

Im Stadium 1 und 2 liegt eine messbare Erniedrigung der GFR als Ausdruck einer Nierenschädigung vor, gewöhnlich sind aber noch keine Symptome wahrnehmbar, da die gesunden Restnephronen den Ausfall kompensieren können. Eine über 3 Monate gemessene GFR unter 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> wird als chronische Niereninsuffizienz bezeichnet und zwischen moderat (GFR zwischen 30 und 59 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) und schwer (GFR zwischen 15 und 29 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) unterschieden. Weniger als 60% des Nierengewebes sind zu diesem Zeitpunkt noch funktionsfähig und es kommt zur Retention harnpflichtiger Substanzen. Ab Stadium 5 wird von terminaler Niereninsuffizienz oder auch Nierenversagen gesprochen, eine

Nierenersatztherapie in Form von Dialyse oder einer Nierentransplantation als lebensverlängernde Maßnahme wird unumgänglich. Die Anzahl der Nierenersatztherapiepatienten in Deutschland wurde 2006 auf über 91000 geschätzt (4). Der Verlauf der chronischen Niereninsuffizienz wird im wesentlichen von der zunehmenden Einschränkung der Nierenfunktion durch eine progrediente Abnahme funktionsfähiger Nephrone bestimmt. Die Folge ist eine Hyperfiltration zur Aufrechterhaltung der Nierenrestfunktion durch eine kompensatorische intraglomeruläre Drucksteigerung, welche eine gesteigerte Bildung von Cytokinen und Wachstumsfaktoren bewirkt. Dies löst im Glomerulum eine Hyperplasie und Hypertonie sowie eine erhöhte Permeabilität aus, die eine Proteinurie zur Folge hat. Die Proteinurie bewirkt ihrerseits eine zunehmende Sklerosierung der noch nicht betroffenen Nephrone und führt langfristig zur Schrumpfniere (1).

Mit fortschreitendem Verlauf der Niereninsuffizienz treten die Symptome der Grunderkrankungen in den Hintergrund und das klinische Bild wird vom Ausfall der Nierenfunktion bestimmt: Es kommt zu zunehmenden Einschränkungen der inkretorischen und exkretorischen Nierenfunktion bis zum kompletten Versagen, zu zunehmenden Störungen im Wasser-, Säure-Basen- und Elektrolythaushalt sowie zu toxischen Organschäden durch nicht ausreichend eliminierte harnpflichtige Substanzen (1).

### **2.1.2 Urämie**

Die Definition der Urämie umfasste in der Vergangenheit alle Anzeichen und Symptome der fortgeschrittenen Niereninsuffizienz. Im Zuge des medizinischen Fortschritts konnten jedoch einst der Urämie zugerechneten Krankheitsbildern anderen Ursachen zugewiesen werden, wie die arterielle Hypertension einer Hypervolämie, Tetanien einer Hypokalzämie und Anämien einer herabgesetzten Erythropoetinbildung. Heute beschreibt die Urämie die durch Niereninsuffizienz verursachten Krankheiten, die nicht durch Störungen des Extrazellulärvolumens, inorganischen Ionenkonzentrationsänderungen oder Mangel an renalen Syntheseprodukten erklärt werden können (6). Maßgeblicher Faktor für das Auftreten der Urämie ist die nicht mehr kompensierbare, abnehmende exkretorische Nierenfunktion in Form der glomerulären Filtration als auch tubulären Sekretion, wie sie ab Stadium 3 der Niereninsuffizienz auftritt. Urämische Krankheitssymptome sind im Wesentlichen dem Auftreten organischer Abfallprodukte im Plasma zugeschrieben, die unter nicht-pathologischen Bedingungen entfernt werden würden. Neben dem namensgebenden und historisch als erstes

identifizierten Harnstoff akkumuliert der Organismus unter Urämie viele weitere Stoffwechselabbauprodukte im Plasma, die als „urämische Retentionsolute“ (engl. „uremic retention solutes“) definiert werden (7). Die Gesamtheit dieser Retentionsolute weist eine toxische Wirkung mit erheblichen Auswirkungen auf fast alle Organsysteme auf, welche ihrerseits das Auftreten einer Vielzahl unterschiedlicher Symptome zur Folge haben (Tabelle 4) (6,8).

<b>Manifestation</b>	<b>Symptome</b>
Zentralnervensystem	Tagesmüdigkeit, Schlaflosigkeit, Gedächtnis- und Konzentrationsstörungen, Asthenie, Kopfschmerzen (Cephalgien), Dysorientierung.
Peripheres Nervensystem	Polyneuritis, Restless-Legs-Syndrom, Krämpfe
Gastrointestinal	Anorexie, Übelkeit, Gastroparesie, Parotitis, Stomatitis
Hämatologisch	Anämie, Gerinnungsstörungen
Kardiovaskulär	Bluthochdruck, Arteriosklerose, Koronare Herzkrankheit
Dermatologisch	Juckreiz, Hauttrockenheit, Calciphylaxie
Endokrinologisch	Insulinresistenz, Wachstumsstörungen, Impotenz, Infertilität
Osteoartikulär	Sekundärer Hyperparathyreoidismus, Osteomalazie, $\beta$ -2-Microglobulin Amyloidose
Nutritiv	Malnutrition, Gewichtsverlust, Muskelabbau
Immunologisch	Herabgesetzter Immunstatus, verminderte Impfantwort, Infektanfälligkeit
(Patho-)Biochemisch	Metabolische Azidose, Hyperphosphatämie, Hyperkaliämie

Tabelle 4: Klinische Manifestationen der Urämie.

Dieser Symptomkomplex, der als Folge einer Urämie auftritt, wird zusammenfassend als „urämisches Syndrom“ bezeichnet, während die toxisch wirkenden Retentionsprodukte „urämische Toxine“ genannt werden (8). Die Therapie der Wahl ist die Entfernung von Retentionsolutes durch Verbesserung der Blutfilterung in Form der Nierenersatztherapie, welche die Überlebensrate von betroffenen Patienten erheblich steigern konnte (9). Im klinischen Alltag wird sie von der Dialyse dominiert, da Spendernieren zur Transplantation nur begrenzt zur Verfügung stehen. Ob ein Patient unter Urämie leidet, kann auch anhand der Frage

entschieden werden, ob unter einer Nierenersatztherapie eine Besserung der Symptome zu erwarten ist (6). Nach den „European Best Practice Guidelines for Haemodialysis“ sollte ab Stadium 5 und Vorhandensein von klinischen Urämiesyndromen, einer schwer einstellbaren Hypertonie, persistierender Azidose oder Hyperkaliämie oder einem rasch progredientem Nierenfunktionsverlust mit einer Dialysetherapie begonnen werden (10).

### 2.1.3 Urämische Retentionssolute

#### 2.1.3.1 Definition und Toxizität

Durch das urämische Syndrom steigt die Konzentration einer Vielzahl organischer Verbindungen im Plasma an, doch nicht alle Retentionssolute haben eine toxische Wirkung (11). Vanholder et al schlugen 5 Kriterien für die Definition eines urämischen Toxins vor (Tabelle 5), gaben aber an gleicher Stelle zu bedenken, dass nur wenige Substanzen alle 5 Kriterien erfüllen könnten (12).

1.	Die Substanz ist chemisch identifiziert und eine akkurate quantitative Analyse aus biologischen Flüssigkeiten ist möglich.
2.	Die Körper- und Plasmakonzentrationen sollten in urämischer Umgebung höher sein als in nicht-urämischer.
3.	Hohe Konzentrationen sollten spezifisch urämische Ausfälle oder Symptome hervorrufen, die abnehmen oder verschwinden wenn die Konzentration sinkt.
4.	Die biologische Aktivität sollte in Studien in vivo, ex vivo oder in vitro nachweisbar sein
5.	Die Konzentrationen in 4. sollten den Konzentrationen im urämischen Patienten entsprechen.

Tabelle 5: Kriterien zur Definition eines urämischen Toxins, nach Vanholder et al.

Meyer/Hostetter können sogar kein einziges Retentionssolut erkennen, auf welches sämtliche Kriterien zutreffen (11). Dies liegt in der Schwierigkeit der Zuordnung einzelner Toxine zu einem direkten pathologischen Effekt zugrunde. Ohne Zweifel verursacht die Akkumulation urämischer Solute das urämische Syndrom, doch eine zentrale Fragestellung der Urämietoxinforschung, eine Verbindung oder Verbindungsgruppe einem passenden pathologischen Endpunkt zuzuweisen, ist sowohl aufgrund der großen Anzahl in Frage kommender Verbindungen als auch der Vielfalt und Subtilität der auftretenden Symptome in weiten Teilen unbeantwortet. Da Nierenersatztherapieverfahren Retentionssolute überwiegend unterschiedslos entfernen, ist ihre unbestrittene therapeutische Wirksamkeit nicht der Entfernung

einer bestimmten Verbindung zuzuordnen (6). Viele urämische Effekte sind darüber hinaus schwierig zu quantifizieren, insbesondere typische urämische Symptome wie Fatigue, Anorexie und mentale Defizite (6). Weiterhin wird die Fähigkeit eines einzelnen Solut, eine pathologische Manifestation zu induzieren oder zu verstärken, durch die individuellen Stoffwechselinteraktionen bestimmt. Dazu gehören Synthese, Abbau, renale und nicht-renale Eliminierung der Verbindung, Verteilung intra- und extrazellulär und die Anwesenheit von konstitutiven oder induzierten Inhibitoren und Aktivatoren der toxischen Wirkung (Tabelle 6) (13).

1	Geschwindigkeit der Toxinspiegeländerung
2	Zeitabhängige Schwankungsbreite des Toxinspiegels (Mittelwert und Höchststände)
3	Penetration zum Wirkort
4	Intrinsische Toxizität oder Abhängigkeit von metabolischen Interaktionen zur Erreichung der Toxizität
5	Verteilung im Körper (Proteinbindung, Lipophilie, Hydrophilie)
6	Anwesenheit und Aktivität von natürlichen Inhibitoren oder Aktivatoren
7	Metabolismusrate am Wirkort

Tabelle 6: Beeinflussende Faktoren der Toxizität von Urämiesoluten.

Auch steht eine hohe Plasmakonzentration eines Retentionssolut nicht zwingend in direkter Beziehung zu seiner biologischen Aktivität. So sind die bekannten Solute Harnstoff und Kreatinin, zwei Verbindungen, die unter Urämie mit hohen Konzentrationen im Plasma auftreten, bekannt für ihre geringe biologische Interaktion (14).

Angesichts dieser multifaktoriellen Problematik ist es nicht überraschend, dass trotz Identifikation einer Vielzahl von urämischen Soluten nur wenige Erkenntnisse zu ihrer klinischen Toxizität vorliegen (11).

### 2.1.3.2 Physikochemische Klassifizierung

Aufgrund der geringen Erkenntnisse zu ihrer Toxizität basiert eine Einteilung urämischer Retentionssolute üblicherweise auf ihren strukturellen Eigenschaften, nicht ihrem Einfluss auf eine Erkrankung (11). Diese Eigenschaften können nach ihrer organischen oder anorganischen chemischen Natur, ihrer Verteilung im Körper oder nach Molekulargewicht klassifiziert werden (13), doch hat sich eine Einteilung in die 3 physikochemischen Klassen „wasserlöslich“, „proteingebunden“ und „middle molecule“ weithin durchgesetzt. Diese erfolgt zunächst nach ihrem Molekulargewicht mit einem arbiträren Trennwert von 500 Dalton und zusätzlich ihrer

Neigung, sich an Proteine - meist Albumine - zu binden (Tabelle 7) (15).

1.	Wasserlöslich	Wasserlösliche Verbindungen mit einem Molekulargewicht bis 500 Dalton
2.	Proteingebunden	An Proteine gebundene Verbindungen, Molekulargewicht meist unter 500 Dalton
3.	Middle Molecules	Verbindungen mit einem Molekulargewicht über 500 Dalton

Tabelle 7: Einteilung urämischer Retentionssolute nach physikochemischen Eigenschaften.

Die physikochemischen Eigenschaften beeinflussen die Entfernung durch Dialyse maßgeblich. Wasserlösliche Urämietoxine lassen sich vergleichsweise einfach durch herkömmliche Dialysemembranen mit geringer Porengröße („Low flux“) entfernen. Middle Molecules, meist Peptide, erfordern aufgrund ihrer Größe eine Dialyse mit großporigen Membranen („High flux“) (16). Folgerichtig konnten Sekundäranalysen der 2002 durchgeführten HEMO-Studie (17) einen Einfluß der High-flux-Dialyse und damit der Entfernung von Middle Molecules aus dem urämischen Plasma auf die Verbesserung der kardiovaskulären, cerebrovaskulären und allgemeinen Mortalität aufzeigen (18,19).

Die Diffusion proteingebundener Toxine durch die Dialysemembran ist nur für die freie Fraktion der Verbindungen möglich, der gebundene, hydrophobe Anteil verbleibt im Blutstrom (20).

Daher zeigt der Vergleich von High-Flux- zu Low-Flux-Dialyse keinen signifikanten Unterschied in Plasmakonzentrationsmessungen (21), aber eine Korrelation zwischen Konzentration und verbessertem klinischen Ergebnis wurde nahegelegt (22).

### 2.1.3.3 Bisherige Erfassung der bekannten urämischen Retentionssolute

Im Jahr 2003 veröffentlichte die European Uremic Toxin Work Group (EUTox) eine Auswertung der seinerzeit verfügbaren Literatur zu urämischen Toxinen. Diese erstmals in diesem Umfang durchgeführte Analyse von 857 zwischen 1968 und 2002 veröffentlichten Publikationen identifizierte und klassifizierte 90 Verbindungen als urämische Retentionssolute (23). Für jede Verbindung wurden drei Konzentrationsangaben ermittelt: Eine nicht-pathologische, normale Konzentration („CN“), die höchste urämische Konzentration („CU“) als Mittelwert oder Median, sowie eine maximale („CMax“) Konzentration, die den höchsten jemals gemessenen Wert repräsentierte. Zusätzlich wurde die Proben- oder Patientenzahl, das Molekulargewicht und die jeweilige Quellpublikation angegeben. Als Maß für den relativen Konzentrationsanstieg unter

Urämie wurde der Quotient aus urämischer zu normaler Plasmakonzentration ermittelt (23). 2007 wurde von Meert et al. eine weitere Auswertung veröffentlicht, die weitere Verbindungen als bis dahin unbekannte urämische Retentionssolute identifizierte, sich mit den zum Teil großen Abweichungen der gemessenen Konzentrationen in verschiedenen Studien beschäftigte und eine Methode zur Einschätzung der Messunsicherheit von Plasmakonzentrationsangaben vorstellte. Die Analyse umfasste nur Plasma- oder Serumkonzentrationen urämischer Patienten. Die Einteilung erfolgte in niedrigste gemessene Konzentration (L), den Mittelwert oder Median aller gemessenen Konzentrationen (M) und die jemals gemessene Höchstkonzentration (H). Für jedes Retentionssolut wurde das Verhältnis der höchsten zur niedrigsten urämischen Konzentration (H/L) berechnet und in die Gruppen „A“, „B“ und „C“ eingeteilt. Solute der Gruppe C zeigten das höchste Risiko für Fehlinterpretationen im oberen Messbereich (24).

Eine weitere Auswertung von 2012 identifizierte 56 neue Verbindungen, deren urämische Konzentration über der normalen lag (9).

Eine unbekannte, aber vermutlich große Anzahl von Retentionssoluten sind noch nicht identifiziert, und ihre möglichen posttranskriptionalen Modifikationen durch Oxidation, Glykation und anderer chemischer Prozesse könnten einen zur Grundverbindung unterschiedlichen pathophysiologischen Effekt haben (9). Während frühere Versuchsmodelle sich an einer zellulären Dysfunktion orientieren und gezielt auf eine spezifische Verbindungen zugeschnitten sind, erlauben rezente Verfahren der Proteomik und Metabolomik einen ungezielten quantitativ-analytischen Ansatz, der eine massenhafte Profilierung organischer Verbindungen ermöglicht (25,26). Eine mit Kapillarelektrophorese, Massenspektrometrie und proteomische Verfahren durchgeführte Studie identifizierte über 1000 zuvor unbekannte unter Urämie erhöhte Verbindungen, eine weitergehende Charakterisierung steht jedoch noch aus (27).

## **2.2 Datenbanken des klinischen Forschungsbereichs**

### **2.2.1 Definition und Terminologie der Medizininformatik**

Der unscharf definierte Begriff Gesundheitsinformationstechnologie (engl. „Health information technology“, rezenter auch „eHealth“) beschreibt die Anwendung von Informationssystemen im Gesundheitswesen. Ein Teilbereich bildet die Medizininformatik (englisch „Medical informatics“, „Biomedical informatics“ oder „Clinical informatics“), die sich mit der bestmöglichen Nutzung von Information unter Zuhilfenahme von Technologie beschäftigt, um die individuelle und öffentliche Gesundheit, das Gesundheitswesen sowie die biomedizinische

Forschung zu verbessern (28). Die internationale Organisation für Standards (ISO) definiert eine Vielzahl von medizininformatischen Standards unter der Klassifikation 35.240.80 als „IT applications in health care technology“ (29). Informatik der klinischen Forschung („Clinical research informatics“) beschreibt die Anwendung der Medizininformatik im klinischen Forschungsbereich (28). Anders als im Deutschen wird das Lehrfach „Informatik“ im englischen „Computer Science“ genannt, während auch im Englischen die Bezeichnung „Medical Informatics“ für eine medizinische Anwendung der Informationstechnologie dominiert (30). Diese Unterscheidung soll die eher mathematisch-theoretische Fokussierung des ersteren Begriffs vom Einsatz der Informationsverarbeitung innerhalb eines primär nicht-technischen Bereichs abgrenzen.

### **2.2.2 Biomedizinische Datenbanken**

Schon in den 1950er Jahren begann eine Nutzung von Computersystemen im medizinischen Anwendungsbereich. Parallel dazu entwickelten sich aus der biologischen Forschung Datenbanken, deren Schwerpunkt auf molekularbiologischen Fragestellungen, insbesondere der Genomik liegt (31). Dazu gehört die Datenerfassung und Auswertung zu DNA-Analysen und Sequenzierung, Genexpression, Proteinstrukturvorhersage und Stoffwechselwegen (32). Da die Abgrenzung zwischen medizinischer und biologischer Datenbank stets unscharf war, wird neuerdings auch zusammengefasst von biomedizinischer Datenbank gesprochen (33). Das Internetverzeichnis [www.meddb.info](http://www.meddb.info) zählt heute etwa 1100 medizinische und molekularbiologische Datenbanken (34). Medizinische Datenbanken können zu vielen Zwecken eingesetzt werden. Collen teilt medizinische Datenbanken in 8 Klassen ein (Tabelle 8) (30). Datenbanken zur klinischen Forschung entwickelten sich aus der Erkenntnis, dass eine Zweitverwertung von Daten aus primären medizinischen Aufzeichnungen von großem Forschungswert für klinische Entscheidungsprozesse und der Verbesserung des Gesundheitswesens sein können. Sie enthalten selektierte Patientendaten über ein oder mehrere medizinische Probleme, die retrospektive epidemiologische Forschung und Studien zur Prognostik und prädiktiven Entscheidungshilfe ermöglichen (30).

Klasse	Nutzungsbeispiel
Primäre medizinische Aufzeichnung	Elektronische Patientenakte
Spezialisierte klinische Datenbanken	Teilerfassung von Patientendaten zur Metaanalyse: Krebsregister, Operationsverfahren, Therapieverfahren, sozialmedizinische Studien
Datenbanken zur klinischen Forschung	Primär: Datenerfassung für klinische Studien Sekundär: Datenauswertung aus primären medizinischen Aufzeichnungen
Biosurveillance (Überwachung biologischer Effekte)	Erfassung von Arzneimittelnebenwirkungen Erfassung von epidemiologischen Daten
Forderungsmanagement	Abrechnung von diagnosebezogenen Fallgruppen (DRG)
Medizinische Wissensdatenbank	Medexpert medical knowledge base ( <a href="http://medexpert.msi.meduniwien.ac.at/start.html">http://medexpert.msi.meduniwien.ac.at/start.html</a> )
Bibliographische Datenbank	Pubmed (National Library of Medicine)
Metadatenbank	Unified medical language system (UMLS), <a href="http://www.nlm.nih.gov/research/umls/">http://www.nlm.nih.gov/research/umls/</a> (National Library of Medicine), Implementationsbeispiel: <a href="http://www.nlm.nih.gov/research/umls/implementation_resources/query_diagrams/er3.html">http://www.nlm.nih.gov/research/umls/implementation_resources/query_diagrams/er3.html</a>

Tabelle 8: Klassifizierung medizinischer Datenbanken nach Collen.

### 2.2.3 Aufbau einer Webapplikation

Die Vernetzung von Computersystemen durch Internettechnologien ermöglicht eine einfache Interaktion von Benutzern mit entfernten Computersystemen. Der Aufruf einer Webseite durch einen Webbrowser stellt eine Anfrage (engl. *Request*) über das Hypertext-Transferprotokoll (HTTP) dar (35) und wird von einem Webserver verarbeitet und gewöhnlich mit der Rückgabe (engl. *Response*) einer Webseite im HTML-Format (36) beantwortet, welche schliesslich vom Webbrowser dargestellt wird (Abbildung 3). Im Gegensatz zu Webseiten, die Inhalte aus zuvor erstellten, statischen Dateien zur Verfügung stellen, generiert eine Webapplikation die Antwortwebseite in Abhängigkeit der bei der Anfrage mitgelieferten Parameter dynamisch (37). Auf der Eingabe-Webseite werden dem Benutzer Steuerelemente zur Verfügung gestellt, mit

denen Parameter bestimmt werden können, welche die Antwort des Webservers beeinflussen werden. Die dynamische Erstellung einer Webseite nach der logischen Verarbeitung der Anfrage ermöglicht eine Interaktion des Serversystems mit dem Benutzer.

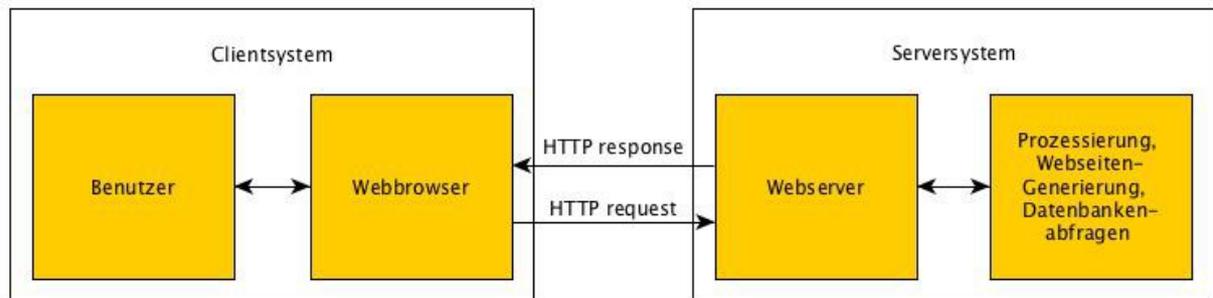


Abbildung 1: Modell einer Webapplikation

Ein Beispiel für eine medizinische Webapplikation ist die Literaturdatenbank der National Library of Medicine, deren öffentlicher Zugang über die Webapplikation Pubmed erfolgt (38). Auf der Eingabe-Webseite von Pubmed werden Suchwörter eingegeben, die an den Webserver von PubMed geschickt werden. Dieser durchsucht seine Datenbank nach passenden Publikationsreferenzen und generiert eine vollständig neue Webseite als Antwort, samt Steuerelementen für eine erneute Suche.

Entwicklung und Administration komplexer Softwaresysteme erfordert einen hohen zeitlichen und finanziellen Aufwand. Eine Reduktion der Komplexität bedeutet auch eine Verringerung dieses Aufwandes (39). Hierzu hat sich eine Zerlegung des Entwicklungsprozesses in die Phasen Planung, Analyse, Entwurf, Implementierung, Validierung und Tests bewährt, sowie die Verwendung einer Softwarearchitektur, welche die zugrundeliegende Organisation des Softwaresystems, seiner Komponenten, deren Beziehung zueinander und ihrer Umgebung beschreibt (39,40).

Eine bewährtes Softwarearchitekturmodell ist die Drei-Schichten-Architektur, durch welche eine Webapplikation in die drei Grundkomponenten Präsentationsschicht, Logikschicht und Datenhaltungsschicht eingeteilt werden kann (Abbildung 4). Teilkomponenten des Systems werden stets nur einer Schicht zugeordnet und jede Schicht kommuniziert nur mit einer unmittelbar benachbarten Schicht über eine vordefinierte Schnittstelle. Dadurch ist es möglich, Änderungen an den Teilkomponenten einer Schicht ohne Änderungen in den benachbarten Schichten durchzuführen (41).

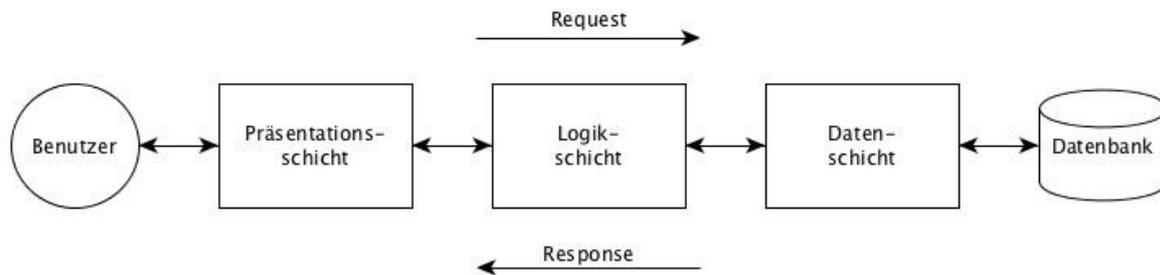


Abbildung 2: Modell der Drei-Schichten-Architektur

Die Präsentationsschicht interagiert als einzige Schicht direkt mit dem Benutzer und ist für die gesamte grafische Darstellung der Applikation verantwortlich. Sie nimmt Benutzereingaben entgegen und leitet diese an die Logikschicht weiter. Aus der Eingabe resultierende Antworten der Logikschicht werden dem Benutzer präsentiert. Die Präsentationsschicht kann eine erste Konsistenzprüfung der eingegebenen Daten vornehmen, beispielsweise eine Prüfung auf nicht ausgefüllte Pflichtfelder eines Formulars, ist aber nicht allein verantwortlich für Datenkonsistenz.

Aufgabe der Datenhaltungsschicht der Drei-Schichten-Architektur ist die effiziente und sichere Speicherung und Bereitstellung der Applikationsdaten. Ein für diese Aufgabe geeignetes Software-Werkzeug ist ein Datenbanksystem. Es wird unterteilt in die Gesamtheit der miteinander in Beziehung stehenden Informationseinheiten, die eigentliche Datenbank oder Datenbasis, und dem Datenbankmanagementsystem (DBMS), einer Software zur Verwaltung von und dem Zugriff auf die Informationen der Datenbasis (42).

Die Logikschicht stellt die eigentlichen Applikationsfunktionen zur Verfügung. Sie verarbeitet sowohl die Eingaben des Benutzers als auch der Datenschicht, prüft auf Konsistenz, und vermittelt Daten an die jeweils benachbarte Schicht zurück.

#### 2.2.4 Datenbank-Erstellung

Die theoretische Grundlage eines Datenbanksystems ist das Datenbankmodell, welches festlegt, auf welchem Wege Daten gespeichert und bearbeitet werden. Ein bekanntes und vielgenutztes Modell ist das relationale Datenbankmodell nach Codd, bei dem Datensätze in Tabellen abgelegt werden (43). Der Prozess der relationalen Datenbankerstellung kann in 3 Phasen unterteilt werden: Anforderungsanalyse, Datenmodellierung und Erstellung des Datenbankschemas. Die Anforderungsanalyse umfasst die vollständige Charakterisierung der Anforderungen der zu erstellenden Anwendung. Hierzu ist eine intensive Interaktion des Erstellers der Datenbank mit den Fachexperten und Nutzern der zukünftigen Datenbank erforderlich (44). Es werden

Benutzerrollen identifiziert, aus deren Sicht eine Beschreibung und Details der genutzten oder generierten Daten erfolgt. Die Analyse dieser Informationen wird genutzt, um die Anforderungen und Eigenschaften der Datenbank zu definieren und zu dokumentieren (45). Das Ergebnis ist die Anforderungsspezifikation, welche die Grundlage der zweiten Phase der Datenbankerstellung bildet (44).

Bei der Datenmodellierung wird die Anforderungsspezifikation in einen konzeptuellen Entwurf transformiert, welcher durch digitale Werkzeuge gewartet, editiert und umgeformt werden kann (46). Ziel ist hierbei, Zusammenhänge der Realwelt auf eine abstrakte Ebene zu modellieren. Hierfür hat sich das Entity-Relationship-Modell bewährt, welches die für das Datenbanksystem relevanten Daten, ihre Beschaffenheit sowie ihre Verbindungen und Beziehungen untereinander darstellen kann und dabei die verwendeten Elemente beschreibt (47). In der Informationstheorie bezeichnet ein Entitätstyp ein eindeutig zu definierendes Informationsobjekt. Innerhalb einer Tabelle einer relationalen Datenbank repräsentieren die Tabellenzeilen die einzelnen, individuellen Entitäten eines Entitätstyps, während die Tabellenspalten die Eigenschaften (auch „Attribute“) des Typs enthalten.

Der letzte Schritt umfasst die Übertragung des Datenmodells auf das Datenbankschema, eine formal definierte Beschreibung der zuvor festgelegten Entitäten und deren Beziehungen. Mit Hilfe der Datenbanksprache SQL lässt sich das zuvor erstellte Datenmodell direkt in die physische Struktur eines relationalen Datenbanksystems übersetzen (48).

### 2.2.5 LAMP-Systeme

Das Akronym LAMP setzt sich aus den Anfangsbuchstaben einer Kombination von Softwarepaketen zusammen (Tabelle 9).

L	Linux, Betriebssystem des Computers (WAMP für Windows, MAMP für Macintosh)
A	Apache, quelloffener Webserver der Apache Software Foundation
M	MySQL, ein Datenbanksystem der MySQL AB
P	PHP, eine Programmiersprache zur Erstellung dynamischer Webseiten

Tabelle 9: Erläuterung des LAMP-Akronyms.

Diese Komponenten ermöglichen die Erstellung einer Webapplikation, die mit einer Datenbank zusammenarbeitet. Das 1995 vorgestellte, quelloffene MySQL ist eines der populärsten Datenbanksysteme der Welt (49). Nahezu alle Webhoster bieten MySQL als Datenbanksystem an, meist als Teil einer LAMP-Plattform (50). MySQL dient sowohl als physikalischer Speicher

aller Daten der Datenbank, als auch dem Datenzugriff in der Datenhaltungsschicht mittels der Datenbanksprache SQL (48). Die Programmiersprache PHP wird eingesetzt, um Nutzereingaben logisch zu verarbeiten, falls nötig, Datenbankabfragen in vordefinierten SQL-Anweisungen durchzuführen und die Ergebnisse mit der Generierung einer dynamischen Webseite darzustellen. Somit wird PHP sowohl in der Logikschicht als auch der Präsentationsschicht eingesetzt (51). Bei einem LAMP-System reagiert der Apache Webserver zunächst mit der Ausführung eines PHP-Skripts in der Datei, die den Namen der angefragten Webseite trägt. Je nach Eingangsparameter werden Lese- oder Schreiboperationen in der Datenbank ausgeführt. Die PHP-Datei entscheidet ausserdem über den Aufbau der Rückgabewebseite, meist indem sie einen Teil aus statischen Elementen einer Vorlage und einen anderen Teil aus dynamischen Elementen, die aus der Logikschicht erzeugt werden, zusammensetzt.

### **2.3 Aufgabenstellung**

Viele Aspekte des urämischen Syndroms sind teilweise oder vollständig unerforscht (23). Urämische Retentionssolute sind weder in ihrer Anzahl noch in ihrer pathophysiologischen Wirkung vollständig erfasst. Für die zukünftige Forschung ist zu erwarten, dass neue Retentionssolute identifiziert und bestehende sowohl in ihrer gesunden und urämischen Konzentration als auch in ihrer Klassifikation als Toxin durch neue Forschungsergebnisse verändert werden. Die Identifikation, Charakterisierung und analytische Bestimmung von Retentionssoluten und ihren pathophysiologischen Effekten ist von großer Bedeutung für die Prävention und Therapie der chronischen Nierenkrankheit in Stadium 5, da sie die Evaluation der vorhandenen Therapieansätze und neue Strategien zur Absenkung der Plasmakonzentrationen urämischer Toxine erlaubt (52). Die große und steigende Anzahl und Vielfältigkeit der urämischen Retentionssolute und ihrer Pathologie schlägt sich auch in Ihrer verteilten Erfassung in der Fachliteratur nieder. Die Beantwortung von Fragen zu Anzahl, pathologischen Auswirkungen und Plasmakonzentrationen urämischer Verbindungen erfordert das Studium vieler Fachpublikationen, die zu unterschiedlichen Zeitpunkten an verschiedener Stelle publiziert wurden und gelegentlich widersprüchliche Ergebnisse anführen.

Computer- und Internettechnologien erlauben neue Wege in der Speicherung, Bereitstellung, Validierung und Auswertung von Informationen. Im Rahmen dieser Arbeit soll ein Datenbanksystem zur zentralen Erfassung und Speicherung sowie eine Webapplikation zur Darstellung wissenschaftlich relevanter Daten zu bekannten urämischen Retentionssoluten

entwickelt werden. Zur Sicherstellung der Datenqualität sollen alle erfassten Daten durch eine Referenz zur Literaturdatenbank Pubmed gestützt sein. Die digitale Speicherung ermöglicht, bei Bedarf Korrekturen an bestehenden Datensätzen vorzunehmen und sofort verfügbar zu machen. Der interessierte Benutzer kann so sicher sein, jederzeit auf den letzten Stand des aktuellen Wissens zuzugreifen. Dabei sollen die folgenden Aufgaben erfüllt werden:

### **2.3.1 Digitale Erfassung und Verfügbarmachung der bekannten Retentionssolute, ihrer Konzentrationen und pathologisch relevanten Bezüge**

Die bereits bekannten Informationen zu Retentionssoluten sollen als Datenbasis erfasst und mittels einer Webseite öffentlich zugänglich gemacht werden. Hierbei soll eine bessere Überschaubarkeit der Vielzahl der urämischen Solute durch eine Zusammenfassung der bisher bekannten Forschungsarbeiten erreicht werden.

### **2.3.2 Dynamische Auswertung der erfassten und zukünftigen Daten**

Sowohl über die Basisdaten als auch neu hinzugefügte Solute und deren Konzentrationen sollen statistische Methoden und Kalkulationen angewendet und als Ergebnis angezeigt werden. Statt wie bisher statisch in der Publikationsliteratur angegeben zu sein, sollen die ermittelten Werte mit jeder Abfrage neu berechnet werden, um zukünftig erfasste Daten automatisch einzuschliessen und damit die Ergebnisse dynamisch anzupassen.

### **2.3.3 Interaktive Eingabe neuer Informationen zu Retentionssoluten**

Zusätzlich soll die Eingabe neuer Forschungsergebnisse für Dritte ermöglicht werden. Für registrierte Benutzer soll die Möglichkeit bestehen, neu gemessene Plasmakonzentrationen und pathologische Bezüge zu erfassten Soluten hinzufügen zu können, welche mittels eines peer-review Systems von anderen registrierten Benutzern begutachtet und freigegeben, aber auch abgelehnt werden können.

## 3 Methodik

### 3.1 Datenerfassung

#### 3.1.1 Erfassung der Retentionssolute

Zur Erfassung der Retentionssolute wurde zunächst ein Datenmodell erstellt, welches die bekannten und zukünftigen Retentionssolute strukturierte. Ausgangspunkt hierzu war die Publikation von Vanholder et al. aus dem Jahr 2003 und die darin enthaltene Auflistung von identifizierten Retentionssoluten und ihrer normalen und urämischen Konzentration (23).

Weitere Verbindungen wurden später durch die Publikationen von Meert et al. und Duranton et al., durch Suche in der bibliographischen Literaturlatenbank Pubmed (Tabelle 15) und auf Vorschlag von Benutzern der Datenbank angelegt (9,24).

Die bei Vanholder definierten Kriterien zur Einteilung als Retentionssolut wurden übernommen und dienten als Grundlage der Erfassung (23): Aufgenommen wurden Plasma- oder Serumkonzentrationen organischer Verbindungen, deren urämische Konzentration über der normalen lag. Anorganische Verbindungen wie Kalium oder Phosphatverbindungen wurden ausgeschlossen. Verbindungen mit einem höherem Molekulargewicht als 60000 Dalton wurden ebenfalls nicht berücksichtigt, da die glomeruläre Basalmembran nur Moleküle bis zu dieser Größe filtern kann. Zu jedem Retentionssolut wurde der volle biochemische Name und falls üblich, die Kurzform der Verbindung sowie das Molekulargewicht erfasst. Ausserdem wurde eine Standardeinheit verzeichnet, um später neu hinzugefügte Konzentrationsangaben in anderen Einheiten auf diesen Standard umrechnen zu können. Da Retentionssolute nur mit Angabe einer urämischen Konzentration aufgenommen wurden, konnte hierzu die Einheit der ersten eingegebenen Konzentrationsangabe verwendet werden. Die Einteilung in die physikochemischen Klassen wasserlöslich, proteingebunden und middle Molecules wurde manuell vorgenommen, da proteingebundene Verbindungen auch mit einem Molekulargewicht unterhalb 500 Dalton vorkommen konnten und sich somit die Kriterien der Einteilung nicht vollständig berechnen liessen. Zu jedem Retentionssolut wurde das Datum der Erstaufnahme, eine Publikationsreferenz sowie eine beliebige Anzahl von Anmerkungen (siehe Abschnitt 3.1.4) gespeichert, die Besonderheiten festhalten sollten.

### 3.1.2 Erfassung der Konzentrationsangaben

Zur Auffindung von Konzentrationsangaben wurden medizinische Artikel in der bibliographischen Referenzdatenbank Pubmed mit verknüpften Suchbegriffen gesucht (Tabelle 15), sowie die Literaturangaben aus den Auflistungen von Vanholder et al., Meert et al. und Durantou et al. ausgewertet.

Das Datenmodell für Konzentrationsangaben orientierte sich an der von Vanholder et al. verwendeten Gegenüberstellung normaler Konzentrationen gesunder Probanden (CN) zu Konzentrationsangaben von urämischen Patienten (CU). Als "urämische Konzentration" wurden prädialytische Plasmakonzentrationsmessungen von Patienten mit chronischer Nierenkrankheit ab Stadium 4 definiert. Alle Konzentrationen wurden zur Einheit Gramm pro Liter (g/L) oder einer Zehnerpotenz mit negativem Exponenten davon normalisiert. Als Mittelwert gespeichert wurde das arithmetische Mittel (engl. "Mean") der untersuchten Population. In Einzelfällen war in der ausgewerteten Literatur nur der Medianwert angegeben, in diesem Fall wurde zur Konzentrationsangabe eine Anmerkung gespeichert. Diese Anmerkung wurde nicht nur genutzt, um Benutzer darauf hinzuweisen, dass ein Medianwert vorlag, sondern auch, um die Applikationslogik in die Lage zu versetzen, Medianwerte hinsichtlich der Berechnung des gewichteten Mittelwerts und der Varianzanalyse gesondert zu behandeln. Zusätzlich zum Mittelwert konnte eine Standardabweichung und eine statistische Spannweite angegeben werden. Gespeichert wurde außerdem die Probenanzahl, aus denen der Durchschnitt ermittelt wurde. Entsprechend der Basisdaten zu Retentionssoluten wurde für jede aufgenommene Konzentrationsangabe eine Referenz zur ursprünglichen Publikation in Pubmed, ein Erfassungsdatum und der eingebende und gutachtende Benutzer festgehalten. Konzentrationsangaben in mol/L wurden in eine Massenkonzentration  $\gamma$  aus dem Produkt aus Stoffmengenkonzentration  $c_i$  und molarer Masse  $M_i$  berechnet:

$$\gamma_i = c_i * M_i$$

Angaben eines Standardfehlers SEM wurden unter Einbeziehung der Probenanzahl  $n$  mit Bessel-Korrektur in eine Standardabweichung  $\sigma$  umgerechnet nach der Formel:

$$\sigma = SEM * \sqrt{(n-1)}$$

Konzentrationsangaben und Standardabweichungen, die auf diese Art ermittelt wurden, wurden in der Datenbank mit einer Anmerkung versehen.

War ein Normalwert nicht ermittelbar, da er unterhalb einer Nachweisgrenze lag, gaben

Vanholder et al. diese Nachweisgrenze als normale Konzentration an. Wurde der Normalwert als statistische Spannweite gefunden, wurde der Höchstwert der Spannweite verwendet.

Normalkonzentrationen, die auf diese beiden Arten ermittelt wurden, wurden in der Datenbank als Höchstwert der statistischen Spannweite gespeichert und mit einer Anmerkung versehen.

### 3.1.3 Erfassung pathologischer Bezüge

Als pathologischer Bezug wurden Eigenschaften eines Retentionsoluts definiert, welche auf eine pathologische Wirkung hinwiesen oder eine klinisch relevante Assoziation aufzeigten. Ein pathologischer Bezug musste nicht direkt mit Urämie oder der chronischen Nierenkrankheit in Verbindung stehen. So wurden auch onkologische Bezüge oder der Nachweis als Marker für andere Pathologien erfasst. Voraussetzung für eine Aufnahme in die Datenbank war ein durch eine in Pubmed auffindbare Veröffentlichung als Referenz, die eine pathologisch relevante Aussage zu einem Retentions溶ut treffen konnte.

Zu jedem erfassten Retentions溶ut wurde eine Suchanfrage in Pubmed durchgeführt. Eine Auswahl der dabei benutzten Suchparameter sind in Tabelle 10 aufgeführt.

Retentionssolute	Urämische Konzentrationen (CU)	Normale Konzentrationen (CN)	Pathologien
<i>Solutbezeichnung [OR Solutabkürzung]</i>			
AND ((chronic AND renal AND failure) OR (chronic AND kidney AND disease) OR (CKD) OR (uremi* OR uraemi*))			
AND (toxi* OR retention* or solute*)	AND (concentration* or plasma* or mean* or SEM* or SD*)		AND (patho* or clini* or effect* or disease* or medic* or toxi*)

Tabelle 10: Suchanfragen an Pubmed für urämische Retentionsolute, Konzentrationsangaben und pathologische Assoziationen. Für *Solutbezeichnung* wurde der volle biochemische Name eingegeben, *Solutabkürzung* steht für eine Kurzform derselben Verbindung, falls üblich.

In Frage kommende gefundene Publikationen wurden auf relevante Aussagen untersucht und bei zutreffender Definition dem jeweiligen Retentions溶ut unter Angabe der Referenz-ID zugeordnet. Jede Assoziation wurde einer Gruppe zugeordnet, welche sich an den klinischen

Manifestationen der Urämie orientierte, um eine annähernde Zusammenfassung in einem klinischen Kontext zu ermöglichen (Tabelle 11).

<b>Pathologiegruppe</b>
Neurologisch und ZNS
Gastrointestinal
Hämatologisch
Kardiovaskulär
Dermatologisch
Endokrinologisch
Osteoartikulär
Nutrition
Immunologisch
Biochemisch
Onkologisch
Andere
Unbekannt

Tabelle 11: Pathologischen Bezügen zugeordnete Gruppen.

### 3.1.4 Referenzen

Um Nutzern der Datenbank eine Überprüfung der angezeigten Daten zu ermöglichen, mussten sämtliche Retentionssolute, Konzentrationsangaben und pathologische Assoziationen mit einem Literaturverweis auf die Pubmed-Datenbank in Form der einmaligen Pubmed-Identifikationsnummer (PMID) angegeben werden. Diese Identifikationsnummer ermöglichte es, weiterführende Angaben eines Literaturverweises wie das Publikationsdatum, den Titel oder die Zusammenfassung von der Pubmed-Datenbank abzufragen und auf der Webseite eine Verknüpfung anzuzeigen. Bei der Implementation zeigte sich diese Abfrage als Geschwindigkeitsnachteil, da jeder Literaturverweis einzeln geladen wurde. Um die dynamische Erstellung der Webseite bei einer Abfrage zu beschleunigen, wurde während der Eingabe zusätzlich zur Identifikationsnummer auch das Publikationsdatum und der Titel der Publikation gespeichert.

### 3.1.5 Anmerkungen

Das Konzept der Anmerkungen sollte eine Möglichkeit zu schaffen, zu einzelnen Retentionssoluten, Konzentrationsangaben und pathologischen Bezügen einen individuellen Hinweis zu hinterlegen. Diese Hinweise wurden entweder manuell während der Erfassung oder programmatisch von der Webapplikation hinzugefügt. Ein Beispiel für einen von der Applikationslogik evaluierbaren Hinweis ist ein als proteingebunden klassifiziertes Retentionssolut, welches ein Molekulargewicht über 500 Dalton aufweist und somit auch die Definition eines middle Molecules erfüllte. Bei der Anzeige einer solchen Verbindung in der Webapplikation wurde automatisch eine entsprechende Anmerkung hinzugefügt. Individuelle Dateneinträge zu Retentionssoluten, Konzentrationsangaben und pathologischen Bezügen konnten eine beliebige Anzahl an Verweisen zur Anmerkungstabelle speichern.

## 3.2 Datenauswertung

### 3.2.1 Durchschnittsberechnung der Konzentrationsangaben

Die in der Datenbank erfassten Konzentrationsangaben stellten Einzelstudien mit Plasmakonzentrationsmessungen von Retentionssoluten dar. Zur Ermittlung eines Gesamtdurchschnitts der urämischen oder gesunden Plasmakonzentration stand der arithmetische Mittelwert oder Median einer Patientenpopulation, die Anzahl der Patienten und optional eine Standardabweichung oder Spannweite zur Verfügung. Weitere Angaben wie Einzelmessungen, demographische Merkmale oder Gesundheitsstatus der Probanden waren nur unvollständig angegeben und retrospektiv nicht mehr vollständig ermittelbar (Tabelle 12).

<b>Merkmal</b>
Detailstadium der chronischen Nierenkrankheit
Dialysestatus
Patientengeschlecht
Altersverteilung
Vorerkrankungen
Genetische Dispositionen
Lokalisation des Patienten oder der Studienpopulation
Verwendete Messmethode

Verwendete Geräte und Hilfsmittel
-----------------------------------

Tabelle 12: Auswahl von nicht ermittelbaren Merkmalen zu Konzentrationsangaben.

Arithmetischen Mittelwerte von Plasmakonzentrationsmessungen eines Retentionsoluts, die eine Standardabweichung und eine Stichprobengröße angaben, wurden innerhalb ihrer normalgesunden oder urämischen Einteilung mittels Varianzanalyse auf Gleichheit geprüft (engl. "Analysis of variance", abgekürzt ANOVA). Die Nullhypothese lautete:

$$H_0: \mu_1 = \mu_2 = \mu_i$$

$$H_1: \exists_{i,j}: \mu_i \neq \mu_j$$

Das Signifikanzniveau wurde auf  $\alpha = 0,05$  festgelegt. Zur Durchführung des ANOVA-Tests wurde zunächst der Gesamtmittelwert  $\bar{c}$  (engl. "Grand mean") nach Stichprobengröße  $s$  gewichtet. Dazu wurde das Produkt aus Durchschnitt  $c$  und Stichprobengröße  $s$  für jede Studie summiert und durch die Gesamtstichprobenanzahl  $n$  dividiert (53):

$$\bar{c} = \frac{\sum_{i=1}^n c_{(i)} * s_{(i)} + c_{(i+1)} * s_{(i+1)} + \dots + c_{(n)} * s_{(n)}}{n}$$

Die zu untersuchenden Studien mit der Anzahl  $m$  wurden in jeweils eine Gruppe eingeteilt. Für jede Gruppe wurde die gewichtete Quadratsumme über die Differenz zwischen Gesamtmittelwert  $\bar{c}$  und dem Durchschnitt  $c$  dieser Gruppe gebildet und mit der Stichprobenanzahl multipliziert. Aus der Summe dieser Gruppenergebnisse wurde die Variabilität QSA zwischen den Gruppen berechnet.

$$QSA = \sum_{i=1, \dots, m} (\bar{c} - c_{(i)})^2 * s_i$$

Der Freiheitsgrad für QSA ergab sich aus der um 1 verminderten Gruppenanzahl:

$$df_T = m - 1$$

Die Fehlervariabilität QSE ließ sich aus der für eine erwartungstreue Schätzung um 1 verminderten Stichprobenanzahl multipliziert mit dem Quadrat der Standardabweichung  $\sigma$  berechnen.

$$QSE = \sum_{i=1, \dots, m} (s_i - 1) * \sigma_i^2$$

Der Freiheitsgrad für QSE ergab sich aus der Differenz zwischen der Summe aller Stichproben und der Gruppenanzahl.

$$dfE = n - m$$

Die mittlere Quadratsumme wurde aus dem Quotienten der Variabilität zwischen den Gruppen und dem Freiheitsgrad  $dfA$  bestimmt:

$$MST = QSA / dfT$$

Die mittlere Fehlerquadratsumme wurde aus dem Quotienten der Variabilität zwischen den Stichproben und dem Freiheitsgrad  $dfE$  bestimmt:

$$MSE = QSE / dfE$$

Mindestens eine Gruppe musste eine Stichprobenanzahl von 2 aufweisen, um eine Division durch Null zu vermeiden (54), woraus folgt:

$$n > m$$

Aus dem Quotienten der mittleren Quadratsummen und der Fehlerquadratsumme wurde der F-Wert bestimmt:

$$F = \frac{MST}{MSE}$$

Zur Berechnung des p-Werts aus dem F-Wert wurde die Methode nach Lackritz implementiert, welche eine exakte Berechnung des p-Werts anhand des F-Werts und der Freiheitsgrade  $dfE$  und  $dfA$  erlaubt (55,56).

Die korrekte Implementation der Durchschnittsberechnung wurde stichprobenartig durch im Internet verfügbare Kalkulatoren verifiziert (57–60).

### 3.2.2 Bereichsmittel

Bei Abwesenheit eines Mittelwerts oder Medians und gleichzeitigem Vorhandensein einer Streuung  $R$  wurde das Bereichsmittel (engl. „mid-range“)  $M$  angewendet nach der Formel:

$$M = \frac{(R_{min} + R_{max})}{2}$$

Dem Ergebnis wurde eine Anmerkung beigefügt, dass es sich hierbei um das Bereichsmittel statt dem Durchschnitt handelte. Bereichsmittel wurden nicht in die Varianzanalyse eingeschlossen.

### 3.2.3 Mittelwert von Standardabweichungen

Zur Berechnung der durchschnittlichen Standardabweichung  $\emptyset\sigma$  wurde die Varianz der einzelnen Standardabweichungen  $\sigma$  berechnet und mit der Anzahl Einzelmessungen  $s$  summiert. Das Gesamtergebnis wurde zunächst mit der Summe der Einzelmessungen dividiert, aus dem dann die Wurzel gezogen wurde:

$$\emptyset\sigma = \sqrt{\frac{\sum_{i < k < n} \sigma_k = \sigma_{(i)}^2 * s_{(i)} + \sigma_{(i+1)}^2 * s_{(i+1)} + \dots + \sigma_{(n)}^2 * s_{(n)}}{n}}$$

### 3.2.4 Streuungsangaben von Mittelwerten

Zur Angabe einer minimalen Streuung wurde der niedrigste minimale Streuungswert aller Konzentrationsangaben oder der niedrigste Durchschnittswert verwendet. Entsprechend wurde für die maximale Streuung verfahren, hier wurde der maximale Streuungswert gesucht, oder der höchste Durchschnittswert verwendet.

### 3.2.5 Einschätzung der Messgenauigkeit

Orientierend an einer von Meert et al. entwickelten Methode zu einer Einschätzung der Messunsicherheit wurden bei verschiedenen Messungen das Verhältnis der höchsten zur niedrigsten erfassten Konzentrationsangabe betrachtet (24). Hierbei wurde zunächst nach einem maximalen und minimalen Streuungswert gesucht. Das aus der Division von Höchstwert und Niedrigstwert (H/L) berechnete Ergebnis wurde in die Gruppen „A“, „B“ und „C“ eingeteilt. Retentionsolute der Gruppe C zeigten das höchste Risiko für Fehlinterpretationen im Messbereich. Für diese wurde ein weiterer Index der Höchstkonzentration zur Durchschnittskonzentration (H/M) berechnet. Ein Index H/M über 5.5 drückte dabei die höchste Wahrscheinlichkeit einer Messunsicherheit aus und wurde der Gruppe D zugeordnet (Tabelle 13).

Gruppe	Kriterium	Einschätzung
A	H / L ≤ 3.0	Minimale Streuung: Hochkonsistente Ergebnisse
B	H / L > 3.0 < 8.5	Mittlere Streuung: Potentielle Messunsicherheit
C	H / L ≥ 8.5	Hohe Streuung: Wahrscheinliche Messunsicherheit
D	H / L ≥ 8.5 und H / M > 5.5	Sehr hohe Streuung: Deutliche Messunsicherheit

Tabelle 13: Kriterien zur Einschätzung der Messunsicherheit von Konzentrationsangaben.

### 3.2.6 Relativer Konzentrationsanstieg

Die Division des urämischen Medianwertes CU zum Medianwert gesunder Kontrollen CN wurde als Index des relativen Konzentrationsanstiegs  $\Delta c$  unter Urämie verwendet:

$$\Delta c = \frac{CU}{CN}$$

Das Resultat stellt das Vielfache der Normalkonzentration unter Urämie dar.

## 3.3 Systemimplementation

### 3.3.1 Test- und Livesystem

Für den Aufbau und Betrieb der Datenbank wurde ein LAMP-System verwendet. Der Apache Webserver, die MySQL-Datenbank und die Programmiersprache PHP stehen auch für Windows- und Macintosh-Betriebssystem als WAMP- und MAMP-Systeme zur Verfügung. Dies erlaubte die Erstellung der Applikation auf einem lokalen Computer („Testsystem“). Als Testsysteme kamen Computer mit Windows- und OS X-Betriebssystemen zum Einsatz.

Zur Fertigstellung und bei Aktualisierungen wurde das Testsystem vollständig oder in Teilen auf ein im Internet erreichbares System per File Transfer Protocol (FTP) übertragen („Deployment“) (61). Auf diesem System sind zwei Instanzen der Applikation hinterlegt: Eine nicht-öffentliche Testinstanz („Stagingsystem“), die als letzter Test unter identischen Bedingungen dient, und die öffentliche Instanz („Produktionssystem“). Für das Staging- und Produktionssystem wurde der Webhoster Hosteurope gewählt, der eine LAMP-Infrastruktur bereitstellt (62). Die Webadresse des Livesystems lautete <http://eutoxdb.odeesoft.com>.

### 3.3.2 Entwicklungswerkzeuge

Bei der Modellierung des Datenbankschemas, der Erstellung von SQL-Abfragen und zur Administration der Datenbank wurde MySQL-Workbench verwendet (63). Als Entwicklungsumgebung für den PHP-Quellcode kam die Software Netbeans zum Einsatz (64). Die Webseiten wurden in HTML und Cascading Style Sheets (CSS) erstellt, zur grafischen Darstellung von Daten innerhalb der Applikations-Webseiten wurde die Javascript-Bibliothek d3 verwendet (36,65,66). Der gesamte Quellcode wurde unter Versionskontrolle gestellt, hierzu wurde die Software Git genutzt (67).

### 3.3.3 Anforderungsermittlung und Prozessverbesserung

Zu Beginn wurden die Anforderungen an das zu erstellende System ermittelt. Durch eine gezielte Analyse der bestehenden Daten zur Konzentration von Urämiesoluten und ihrer Begleitinformationen wurden Daten- und Ablaufstrukturen für die Datenbank und Webapplikation abgeleitet. Als nächster Schritt wurde auf dem Testsystem ein digitaler Prototyp erstellt, der mit einigen Beispieldatensätzen die Funktionsweise der Applikation vor Fachpublikum demonstrierte. Das daraus resultierende Feedback wurde zur weiteren Verbesserung des Systems genutzt. Die Iteration Verbesserung, Demonstration, Anpassung des Datenmodells und der Ablaufstrukturen wurde auch nach Fertigstellung und Inbetriebnahme der ersten Version kontinuierlich wiederholt.

### 3.3.4 Benutzerrollen und Benutzermanagement

Die Anforderungsanalyse identifizierte vier Benutzerrollen (Tabelle 14). Während der Leserrolle ein freier, anonymer Zugang zur Datenbank gewährt wurde, sollten die Rollen Teilnehmer, Reviewer und Administrator sich am System autorisieren, um Änderungen am Datenbestand einer Person zuordnen zu können. Zur Sicherstellung der Datenqualität sollten nur autorisierte Nutzer Forschungsdaten zur Datenbank hinzufügen können. Dies erforderte datenbankseitig die Einrichtung einer Nutzertabelle und von Formularen zur Registrierung neuer Mitglieder und des Logins für bestehende Mitglieder. Den üblichen Sicherheitsstandards folgend, wurden die für den Login erforderlichen Passwörtern mithilfe des MD5-Algorithmus verschlüsselt. Somit kann auch der Administrator des Systems nicht die Passwörter der Mitglieder einsehen (68).

Zum Zeitpunkt der Erstellung wurden ausgewählte Mitglieder der Eutox-Gruppe automatisch als Nutzer hinzugefügt. Die Registrierungs freigabe für neue Mitglieder erfolgte nach einer Prüfung und Freigabe. Ein Nachweis einer Forschungsbeschäftigung mit urämischen Toxinen wurde erwartet, war aber nicht Bedingung.

<b>Benutzerrolle</b>	<b>Beschreibung</b>
Leser	Anonyme Besucher der Webseite, die nur passiv interagieren. Nutzung der Applikation als Referenz.
Teilnehmer	Wissenschaftler, die Forschungen zu einem oder mehreren Urämiesoluten betreiben und ihre Ergebnisse in die Datenbank eingeben. Nutzung der Applikation zur Datenspeicherung und Datenweitergabe.
Reviewer	Gutachter der von Teilnehmern eingegebenen Daten. Gutachter sind immer auch Teilnehmer und können neu eingebene Informationen

	freigeben oder ablehnen.
Administrator	Zuständig für den Gesamtbetrieb der Applikation, kann technische Probleme beheben und Korrekturen durchführen.

Tabelle 14: Benutzerrollen der Applikation.

### 3.3.5 Peer-review-System

Registrierten Teilnehmern der Applikation wurde die Möglichkeit gegeben, neue Daten zu Retentionsdaten einzugeben. Dies konnten klinische Referenzen oder neu gemessene Konzentrationen sein. Alle Eingaben mussten mit der Angabe einer Publikationsreferenz in Form einer Pubmed-ID erfolgen, um dem gutachtenden Teilnehmer eine Prüfung der Validität zu ermöglichen. Zur Validierung der Eingabe neuer Ergebnisse wurde ein System entworfen, welches die Überprüfung neuer Konzentrationsangaben an vordefinierte, registrierte Mitglieder des Systems weiterleitete (Abbildung 3).

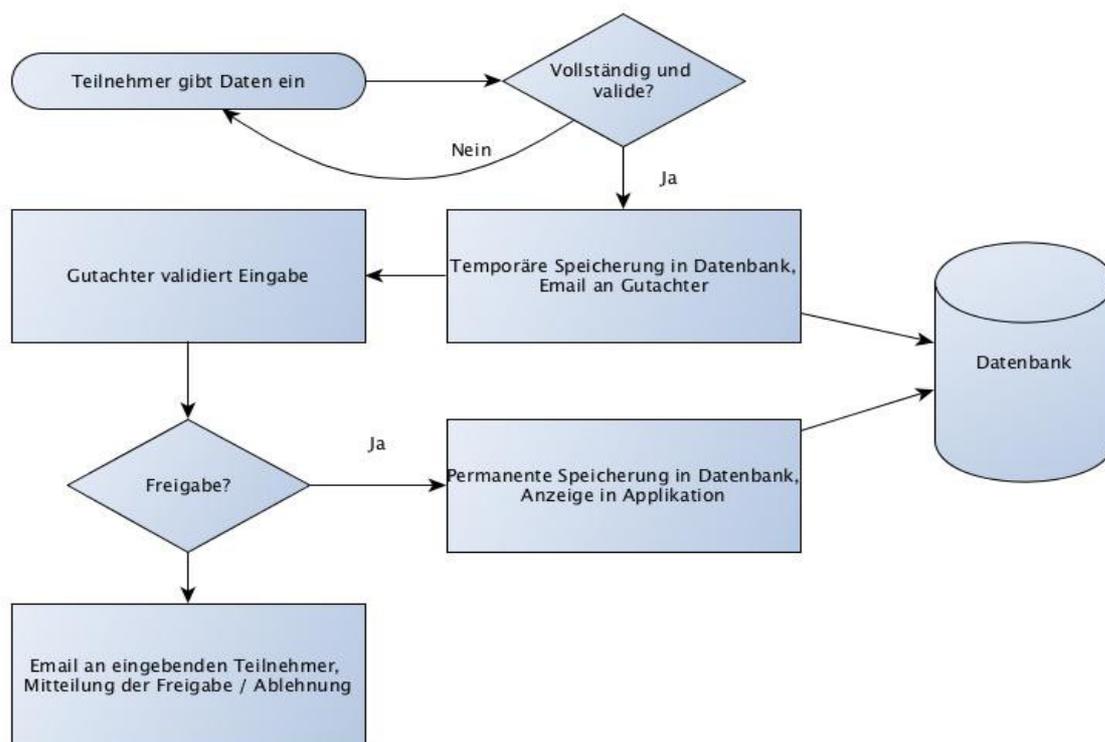


Abbildung 3: Flußdiagramm des Peer-review-Systems.

Nach Eingabe seitens der Teilnehmerrolle wurde ein als Gutachter registrierter Benutzer per Email über den Dateneingang benachrichtigt. Diese Rolle übernahm der Chairman der EUTox-Arbeitsgruppe, Prof. Dr. Angel Argiles, konnte aber prinzipiell jedem registriertem Teilnehmer zugewiesen werden. Ein in der Email enthaltener Link führte auf eine Webseite, welche die neu

eingeeben Daten präsentierte und einen Verweis auf die angegebene Pubmed-Referenz bereitstellte. Nach Studium der Dateneingabe hatte der Gutachter zwei Antwortmöglichkeiten zur Beurteilung der Eingabe: Ablehnend oder akzeptierend. In beiden Fällen war es möglich, mittels einer Texteingabe eine Begründung zur Beurteilung abzugeben. Nach erfolgtem Review erhielt der eingebende Teilnehmer seinerseits eine Email mit dem positiven oder negativen Begutachtung und der Begründung des Begutachters. Akzeptierte Eingaben wurden dauerhaft in der Datenbank gespeichert, samt Referenz auf den Eingebenden als auch den Reviewer.

### 3.3.6 Applikationsarchitektur

Entsprechend des Drei-Schichten-Architekturmodells wurde die Applikation in drei grundlegende Bestandteile aufgeteilt: Die Präsentationsschicht wurde durch einzelne PHP-Dateien für jede dem Nutzer zur Verfügung gestellte Webseite erstellt. Die vergebenen Dateinamen sollten dabei den Zweck der Datei wiedergeben: „solutelist.php“ zeigt die Liste der verzeichneten Solute, „solutedetails.php“ alle verfügbaren Informationen zu einem bestimmten Solut, „submitdata.php“ zeigt ein Formular zur Übermittlung neuer Daten zu einem Retentionssolut. Wo möglich, wurden Eingabeparameter in der URL der aufgerufenen Seite mit der HTTP-Methode „GET“ kodiert, um die Erstellung von Browser-Lesezeichen zu einem Solut zu ermöglichen (35).

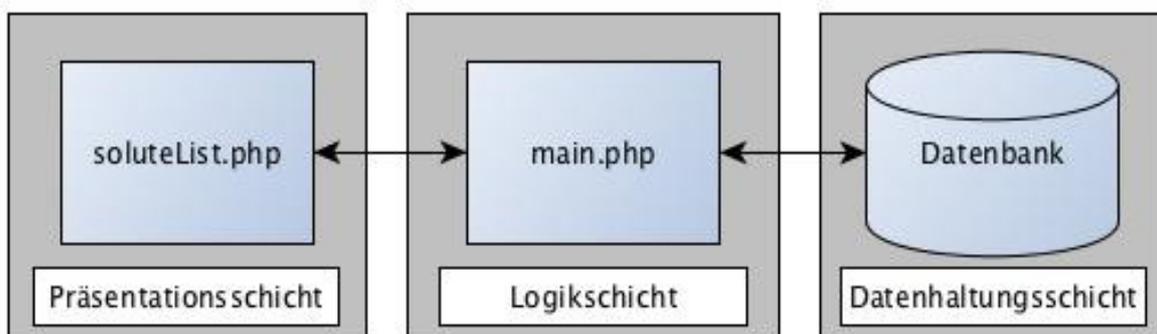


Abbildung 4: Schichtenarchitektur der Applikation am Beispiel der Auflistung gespeicherter Retentionssolute.

Bei Aufruf der PHP-Datei durch einen Webbrowser wurden zunächst die statischen Bestandteile der Webseite aus einer Vorlage geladen, während die dynamischen Anteile durch Aufruf spezifischer Funktionen in der Logikschicht erzeugt wurden, bevor die neu generierte Seite dem Benutzer präsentiert wurden. Die Logikschicht wurde in der php-Datei „main.php“ realisiert, die sämtliche Formularanfragen verarbeitet. Hierbei wurde, falls nötig, zunächst auf Datenkonsistenz geprüft, beispielsweise ob alle benötigten Felder eines Formulars ausgefüllt

wurden. Im Falle einer Dateninkonsistenz wurde die anfragende PHP-Datei aus der Präsentationsschicht erneut aufgerufen und mit einer Fehlermeldung versehen, die dem Nutzer mitteilte, welche Eingabe ergänzt werden sollte. Bei erfolgreicher Konsistenzprüfung wurde die eigentliche Datenbankabfrage in SQL durchgeführt und die Ergebnisse zurück an „main.php“ geliefert, welche die Ergebnisse verarbeitete und dann zur Präsentationsschicht weitergab.

## 4 Ergebnisse

### 4.1 Datenbankmodell

Das aus der Anforderungsanalyse resultierende Datenmodell ist in Abbildung 7 aufgeführt. Alle Tabellennamen wurden in Englisch vergeben und entsprechend der üblichen Konvention im singular gehalten (46).

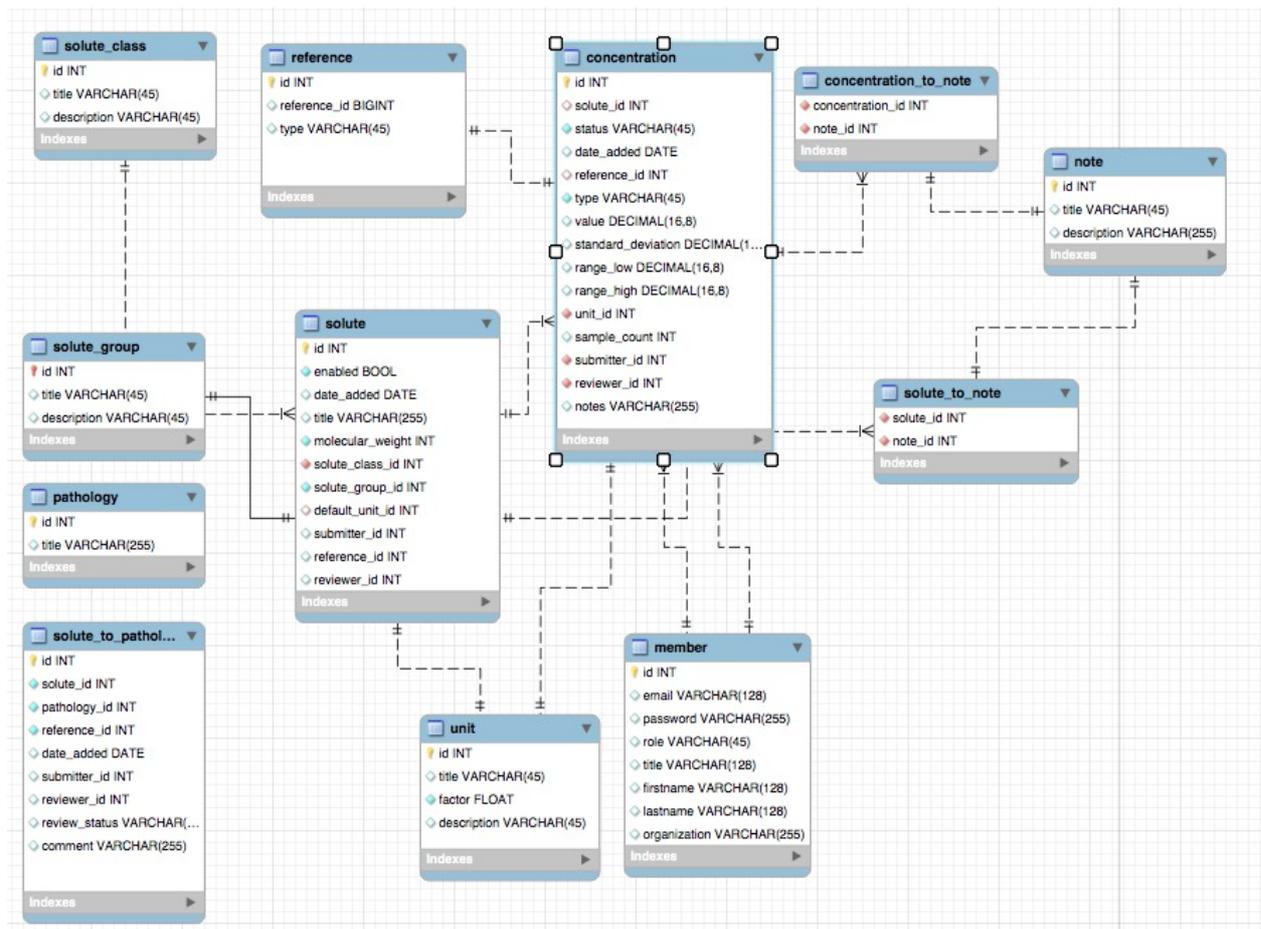


Abbildung 5: Entity-Relationship-Diagramm der Datenbank.

Zentrale Entität des Datenmodells ist das Retentionssolut, welches in der Datenbanktabelle „solute“ nach den Vorgaben in Kapitel 3.1.1 abgebildet ist. Eine Übersicht der Tabellenattribute ist in Tabelle 15 zusammengefasst. Das Datenmodell erlaubte die Zuordnung beliebig vieler pathologischer Referenzen, Konzentrationsangaben und Anmerkungen zu einem Retentionssolut, außerdem die Angabe der eingebenden und gutachtenden Benutzer, des Eingabedatums und einer Referenz auf die zugeordnete Publikation.

Attribut	Datentyp	Beschreibung
id	INT	Primärer Schlüssel
title	VARCHAR	Bezeichnung des Retentionssoluts
enabled	INT	Boolesche Variable, die festlegt, ob das Retentionssolut angezeigt wird
date_added	DATE	Datum der Erfassung
molecular_weight	INT	Molekulargewicht in Dalton
solute_class_id	INT	Physikochemische Klassifizierung, Verweis auf die Tabelle „solute_class“
default_unit_id	INT	Verwendete Einheit dieses Retentionssoluts, verweist auf die Tabelle „unit“
submitter_id	INT	Schlüssel des eingebenden Benutzers, verweist auf die Tabelle „member“
reviewer_id	INT	Schlüssel des gutachtenden Benutzers, verweist auf die Tabelle „member“
reference_id	INT	Schlüssel der Publikationsreferenz, verweist auf die Tabelle „reference“
notes	VARCHAR	Anmerkungen, verweist auf die Tabelle „note“

Tabelle 15: Attribute und Datentypen eines Retentionssoluts in der Tabelle „solute“.

Die Tabelle „solute\_group“ diene zur eindeutigen Zuordnung eines Solutes zu seiner physikochemischen Klassifizierung (Tabelle 16). Das Attribut „id“ bildet den Primärschlüssel. Das Attribut „title“ diene zur applikationsinternen Identifikation des Primärschlüssels. Der Inhalt des Attributs „description“ wurde bei der Darstellung der physikochemischen Klassifizierung verwendet, z.B. in den dynamisch generierten Diagrammen.

Attribut „id“	Attribut „title“	Attribut „description“
1	„unknown“	„Unknown group“
2	„water-soluble“	„Water-soluble“
3	„middle“	„Middle molecule“
4	„proteinbound“	„Protein-bound“

Tabelle 16: Inhalt der Datenbanktabelle „solute\_class“

Die dem jeweiligen Solut zugeordneten Konzentrationsangaben wurden wie in Abschnitt 3.1.2 beschrieben in der Tabelle „concentration“ abgebildet. Eine Übersicht der Attribute ist in Tabelle 17 angeführt.

Attribut	Datentyp	Beschreibung
id	INT	Primärer Schlüssel
solute_id	INT	Schlüssel des Retentionssoluts, verweist auf die Tabelle „solute“
status	VARCHAR	Eingabestatus: Eingegeben („submitted“) oder begutachtet („reviewed“)
date_added	DATE	Datum der Erfassung
reference_id	INT	Schlüssel der Publikationsreferenz, verweist auf die Tabelle „reference“
type	VARCHAR	Konzentrationsstyp: Normalwert („CN“) oder urämisch („CU“)
mean	DECIMAL	Arithmetischer Mittelwert
standard_deviation	DECIMAL	Standardabweichung (optional)
range_low	DECIMAL	Kleinster Messwert der Spannweite
range_high	DECIMAL	Größter Messwert der Spannweite
unit_id	INT	Verwendete Einheit dieser Konzentrationsmessung, verweist auf die Tabelle „unit“
sample_count	INT	Probenanzahl
submitter_id	INT	Schlüssel des eingebenden Benutzers, verweist auf die Tabelle „member“
reviewer_id	INT	Schlüssel des gutachtenden Benutzers, verweist auf die Tabelle „member“
notes	VARCHAR	Anmerkungen, verweist auf die Tabelle „note“

Tabelle 17: Eigenschaften einer Konzentrationsangabe in der Tabelle „concentration“.

Die Tabelle „unit“ diene der eindeutigen Zuordnung und Umrechnung für Maßeinheiten für Konzentrationsangaben (Tabelle 18). Sie wurde auch von der Retentionssolut-Tabelle referenziert, um eine Standardeinheit zu definieren. Das Attribut „id“ bildet den Primärschlüssel. Die Attribute „title“ und „description“ wurden zur dynamischen Anzeige innerhalb der Applikation angelegt, während das Attribut „factor“ der Umrechnung einer bei einer Konzentrationsmessung angegebenen Einheit zu der dem betroffenen Retentionssolute

zugeordneten Standardeinheit dient.

Attribut „id“	Attribut „title“	Attribut „factor“	Attribut „description“
1	„g/L“	1	„gram per liter“
2	„mg/L“	0.001	„milligram per liter“
3	„µg/L“	0.000001	„microgram per liter“
4	„ng/L“	0.000000001	„nanogram per liter“

Tabelle 18: Inhalt der Tabelle „unit“

Die Tabellen „pathology“ sowie „solute\_to\_pathology“ als Mappingtabelle ordnete pathologische Referenzen einem oder mehreren Retentionssoluten und einem Pathologietyp zu (Abbildung 6).

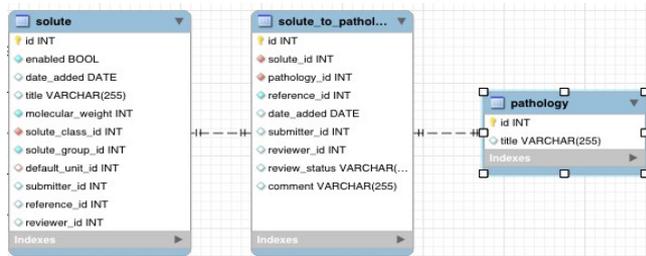


Abbildung 6: Entity-Relationship-Diagramm zur Zuordnung von pathologischen Assoziationen zu Retentionssoluten.

Die Tabellen „reference“ für die Publikationsreferenzen und „note“ zur Speicherung der Anmerkungen wurden sowohl von der Solut- als auch der Konzentrationstabelle referenziert. Da eine zukünftige Referenzierung anderer externer Datenbanken als Pubmed möglich erschien, wurde in der Referenztabelle auch ein Attribut „type“ in die Tabelle aufgenommen. Dies sollte eine Unterscheidung zu anderen Referenztypen ermöglichen, beispielsweise einer Datenbank für chemische Verbindungen (Tabelle 19).

Attribut	Datentyp	Beschreibung
id	INT	Primärer Schlüssel
reference_id	INT	Identifikationsnummer der referenzierten externen Datenbank
type	VARCHAR	Spezifiziert, welche externe Datenbank referenziert wird, derzeit nur „pubmed“
publication_date	DATE	Datum der Publikation
title	VARCHAR	Titel der Publikation

Tabelle 19: Eigenschaften einer Referenzangabe in der Tabelle „reference“.

Anmerkungen wurden in einer eigenen Tabelle „note“ zusammengefasst (Tabelle 20). Das

Attribut „description“ wurde in der Applikation angezeigt.

Attribut	Datentyp	Beschreibung
id	INT	Primärer Schlüssel
title	VARCHAR	Internes Kürzel
description	VARCHAR	Anzuzeigender Text in der Webapplikation

Tabelle 20: Eigenschaften einer Anmerkung in der Tabelle „reference“.

## 4.2 Benutzerschnittstelle der Webapplikation

### 4.2.1 Sprache, Vorlagengestaltung und Navigation

Um auch internationalen Besuchern die Nutzung der Webapplikation zu ermöglichen, wurde Englisch als angezeigte Sprache für alle Webseiten gewählt. Sämtliche Seiten nutzten eine gemeinsame Vorlage, welche die Größe der Seitenbegrenzungen festlegte, den Titel anzeigte und ein Navigationsmenü zur Verfügung stellte (Abbildung 7).

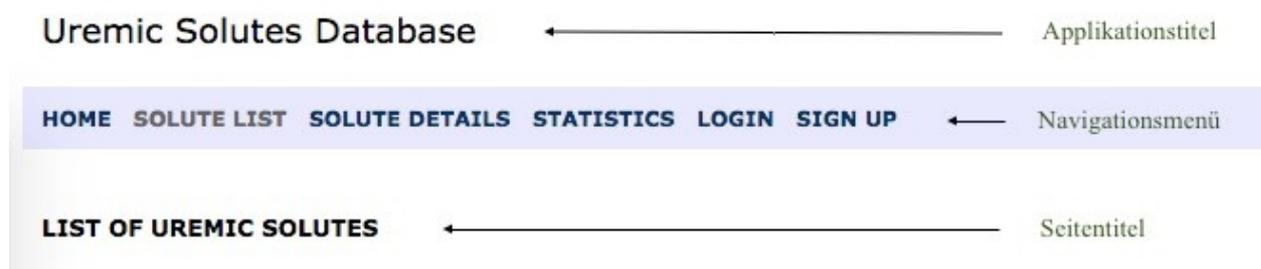


Abbildung 7: Seitenbegrenzung und Navigationsmenü der Webapplikation

Das Navigationsmenü erlaubte den Zugriff auf die einzelnen Bereiche der Webapplikation, die in Listenansicht und Detailansicht der erfassten Retentionsolute, eine Auswertungsansicht sowie eine Startseite, eine Registrierungseite und eine Loginseite aufgeteilt wurden.

Für registrierte Benutzer wurde das Navigationsmenü nach erfolgreichem Login um die Menüpunkte Logout und Eingabe neuer Daten erweitert.

### 4.2.2 Listenansicht

Die Listenansicht zeigte einen zusammengefassten Überblick über die Gesamtheit der erfassten Retentionsolute an. Zur besseren Übersicht wurde für jede Verbindung nur ein Ausschnitt der vorhandenen Daten dargestellt: Angezeigt wurde der Name der Verbindung, die physikochemische Klassifizierung, der gewichtete Durchschnitt der normalen und urämische

Konzentration, der relative Konzentrationsanstieg unter Urämie sowie Art und Anzahl der zugeordneten pathologischen Bezüge. War eine Varianzanalyse durchführbar, wurde die Konzentrationsangabe farblich hinterlegt: Blau gefärbte Angaben zeigten einen p-Wert über, rote unter 0,05. Sämtliche dargestellten Datenpunkte wurden mit einem Verweis auf die Detailansicht hinterlegt (Abbildung 8). Bei der Selektion eines Datenpunkts wurde die Detailansicht des betreffenden Retentionssolutes dargestellt.

Uremic Solutes Database

HOME SOLUTE LIST SOLUTE DETAILS STATISTICS LOGIN SIGN UP

LIST OF UREMIC SOLUTES

NAME	CLASS	NORMAL CONCENTRATION (AVERAGE)	UREMIC CONCENTRATION (AVERAGE)	RELATIVE PATHOLOGICAL INCREASE ASSOCIATIONS
1-Methyladenosine	water-soluble	17.10 (+/-5.10) µg/L, [n=10]	104.00 (+/-56.20) µg/L, [n=17]	6.03 Oncologic [3]
1-Methylguanosine	water-soluble	13.70 (+/-16.90) µg/L, [n=10]	41.60 (+/-23.80) µg/L, [n=17]	3.04
1-Methylinosine	water-soluble	13.50 (+/-3.90) µg/L, [n=10]	620.40 (+/-203.40) µg/L, [n=14]	45.96
2-Heptenal	water-soluble	17.70 (+/-5.33) µg/L, [n=20]	54.66 (+/-33.49) µg/L, [n=17]	3.09
2-Hexenal	water-soluble	22.05 (+/-6.56) µg/L, [n=20]	61.74 (+/-20.48) µg/L, [n=17]	2.80
2-Nonenal	water-soluble	18.48 (+/-5.17) µg/L, [n=20]	101.78 (+/-58.38) µg/L, [n=17]	5.51
2-Octenal	water-soluble	26.08 (+/-16.38) µg/L, [n=20]	32.51 (+/-21.16) µg/L, [n=17]	1.25
3-Carboxy-4-Methyl-5-Propyl-2-Furanpropanoic Acid (CMPF)	protein-bound	4.60 (+/-1.80) (3.61-7.70) mg/L, [n=29], p=0.00, D:A	25.95 (+/-10.23) (3.70-94.00) mg/L, [n=63], p=0.00, D:C	5.64
3-Deoxyglucosone	protein-bound	0.30 (+/-0.10) mg/L, [n=30]	1.70 (+/-1.00) mg/L, [n=27]	5.67
4-Decenal	water-soluble	15.86 (+/-5.25) µg/L, [n=20]	53.90 (+/-26.80) µg/L, [n=20]	3.40
4-HO-Decenal	water-soluble	10.25 (+/-7.12) µg/L, [n=20]	36.55 (+/-22.27) µg/L, [n=17]	3.57
4-HO-Hexenal	water-soluble	25.08 (+/-8.87) µg/L, [n=20]	63.84 (+/-25.31) µg/L, [n=17]	2.55
4-HO-Nonenal	water-soluble	16.38 (+/-8.99) µg/L, [n=20]	117.31 (+/-47.74) µg/L, [n=17]	7.16
4-HO-Octenal	water-soluble	10.65 (+/-3.56) µg/L, [n=20]	27.83 (+/-13.79) µg/L, [n=17]	2.61
4-Pyridone-3-carboxamide-1-β-D-ribofuranoside	water-soluble	3.54 (+/-1.63) µg/L, [n=9]	156.12 (+/-169.18) µg/L, [n=11]	44.10
8-Hydroxy-2'-deoxyguanosine	water-soluble	0.64 (+/-0.23) (0.20-1.26) µg/L, [n=85]	0.82 (+/-0.25) µg/L, [n=47]	1.28
Adiponectin	middle	8.70 (+/-4.80) mg/L, [n=22]	17.71 (+/-6.60) (15.00-22.20) mg/L, [n=378], p=0.05, D:A	2.04 Cardiovascular [2] Endocrinology [1] Oncologic [1]
Adrenomedullin	middle	13.20 (+/-4.60) ng/L, [n=17]	88.77 (+/-17.71) (41.80-225.00) ng/L, [n=39], p=0.00, D:B	6.73 Cardiovascular [2]
Angiogenin	protein-bound	308.00 (104.60-615.10) µg/L, [n=208]	803.00 (+/-74.00) µg/L, [n=12]	2.61
Arabinoside	water-soluble	0.37 (+/-0.12) (0.16-0.63) mg/L, [n=16], D:B	8.75 (+/-5.89) (0.80-15.00) mg/L, [n=28], D:C	23.64
Argininic Acid	water-soluble	16.59 (+/-5.60) (16.59-77.00) µg/L, [n=16], D:B	65.82 (+/-33.36) (40.25-197.80) µg/L, [n=31], D:B	3.97
Asymmetric Dimethylarginine (ADMA)	water-soluble	0.15 (+/-0.08) (0.07-0.28) mg/L, [n=62], p=0.00, D:B	0.38 (+/-0.27) (0.10-7.30) mg/L, [n=220], p=0.00, D:D	2.60 Cardiovascular [2]
Atrial Natriuretic Peptide (ANP)	middle	27.88 (+/-10.09) (27.72-28.00) ng/L, [n=40], p=0.95, D:A	197.18 (+/-123.82) (187.88-202.00) ng/L, [n=41], p=0.80, D:A	7.07 Cardiovascular [1]
Basic fibroblast growth factor (BFGF)	middle	0.21 (+/-0.09) ng/L, [n=23]	1.35 (0.20-21.50) ng/L, [n=32]	6.43
Calcitonin gene-related peptide (CGRP)	middle	185.66 (+/-11.37) ng/L, [n=20]	164.44 (+/-35.95) ng/L, [n=10]	0.89
Cholecystokinin	middle	4.99 (+/-2.23) ng/L, [n=43]	26.06 (+/-22.91) (6.73-131.50) ng/L, [n=77], p=0.00, D:C	5.22 Nutrition [1]
Clara cell protein (CC16)	middle	0.01 (+/-0.01) mg/L, [n=117]	3.03 (+/-1.37) (2.80-12.50) mg/L, [n=26], p=0.50, D:B	218.04
Complement Factor D	middle	1.90 (+/-0.50) mg/L, [n=5]	21.35 (+/-6.03) (11.40-27.70) mg/L, [n=37], p=0.00, D:A	11.23
Creatine	water-soluble	9.70 (+/-3.30) mg/L, [n=24]	134.00 (+/-30.30) (7-235.80) mg/L, [n=25]	13.81
Creatinine	water-soluble	9.68 (+/-0.24) (8.86-12.00) mg/L, [n=851], p=-0.00, D:A	136.00 (+/-46.00) (7-240.00) mg/L, [n=19746]	14.04 Neurologic and CNS [1]
Cystatin C	middle	0.70 (+/-0.12) mg/L, [n=56]	11.13 (+/-4.48) (2.80-41.10) mg/L, [n=220], p=0.00, D:D	15.90
Cytidine	water-soluble	468.00 µg/L, [n=1]	683.30 (+/-287.80) (7-1263.60) µg/L, [n=7]	1.46
Decanal	water-soluble	17.16 (+/-4.95) µg/L, [n=20]	23.40 (+/-8.81) µg/L, [n=17]	1.36
Degradation Inhibiting Protein I	middle	321.70 (+/-59.70) µg/L, [n=23]	713.70 (+/-390.00) (7-1631.40) µg/L, [n=125]	2.22
Delta-sleep Inducing Peptide	middle	0.90 (+/-0.29) µg/L, [n=12]	1.50 (+/-0.90) µg/L, [n=7]	1.67
Dihydroxyphenylalanine (PB-DOPA)	protein-bound	6.60 (+/-0.73) mg/L, [n=21]	11.37 (+/-3.17) mg/L, [n=19]	1.72 Biochemical [1]
Dimethylamine	water-soluble	2.18 (+/-0.33) mg/L, [n=9]	10.32 (+/-1.55) mg/L, [n=7]	4.73
Dimethylglycine	water-soluble	381.10 µg/L, [n=33]	576.80 (7-1040.30) µg/L, [n=18]	1.51
Endothelin	middle	20.80 (+/-3.80) ng/L, [n=23]	31.80 (+/-23.01) (3.00-63.00) ng/L, [n=25], p=0.00, D:C	1.53
Erythritol	water-soluble	0.45 (+/-0.14) (0.22-0.75) mg/L, [n=33], D:B	6.51 (+/-9.17) (2.00-37.00) mg/L, [n=28], D:D	14.47
Ethylamine	water-soluble	25.80 (+/-5.80) µg/L, [n=10]	69.00 (+/-10.20) µg/L, [n=31]	2.67
Fructoselysine	protein-bound	81.00 (+/-8.32) (68.68-102.56) mg/L, [n=19]	58.10 (+/-10.80) mg/L, [n=10]	0.72
Glyoxal	protein-bound	19.04 (+/-12.04) µg/L, [n=18]	221.00 (+/-28.00) µg/L, [n=20]	11.61
Guanidine	water-soluble	11.80 µg/L, [n=16]	126.40 (+/-52.60) (90.86-800.00) µg/L, [n=33], D:D	10.71 Neurologic and CNS [1] Cardiovascular [1] Immunologic [1]
Guanidinosuccinic acid	water-soluble	0.03 (+/-0.01) mg/L, [n=16]	2.99 (+/-1.72) (0.99-47.00) mg/L, [n=63], p=0.00, D:D	99.74 Neurologic and CNS [2]
Guanlylin	middle	0.05 (+/-0.02) (0.05-0.05) µg/L, [n=62], p=0.69, D:A	10.73 (+/-4.99) (6.16-13.30) µg/L, [n=25], p=0.00, D:D	225.66
Heptanal	water-soluble	51.07 (+/-11.17) µg/L, [n=20]	61.10 (+/-44.11) µg/L, [n=17]	1.20
Hexanal	water-soluble	21.70 (+/-10.80) µg/L, [n=20]	51.70 (+/-33.00) µg/L, [n=17]	2.38
Hippuric acid (total)	protein-bound	3.00 (+/-2.00) mg/L, [n=7]	109.43 (+/-64.66) (67.00-247.00) mg/L, [n=37], p=0.00, D:B	36.48
Homocysteine	protein-bound	1.42 (+/-0.50) (1.26-1.88) mg/L, [n=99], p=0.11, D:A	6.11 (+/-4.70) (4.40-26.40) mg/L, [n=101], p=0.12, D:B	4.31 Cardiovascular [2]
Hyaluronic acid (Hyaluronan)	middle	124.00 µg/L, [n=86]	215.26 (+/-233.97) (17.00-1843.00) µg/L, [n=222], D:D	1.74 Nephrologic [1]
Hyoxanthine	water-soluble	1.48 (+/-0.50) (1.47-1.50) mg/L, [n=290], p=0.61, D:A	1.92 (+/-1.38) (0.92-2.67) mg/L, [n=103], p=0.10, D:A	1.29
Indican	protein-bound	1.00 (+/-0.40) mg/L, [n=6]	27.30 (+/-13.30) mg/L, [n=31]	27.30
Indole-3-acetic acid (free)	protein-bound	0.50 (+/-0.30) mg/L, [n=21]	1.26 (+/-0.83) (0.44-1.50) mg/L, [n=49], p=0.00, D:B	2.52
Indole-3-acetic acid (total)	protein-bound	17.50 (+/-17.50) µg/L, [n=7]	1004.74 (+/-702.49) (875.00-9076.90) µg/L, [n=95], p=0.00, D:D	57.41
Indoxyl sulfate (free)	protein-bound	0.53 (+/-0.29) mg/L, [n=15]	3.83 (+/-2.46) (2.09-4.49) mg/L, [n=213], p=0.00, D:A	7.19 Nephrologic [1]
Indoxyl sulfate (total)	protein-bound	0.54 (+/-4.00) (0.40-0.60) mg/L, [n=73], p=1.00, D:A	37.07 (+/-26.50) (0.23-53.58) mg/L, [n=344], p=0.01, D:C	68.34 Cardiovascular [2] Nephrologic [1]
Indoxyl-β-D-glucuronide	protein-bound	0.95 (+/-0.39) mg/L, [n=15]	2.93 (+/-2.94) mg/L, [n=10]	3.09
Inosine	water-soluble	0.03 (+/-0.01) mg/L, [n=22]	1.90 (+/-0.40) mg/L, [n=12]	64.45
Insulin-like growth factor 1 (IGF-1)	protein-bound	181.00 (+/-49.20) µg/L, [n=17]	220.00 (+/-93.00) µg/L, [n=20]	1.22

Abbildung 8: Listenansicht der Webapplikation.

### 4.2.3 Detailansicht

Die Detailansicht zeigte sämtliche gespeicherten Daten eines Retentionssolutes an. Sie wurde in die Bereiche Basisdaten, Konzentrationsangaben, relativer Konzentrationsanstieg, pathologische

## Assoziationen und Anmerkungen aufgeteilt (Abbildung 9).

## Uremic Solutes Database

HOME SOLUTE LIST SOLUTE DETAILS STATISTICS LOGIN SIGN UP

## SOLUTE DETAILS FOR ATRIAL NATRIURETIC PEPTIDE (ANP)

Switch to solute:

**BASE DATA**

Name	Atrial Natriuretic Peptide (ANP)
Molecular weight	3080
Group	Peptide
Class	Middle molecule
Added	16.09.2009
Reference	Pubmed: 12675874
Submitted by	Vanholder
Reviewed by	Abou Deif

**NORMAL CONCENTRATIONS (CN)**

Date	Mean (+/-SD) (low Range - high Range)	n	Reference	Submitted by	Reviewed by	Notes
29.06.1992	28.00 (+/-12.20) ng/L	23	Endothelin in chronic renal failure.	Vanholder	Abou Deif	
01.05.1997	27.72 (+/-6.16) ng/L	17	Vasoactive hormones in uraemic patien...	Abou Deif	Beige	[2]
<b>Grand mean</b>	<b>27.88 (+/-10.09) (27.72-28.00) ng/L</b>	<b>40</b>				
<b>ANOVA</b>	<b>F(1,38) = 0.00, p=0.95: No significant differences between group means.</b>					
<b>Dispersion</b>	<b>L:27.72, M:27.88, H:28.00 : A - (Minimal scatter: High consistency.)</b>					

**UREMIC CONCENTRATIONS (CU)**

Date	Mean (+/-SD) (low Range - high Range)	n	Reference	Submitted by	Reviewed by	Notes
29.06.1992	202.00 (+/-117.30) ng/L	27	Endothelin in chronic renal failure.	Vanholder	Abou Deif	
01.05.1997	187.88 (+/-135.52) ng/L	14	Vasoactive hormones in uraemic patien...	Abou Deif	Beige	[2]
<b>Grand mean</b>	<b>197.18 (+/-123.82) (187.88-202.00) ng/L</b>	<b>41</b>				
<b>ANOVA</b>	<b>F(1,39) = 0.07, p=0.80: No significant differences between group means.</b>					
<b>Dispersion</b>	<b>L:187.88, M:197.18, H:202.00 : A - (Minimal scatter: High consistency.)</b>					

**Relative increase (CU/CN)** 7.07 times higher than the average normal concentration.

**PATHOLOGICAL ASSOCIATIONS**

Date	Category	Reference	Comment
20.10.1987	Cardiovascular	Clinical significance of atrial natri...	Plasma ANP levels are elevated in patients with congestive heart failure or with chronic renal failure by increased atrial pressure due to volume expansion.

**NOTES**

2 Units reported as mol/l transformed to g/l as C(g/l) = [C(mol/l)] \* molecular weight]

Abbildung 9: Detailansicht eines Retentionsoluts am Beispiel von ANP.

Die Basisdaten zeigten den Namen, das Molekulargewicht, die physikochemische Klassifizierung, das Datum der Aufnahme in die Datenbank, das eingebende und gutachtende Mitglied und einen Verweis auf die bei Pubmed hinterlegte Referenzpublikation, welche diese Verbindung als unter Urämie erhöht belegte.

Bei den Konzentrationsangaben wurde eine nach Publikationsdatum sortierte Auflistung der

erfassten Studien jeweils für normalgesunde und urämische Konzentrationen dargestellt. Jede Studie zeigte einen Durchschnittswert, die Standardabweichung, die Spannweite, die Probenanzahl und ein Verweis auf die bei Pubmed hinterlegte Referenzpublikation der Studie an. Wenn die Anzahl der Studien und deren Daten es zuliessen, wurde eine Varianzanalyse und die Messunsicherheitseinschätzung nach Meert et al. in die Kategorien A, B, C oder D berechnet und angezeigt.

Der relative Konzentrationsanstieg wurde im Gegensatz zur Listenansicht mit einem erläuterndem Satz dargestellt. Pathologische Assoziationen wurden wie die Konzentrationsangaben nach Publikationsdatum sortiert und mit dem Titel, dem eingebundenen und gutachtenden Mitglied und einem zusammenfassenden Kommentar angezeigt.

#### **4.2.4 Auswertungsansicht**

Die Auswertungsansicht stellte statistische Analyseergebnisse über die gesamten erfassten Daten dar (Abbildung 10). Wenn möglich, wurde eine Verhältnisdarstellung mit Hilfe eines Balkendiagramms angezeigt. Dargestellt wurden die absolute Anzahl der zum Zeitpunkt der Anfrage in der Datenbank gespeicherten Retentionssolute und ihre Verteilung nach physikochemischer Klassifizierung. Es wurde ausserdem die Anzahl der proteingebundener Retentionssolute mit einem Molekulargewicht über oder unter 500 Dalton angezeigt, da dieses arbiträre Unterscheidungsmerkmal die Grenze zwischen nicht-proteingebundenen Verbindungen in wasserlösliche oder middle Molecule definierte. Weiterhin wurde die Gesamtanzahl der Studien angezeigt sowie ihre Aufteilung in Plasmakonzentrationen normalgesunder und urämischer Patienten. Die pathologischen Assoziationen wurden nach Pathologietyp und prozentualem Anteil an der Gesamtanzahl präsentiert.

## Uremic Solutes Database

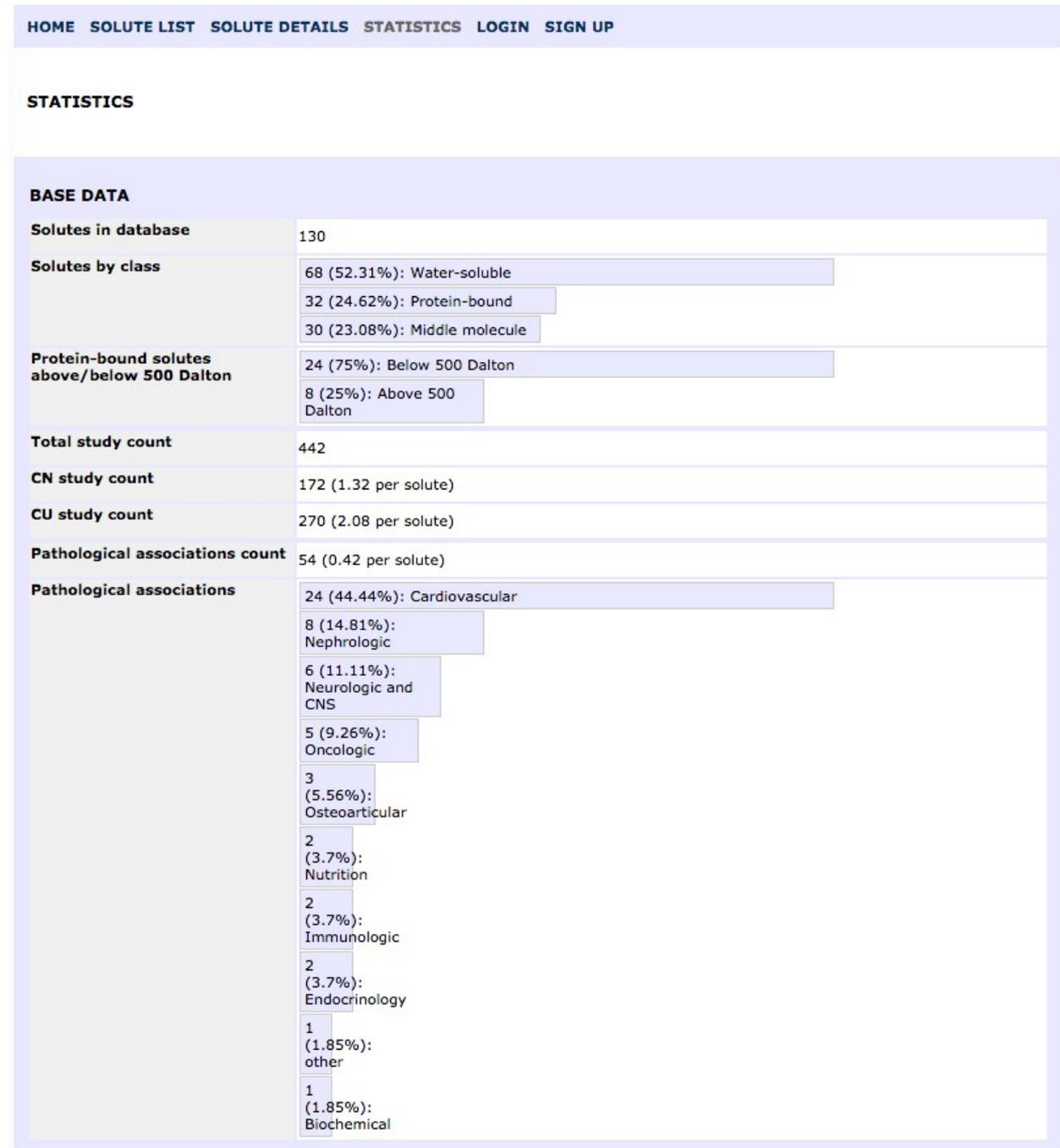


Abbildung 10: Auswertungsansicht

#### 4.2.5 Registrierung und Login

Zur Dateneingabe durch Dritte war eine Registrierung erforderlich, die auf der Registrierungsseite erfolgte. Die Aufnahme als registrierter Benutzer erfolgte nach manueller Freigabe durch den Vorsitzenden der EuTOX-Gruppe. Nach Mitteilung des Passworts konnte

sich der betreffende Nutzer auf der Login-Seite einloggen.

Nach erfolgreichem Login wurde das Navigationsmenü um einen Logout-Menüpunkt erweitert, der bei Selektion den Benutzer wieder ausloggte. Ausserdem erschien der Menüpunkt Dateneingabe (engl. “Submit Data”).

Uremic Solutes Database

HOME SOLUTE LIST SOLUTE DETAILS STATISTICS LOGIN SIGN UP

LOG IN

Please enter your email and password to log in.

EMAIL:

PASSWORD:

Login

Abbildung 11: Login-Seite

#### 4.2.6 Dateneingabe

Bei dem Formular zur Dateneingabe musste zunächst das Retentions-solut gewählt werden, zu dem neue Daten vorgeschlagen werden sollten. Jeder Vorschlag musste mit einer Pubmed-ID belegt werden, die im darauffolgenden Feld eingegeben werden musste. Anschliessend konnte der Benutzer zwischen pathologischer Assoziation oder einer neuen Konzentrationsangabe aus einer Studie wählen.

Für pathologische Assoziationen musste der Pathologietyp ausgewählt und ein zusammenfassender Kommentar aus der Publikation verfasst werden. Bei Plasmakonzentrationen musste zunächst unterschieden werden, ob am normalgesunden oder urämischen Patienten gemessen wurde. Anschliessend musste die Probenanzahl, das arithmetische Mittel und eine Standardabweichung oder Spannweite eingegeben werden (Abbildung 12).

Die eingegebenen Daten wurden in den entsprechenden Datenbanktabellen mit dem Wert “submitted” gespeichert und eine Email an einen in der Datenbank festgelegten Gutachter geschickt. Der in der Email enthaltene Verweis auf eine Webseite der Datenbank zeigte eine Übersicht der eingegebenen Daten, die der Gutachter entweder akzeptieren oder zurückweisen

konnte. Der eingebende Nutzer erhielt daraufhin eine Email, die das Ergebnis der Prüfung mitteilte. Akzeptierte der Gutachter die eingegebenen Daten, wurden die entsprechenden Daten in den Datenbanktabellen mit dem Attribut “reviewed” versehen und fortan in alle Berechnungen und Darstellungen eingeschlossen.

### Uremic Solutes Database

HOME SOLUTE LIST SOLUTE DETAILS STATISTICS | SUBMIT DATA LOGOUT  
Edit Solute Add member Edit member Delete member

**SUBMIT DATA**

Submit data for solute: Atrial Natriuretic Peptide (ANP) ↓

Pubmed ID

**NEW CLINICAL REFERENCE**

Clinical area unknown ↓

Comment

Submit clinical reference

**NEW PLASMA CONCENTRATION**

Type  Normal concentration (CN)  Uremic concentration (CU)

Number of samples

Unit mg/L ↓

Value

Standard deviation +/-

Range (low-high) -

Submit concentration

Abbildung 12: Formular zur Eingabe neuer Daten

## 4.3 Quantitative Analyse

### 4.3.1 Erfasste Retentionssolute

Zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit erfasst die Datenbank 130 urämische Solute, von denen 79 aus der Publikation von Vanholder et al. bei der Erstellung der Datenbank aufgenommen wurden (23). 46 Retentionssolute wurden später aus der Publikation von Meert et al. und Durantou et al. hinzugefügt (9,24). 5 Verbindungen wurden aus Forschungsergebnissen oder Vorschlägen von Mitgliedern der EUTox-Gruppe hinzugefügt (Tabelle 21) (69–72).

<b>Retentionssolut</b>	<b>Autor</b>
Resistin	Cohen et al. (Wien)
S-Adenosylhomocysteine	Perna et al. (Neapel)
Adiponectin	Beige et al. (Leipzig)
P-Cresylsulfat (total und freie Fraktion)	Martinez et al. (Stanford)

Tabelle 21: Aus Forschungsergebnissen hinzugefügte Retentionssolute.

Fünf Verbindungen wurden der Datenbank initial hinzugefügt und später wieder entfernt:

Bei P-Cresol wurde aufgrund eines Methodenfehlers falsch hohe urämische Konzentrationen festgestellt (73). Guanidinoessigsäure, Spermin und Spermidin wurden entfernt, da neue Studien eine Abnahme statt Zunahme der Konzentration unter urämischen Bedingungen zeigten, ebenso freie leichte Immunglobulinketten des Kappa-Typs, da eine neue Studie keinen signifikanten Unterschied zwischen nierengesunden und urämischen Patienten zeigen konnte (74–76).

### 4.3.2 Verteilung nach physikochemischer Klassifizierung

Die Verteilung der erfassten Retentionssolute nach physikochemischer Klassifizierung ist in Tabelle 22 aufgeführt. Von den 30 proteingebundenen Verbindungen wiesen 24 (75%) ein Molekulargewicht unter dem arbiträren Trennwert zwischen wasserlöslichen und middle Molecules von 500 Dalton, 8 Solute (25%) hatten ein Molekulargewicht über 500 Dalton.

<b>Klasse</b>	<b>Retentionssolute</b>	<b>Prozentualer Anteil</b>
Wasserlöslich	68	52,00%
Middle Molecules	32	25,00%
Proteingebunden	30	23,00%
<b>Gesamt</b>	<b>130</b>	<b>100,00%</b>

Tabelle 22: Verteilung der Retentionssolute nach Klassifizierung

### 4.3.3 Plasmakonzentrationsmessungen

Die Datenbank erfasst 32843 Plasmakonzentrationsmessungen aus 442 einzelnen Studien. 5035 Plasmakonzentrationen wurden am nierengesunden Patienten gemessen, 27808 unter Urämie,

davon allein 19746 urämische Messungen von Kreatinin in einer einzelnen Studie (Tabelle 23). Unter Ausschluss dieser Studie ergibt sich eine durchschnittliche Anzahl von 29,7 Einzelmessungen pro Studie (Tabelle 24).

	<b>Nierengesund</b>	<b>Urämisch</b>	<b>Gesamt</b>
Konzentrationsmessungen	5035	27808	32843
Studien	172	270	442
Einzelmessungen pro Studie	29,27	102,99	74,31

Tabelle 23: Übersicht der erfassten Studien und Konzentrationsmessungen

Bei 8 Konzentrationsangaben war die Angabe der Einzelmessungen nicht verfügbar und wurde mit 1 festgelegt, davon 7 Normalkonzentrationen und 1 unter Urämie.

	<b>Nierengesund</b>	<b>Urämisch</b>	<b>Gesamt</b>
Konzentrationsmessungen	5035	8062	13097
Studien	172	269	441
Einzelmessungen pro Studie	29,27	29,97	29,7

Tabelle 24: Anzahl der Konzentrationsmessungen unter Ausschluss einer Studie mit 19746 Messungen von Kreatinin.

## 4.4 Datenauswertung

### 4.4.1 Varianzanalyse

18 Retentionsolute (14%) wiesen mehr als eine Konzentrationsmessung innerhalb ihrer normalgesunden und 47 (36%) innerhalb ihrer urämischen Gruppierung auf, welche die Kriterien für eine Varianzanalyse erfüllten: Ein vorhandener arithmetischer Mittelwert, eine vorhandene Standardabweichung sowie eine Stichprobenanzahl von mindestens 2 für eine der zu vergleichenden Studien.

Für 33% der normalgesunden und 17% der urämischen Studiengruppen wurde ein p-Wert über 0,05 errechnet. Damit war für diese Konzentrationsangaben keine statistisch signifikante Differenz zwischen den Messungen nachweisbar (Tabellen 25 und 26).

	<b>p &lt; 0,05</b>	<b>p &gt;= 0,05</b>	<b>Gesamt</b>
Wasserlöslich	4	2	6 (33%)
Middle Molecules	3	2	5 (28%)
Proteingebunden	5	2	7 (39%)
<b>Gesamt</b>	<b>12 (66,66%)</b>	<b>6 (33,33%)</b>	<b>18 (100%)</b>

Tabelle 25: Varianzanalyse nach physikochemischer Klassifizierung für normalgesunde Konzentrationsangaben.

	<b>p &lt; 0,05</b>	<b>p &gt;= 0,05</b>	<b>Gesamt</b>
Wasserlöslich	11	2	13 (28%)
Middle Molecules	17	3	20 (42%)
Proteingebunden	11	3	14 (30%)
<b>Gesamt</b>	<b>39 (83%)</b>	<b>8 (17%)</b>	<b>47 (100%)</b>

Tabelle 26: Varianzanalyse nach physikochemischer Klassifizierung für urämische Konzentrationsangaben.

#### 4.4.2 Relativer Konzentrationsanstieg

Durchschnittlich stieg ein Retentionssolut unter Urämie etwa um den Faktor 18 an. Den geringsten Konzentrationsanstieg um den Faktor 13 wiesen proteingebundene Retentionssolute auf (Tabelle 27).

	<b>Wasserlöslich</b>	<b>Middle Molecules</b>	<b>Proteingebunden</b>	<b>Gesamt</b>
Durchschnittlicher relativer Konzentrationsanstieg	19,04	21,03	13,1	<b>18,04</b>

Tabelle 27: Relativer Konzentrationsanstieg nach physikochemischer Klassifizierung.

Für Substanz P, Parathyroidhormon, Fructoselysin, Calcitonin gene-related peptide,  $\beta$ -Endorphin und Vasopressin wurde ein relativer Konzentrationsanstieg unter 1 errechnet, nur Fructoselysin gehört nicht zur Gruppe der middle Molecules (Tabelle 28). Da die durchschnittlich gemessene urämische Konzentration damit unter der normalgesunden lag, erfüllten diese Verbindungen nicht mehr die Definition eines urämischen Retentionssoluts. Von einer Entfernung aus der Datenbank wurde zunächst abgesehen, um weitere Evaluationen zu ermöglichen.

Das Retentionssolut mit dem höchsten relativen Konzentrationsanstieg war Phenylelessigsäure, welches bei den wasserlöslichen Retentionssoluten von seinem Konjugationsprodukt Phenylacetylglutamin gefolgt wird. Bei den middle Molecules zeigte Guanylin den höchsten und Uroguanylin den dritthöchsten Anstieg an. Mit Ausnahme von Guanylin, Indoxylsulfat und  $\beta$ 2-Mikroglobulin beruhen entweder die normalen, urämischen oder beide Konzentrationsangaben der Tabelle 29 auf einer einzelnen Studie.

	Wasserlöslich		Middle Molecules		Proteingebunden	
	Name	Faktor	Name	Faktor	Name	Faktor
1	Malondialdehyde	1,06	<i>Substanz P</i>	0,02	<i>Fructoselysin</i>	0,72
2	Heptanal	1,2	<i>PTH</i>	0,6	IGF-1	1,22
3	Harnsäure	1,25	<i>Calcitonin gene-related peptide</i>	0,89	VEGF	1,47
4	2-Octenal	1,25	<i>β-Endorphine</i>	0,91	Interleukin 10	1,51
5	8-OHdG	1,28	<i>Vasopressin</i>	0,98	PB-DOPA	1,72
6	Hypoxanthin	1,29	Interleukin 18	1,42	Kinurenine	1,76
7	Monomethylamin	1,31	Interleukin 1β	1,47	α1-Acid glycoprotein	1,86
8	Decanal	1,36	Endothelin	1,53	Methylglyoxal	2,34
9	Cytidin	1,46	Resistin	1,59	Indole-3-Essigsäure (frei)	2,52
10	Dimethylglycin	1,51	DSIP	1,67	Leptin	2,57

Tabelle 28: Retentionssolute mit dem niedrigstem relativen Konzentrationsanstieg nach physikochemischer Klassifizierung. Kursiv: Verbindungen mit einer errechneten durchschnittlichen urämischen Konzentration unterhalb der normalgesunden. PTH: Parathyroidhormon, PB-DOPA: Dihydroxyphenylalanin, 8-OHdG: 8-Hydroxydeoxyguanosine, DSIP: Delta-sleep inducing peptide, VEGF: Vascular Endothelial Growth Factor, IGF-1: Insulinähnlicher Wachstumsfaktor 1.

	Wasserlöslich		Middle Molecules		Proteingebunden	
	Name	Faktor	Name	Faktor	Name	Faktor
1	Phenyllessigsäure	339,03	Guanylin	225,66	Indoxylsulfat (total)	68,34
2	Phenylacetylglutamin	130,63	Clara Cell Protein	218,04	Indole-3-Essigsäure	57,41
3	Guanidin-Bernsteinsäure	99,74	Uroguanylin	42,51	Osteocalcin	37,52
4	Inosin	64,45	β2-Microglobulin	21,8	Hippursäure (total)	36,48
5	Neopterin	60,33	Motilin	16,75	P-Cresylsulfat (frei)	32,5
6	1-Methylinosin	45,96	Cystatin C	15,9	Kynurensäure	27,55
7	4-Pyridon-3-carboxamide-1-β-D-ribonucleoside	44,1	TNF-alpha	15,51	Indican	27,3
8	Methylguanidin	36,48	Komplementfaktor D	11,23	Pentosidin	15,44
9	Mannitol	35,12	Neuropeptid Y	8,86	Chinolinsäure	15
10	SAH	31,74	ANP	7,07	P-Cresylsulfat (total)	12,27

Tabelle 29: Retentionssolute mit dem höchsten relativen Konzentrationsanstieg nach physikochemischer Klassifizierung. ANP: Atriales natriuretisches Peptid, SAH: S-Adenosylhomocystein.

### 4.4.3 Einschätzung der Messunsicherheit

Für insgesamt 27 Retentionsolute mit normalgesunden und 57 mit urämischen Konzentrationsangaben ließ sich eine Einschätzung der Messunsicherheit nach der von Meert et al. vorgestellten Methode durchführen. Unabhängig von ihrer physikochemischen Klassifizierung liessen sich die normalgesunden Konzentrationen zu mindestens 73% als konsistente Messungen (Kategorie A) oder einer potentiellen Messunsicherheit (Kategorie B) zuordnen (Tabelle 30).

Kategorie	A	B	C	D	Gesamt
Wasserlöslich	6 (40%)	5 (33%)	3 (20%)	1 (7%)	15 (100%)
Middle Molecules	3 (60%)	1 (20%)	1 (20%)	0 (0%)	5 (100%)
Proteingebunden	4 (57%)	2 (29%)	0 (0%)	1 (14%)	7 (100%)
Gesamt	13 (48%)	8 (30%)	4 (15%)	2 (7%)	27 (100%)

Tabelle 30: Einschätzung der Messunsicherheit für normalgesunde Konzentrationsmessungen nach physikochemischer Klassifizierung mit gerundeten Prozentangaben.

Bei den urämischen Konzentrationsangaben zeigte sich eine annähernde Gleichverteilung der Methodenergebnisse. Etwa 49% erfüllten die Kriterien für die Kategorien A oder B, während 51% als eine wahrscheinliche (Kategorie C) oder deutliche (Kategorie D) Messunsicherheit eingestuft werden konnten (Tabelle 31). Die physikochemische Klassifizierung zeigte keine signifikanten Unterschiede.

Kategorie	A	B	C	D	Gesamt
Wasserlöslich	4 (18,1%)	6 (27,3%)	6 (27,3%)	6 (27,3%)	22 (100%)
Middle Molecules	5 (24%)	6 (29%)	7 (33%)	3 (14%)	21 (100%)
Proteingebunden	3 (21%)	4 (29%)	5 (36%)	2 (14%)	14 (100%)
Gesamt	12 (21%)	16 (28%)	18 (32%)	11 (19%)	57 (100%)

Tabelle 31: Einschätzung der Messunsicherheit für urämische Konzentrationsmessungen nach physikochemischer Klassifizierung mit gerundeten Prozentangaben.

## 4.5 Pathologische Assoziationen

### 4.5.1 Verteilung

Insgesamt wurden 55 pathologische Assoziationen erfasst, ihre Verteilung ist in Tabelle 32 aufgeführt. Den Hauptanteil bilden mit 43,64 Prozent kardiovaskuläre Bezüge. Auch wenn die

kardiovaskulären Folgen der Urämie seit langem bekannt sind, ist die Höhe des Anteils insbesondere gegenüber den gefundenen nephrologischen Bezügen bemerkenswert. Bei letzteren dominieren proteingebundene Verbindungen mit 87,5%. Insgesamt bilden wasserlösliche Verbindungen mit 40% ein leichtes Übergewicht gegenüber den middle Molecules und proteingebundenen Retentionslösungen. Die gefundenen Assoziationen sind mit hoher Wahrscheinlichkeit nicht vollständig. Aufgrund ihrer geringen Gesamtmenge könnten schon wenige neu gefundene Bezüge zu Änderungen dieser Verteilung führen.

Pathologietyp	Wasserlöslich	Middle Molecules	Protein-gebunden	Anzahl	Prozent
Kardiovaskulär	10	8	6	24	43,64%
Nephrologisch	0	1	7	8	14,55%
Neurologisch / ZNS	6	0	0	6	10,90%
Onkologisch	3	2	0	5	9,09%
Osteoartikulär	0	3	0	3	5,45%
Immunologisch	2	0	1	3	5,45%
Nutrition	0	1	1	2	3,64%
Endokrinologisch	1	1	0	2	3,64%
Biochemisch	0	0	1	1	1,82%
Andere	0	1	0	1	1,82%
Hematologisch	0	0	0	0	0,00%
<b>Gesamt</b>	<b>22 (40%)</b>	<b>17 (31%)</b>	<b>16 (29%)</b>	<b>55</b>	<b>100,00%</b>

Tabelle 32: Verteilung der pathologischen Assoziationen nach physikochemischer Klassifizierung. Prozentangaben gerundet.

## 4.5.2 Wasserlösliche Retentionslösungen

### 4.5.2.1 Harnstoff

Die absolute Plasmakonzentration von Harnstoff ist unter Urämie so stark erhöht wie bei keinem anderen Retentionslösungen. Die Toxizität von Harnstoff wurde lange Zeit als gering angesehen, da selbst die Hinzufügung von Harnstoff zum Dialysat den Therapieerfolg der Dialyse nicht beeinträchtigte, obwohl eine erhöhte Blutungsneigung dabei beschrieben wurde (77). Doch erhöht die Anwesenheit von Harnstoff die Konzentration anderer Metaboliten durch Carbamylierung von Aminosäuren und Proteinen, was seinerseits mit Atherosklerose assoziiert wurde (78,79). Mittlerweile ist auch ein direkter Nachweis einer toxischen Wirkung des

Harnstoffs in Form einer durch Erhöhung reaktiver Sauerstoffspezies verursachten aortalen endothelialen Dysfunktion gelungen (80).

#### **4.5.2.2 Guanidine**

Guanidine sind Arginin-Metaboliten, ihr bekanntester Vertreter Kreatinin ist einer der wichtigsten Nierenretentionsparameter. Guanidin und Methylguanidin wurden mit vaskulärer Schädigung als Ausdruck einer Leukozytenaktivierung in Verbindung gebracht, Guanidinbernsteinsäure mit Neurotoxizität, alle mit ZNS-Dysfunktion (81–83). Auch symmetrisches Dimethylarginin (SDMA) wurde bei erhöhten Plasmakonzentrationen mit Gefäßschädigungen in Beziehung gesetzt und als Marker sowohl für sehr frühe Stadien der chronischen Nierenkrankheit als auch zur Risikoeinschätzung von renal bedingten kardiovaskulären Komplikationen bezeichnet (84). Asymmetrisches Dimethylarginin (ADMA) ist ein Prädiktor für allgemeine Mortalität und kardiovaskulären Behandlungserfolg und zeigt direkte kardiovaskuläre Effekte wie ein erniedrigtes Herzzeitvolumen und einen erhöhten peripheren Widerstand (85,86).

#### **4.5.2.3 Polyole**

Die Konzentration verschiedener Polyole ist unter Urämie erhöht, darunter Mannitol, Sorbitol, Arabitol, Erythritol und Myoinositol (87). Myoinositol wird im Gegensatz zu den meisten anderen Retentionslösungen in der gesunden Niere oxidiert, die Akkumulation ist daher Ausdruck eines beeinträchtigten Abbaus, nicht verminderter renaler Exkretion (11). Für Myoinositol wurden Hinweise auf Neurotoxizität und damit einer Rolle in der urämischen Polyneuropathie gefunden (88).

#### **4.5.2.4 Mono-, Di- und Trimethylamine**

Die organischen Amine Mono-, Di- und Trimethylamin sind basische Verbindungen mit einem pH-Wert zwischen 9 und 11. Di- und Trimethylamine gelten als verantwortlich für den für Urämie charakteristischen Fötor (89). Monomethylamin wird eine neurotoxische Wirkung zugewiesen (90). Eine im Tierexperiment nachgewiesene Hypophagie bei erhöhten Plasmakonzentrationen von Monomethylamin könnte einen Einfluß auf urämische Malnutrition haben (91).

#### **4.5.2.5 Andere**

Die erhöhte urämische Plasmakonzentration von Xanthin, einem Zwischenprodukt des

Purinabbau, spielt eine mögliche Rolle bei Postmyokardinfarkt-bedingter Gefäßschädigung (92). Das Ribonukleosid Pseudouridine trägt zu erhöhter Insulinresistenz bei (93).

### **4.5.3 Middle Molecules**

#### **4.5.3.1 $\beta$ 2-Mikroglobulin**

Die erhöhte Akkumulation des Peptids  $\beta$ 2-Mikroglobulin gilt als mitverantwortlich für die Hämodialyse-assoziierte Amyloidose, deren abnehmende Prävalenz einer verbesserten Dialyse-Effizienz zugeschrieben wird (94,95). Entsprechend wird  $\beta$ 2-Mikroglobulin auch als Marker für die erfolgreiche Entfernung von middle Molecules durch Dialyse eingesetzt (96).

#### **4.5.3.2 Adrenomedullin**

Das vasodilatativ wirkende Adrenomedullin (97) könnte an der chronischen Hypotension urämischer Patienten beteiligt sein (98). Während eine Erhöhung der Plasmakonzentration von Adrenomedullin zunächst mit einer kardioprotektiven Wirkung postuliert wurde, zeigte eine spätere Studie mit reifem Adrenomedullin eine Korrelation zu kardialer Dysfunktion, kardialer Morbidität und Sterblichkeit (99,100).

#### **4.5.3.3 Adiponektin**

Obwohl Adiponektin kardioprotektive Eigenschaften zugewiesen werden, korrelierten erhöhte Plasmakonzentrationen mit erhöhter Sterblichkeit (101) und erniedrigte Konzentrationen in Patienten mit chronischer Nierenkrankheit unterhalb Stufe 4 mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko (102).

#### **4.5.3.4 Leptin**

Ein Anstieg des Proteohormons Leptin wirkt appetitzügelnd und ist bei adipösen Patienten erhöht. Unter Urämie ist eine erhöhte Leptinkonzentration mit Verlust von fettfreiem Körpergewebe und herabgesetzter Proteinzufuhr assoziiert, weibliches Geschlecht sowie Adipositas beeinflussen Leptin-Konzentrationen auch bei Patienten mit chronischer Nierenkrankheit im Stadium 5 (103,104). Für diese Patienten kann eine herabgesetzte Leptinkonzentration als Mortalitätsprädiktor dienen (105).

#### **4.5.3.5 Hyaluronsäure**

Hyaluronsäure ist ein guter Prädiktor für das Langzeitüberleben von Patienten mit chronischer Nierenkrankheit. Bei Patienten mit diabetischer Glomerulonephritis wurde eine proliferative

Wirkung auf interstitielle Fibroblasten beschrieben, welche eine interstitielle Fibrose zur Folge haben kann (106,107).

#### **4.5.3.6 Atriales natriuretisches Peptid**

Atriales natriuretisches Peptid wurde mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität in Verbindung gebracht wurde, dies scheint auf einer plasmavolumenvergrößernden Wirkung der Verbindung zu beruhen (109).

#### **4.5.3.7 Endothelin**

Endothelin erhöht in normalgesunden Patienten die Insulinresistenz, in urämischen Patienten trägt Endothelin zu Hypertension, arterieller Verhärtung und Atherosklerose, oxidativem Stress, Inflammation und endothelialer Dysfunktion bei (111,112).

#### **4.5.3.8 Andere**

Eine signifikante Beziehung hoher Konzentrationen des Peptids Resistin zu Herzerkrankungen wurde retrospektiv ermittelt (69). Neuropeptid Y kann als Prädiktor kardiovaskulärer Komplikationen urämischer Patienten eingesetzt werden (108). Erhöhte Cholecystokininspiegel verändern Hunger- und Sättigungsgefühl in urämischen Patienten und könnte so einen Einfluß auf Malnutrition ausüben (110).

### **4.5.4 Proteingebundene Retentionssolute**

#### **4.5.4.1 P-Cresylsulfat**

Für P-Cresol, ein Phenol, das aus dem Präkursor Tyrosin in der Intestinalflora gebildet wird, wurde in frühen in-vivo-Studien mit gesunden und urämischen Patienten ein gradueller Anstieg unter Urämie nachgewiesen und später für endotheliale und immunologische Störungen verantwortlich gemacht (113–115). Später wurde festgestellt, dass ein Fehler der Analysemethode durch Säuerung und Deproteinisierung der Proben die eigentlichen Endprodukte p-Cresylsulfat und p-Cresylglucuronid zu p-Cresol denaturierte (73). Es ist vorstellbar, dass die bis dahin mit p-Cresol assoziierten pathologischen Befunde auch für p-Cresylsulfat gelten (20). Folgestudien konnten bestätigen, dass p-Cresylsulfat einen proinflammatorischen Effekt auf Leukozyten ausübt und einen Mortalitätsprädiktor für Patienten mit chronischer Nierenkrankheit darstellt (116,117).

#### **4.5.4.2 Phenyllessigsäure**

Phenyllessigsäure ist ein Abbauprodukt des Phenylalanin-Stoffwechsels, das im Plasma zu etwa 30% proteingebunden vorkommt. Phenyllessigsäure inhibiert die in Makrophagen vorkommende Stickstoffmonoxid-Synthase (iNOS) und wird deshalb mit progredienter Atherosklerose und erhöhter kardiovaskulärer Morbidität urämischer Patienten in Verbindung gebracht (118,119).

#### **4.5.4.3 Retinol-bindendes Protein**

Retinol-bindendes Protein bindet Retinoide, dessen bekanntester Vertreter Vitamin A ist. Im Plasma vorkommendes Retinol-bindendes Protein (RBP4) inhibiert konzentrationsabhängig Chemotaxis, oxidativen Stoffwechsel und Zelloptose in Patienten mit akutem Nierenversagen. Eine unter Urämie erhöhte Plasmakonzentrationen könnte daher immunsuppressiv wirken (120).

#### **4.5.4.4 Indoxylsulfat**

Indoxylsulfat wird in der Leber aus Indol synthetisiert und gehört zu den proteingebundenen Retentionslösungen, die sonst aufgrund ihres geringen Molekulargewichts als middle Molecules klassifiziert werden würden. Es wird als renal fibrosierend eingestuft, dadurch mit der direkten Progression der chronischen Nierenkrankheit assoziiert und dient als deren Prädiktor (121,122). Auch eine kardial fibrosierende Wirkung mit atherosklerotischen Folgen unter Urämie wurde beschrieben (123).

#### **4.5.4.5 Homocysteine**

Homocysteine ist ein Zwischenprodukt des Proteinabbaus. Als Hyperhomocysteinämie wird eine Plasmakonzentration über 115 mmol/l bezeichnet. Erhöhte Homocysteinlevel beeinträchtigen mehrere antikoagulatorische Prozesse in der Gefäßwand mit der Folge einer erhöhten Thrombogenität (124). Auch in hämodialysepflichtigen Patienten wurde eine signifikante Assoziation zwischen Hyperhomocysteinämie und atherothrombotischen Ereignissen sowie kardiovaskulärer Morbidität gefunden (125–127).

## 5 Diskussion

### 5.1 Zusammenfassung

Der Verlauf der chronischen Nierenkrankheit führt nicht nur zum terminalen Nierenversagen, sondern auch zu Schädigungen vieler weiterer Organsysteme. Die progredient abnehmende Filterleistung der Niere führt zu einer stetig zunehmenden Retention einer Vielzahl von Molekülverbindungen. Die Akkumulation dieser urämischen Solute steht mit Schädigungen fast aller Organsysteme im Zusammenhang, die zugrundeliegenden pathophysiologischen Mechanismen sind bis heute aber nur unvollständig untersucht. Ihre Aufklärung ist entscheidend für die Entwicklung neuer Präventions- und Therapiestrategien (128). Mit der Erstellung einer Datenbank für Urämiesolute wurde erstmals ein Ansatz zu einer systematischen digitalen Erfassung und Einordnung von urämischen Retentionssoluten und deren Plasmakonzentration unter urämischen Bedingungen verfolgt. Ausserdem wurde erstmals der Versuch unternommen, systematisch die bisher bekannten pathologischen Auswirkungen einer Akkumulation von Retentionssoluten zuzuordnen.

Insgesamt wurden 130 Verbindungen erfasst, bei denen eine erhöhte urämische Plasmakonzentration gegenüber einer normalgesunden nachgewiesen wurde. Ein Ziel der systematischen Erfassung war, unterschiedliche Studien hinsichtlich ihrer Messergebnisse zu bewerten. Dazu konnten bei 14 Prozent der Studien zu normalgesunden und 36 Prozent der urämischen Plasmakonzentrationsmessungen eine Varianzanalyse durchgeführt werden. Bei 33 Prozent der normalgesunden und 17 Prozent der urämischen Studiengruppen war keine statistisch signifikante Differenz zwischen den Messungen nachweisbar. Bei der von Meert et al. vorgeschlagenen Methode zur Einschätzung der Messgenauigkeit anhand der höchsten, niedrigsten und durchschnittlichen Konzentration in 4 Kategorien ergab sich bei den normalgesunden Konzentrationsmessungen ein Übergewicht zugunsten keiner oder einer geringen Messgenauigkeit in den Konzentrationsangaben, während die urämischen Konzentrationsmessungen annähernd gleich in messgenaue und messungenaue Kategorien verteilt waren.

Nach den vorliegenden Daten erhöht sich die Konzentration eines Retentionssoluts unter Urämie durchschnittlich um den Faktor 18. Gegenüber dem annähernd gleichen Konzentrationsanstieg von wasserlösliche Verbindungen und middle Molecules von 19,04 und 21,03 Prozent fielen proteingebundene Retentionssolute mit 13,1 Prozent geringfügig ab. Dies

bestätigt im Wesentlichen die Ergebnisse von Vanholder et al., die eine „grenzwertige Signifikanz“ zwischen middle Molecules und proteingebundenen Verbindungen feststellten (23). Substanz P, Parathyroidhormon, Fructoselysin, Calcitonin gene-related peptide,  $\beta$ -Endorphin und Vasopressin wiesen eine erniedrigte Konzentration gegenüber der normalgesunden auf und erfüllten damit nicht mehr die Kriterien eines Urämiesoluts.

30 Retentionssolute liessen sich mit einer oder mehreren klinisch relevanten Pathologien in Verbindung bringen. Unter diesen stellten kardiovaskuläre Assoziationen den Hauptanteil mit 43,64 Prozent, den nächsthöheren Anteil bildeten nephrologisch assoziierte Pathologien mit 14,55 %. Wasserlösliche Retentionssolute bilden mit 40% Prozent ein leichtes Übergewicht, der Anteil proteingebundener Verbindungen und middle Molecules war mit etwa 30% annähernd gleich verteilt.

Die gesammelten Informationen sollen helfen, bereits durchgeführte und zukünftige Evaluationen bestehender und neu entdeckter Urämiesolute festzuhalten, zusammenzufassen und in Beziehung zu stellen. Dies erleichtert, standardisierte und biologisch relevante Konzentrationen in experimentellen Versuchsaufbauten zur Verfügung zu stellen (9), um verbesserte in vitro oder in vivo Untersuchungen zu Kinetik, Generierungsraten und Kompartimentverteilung zu ermöglichen (23), als auch bestehende Therapieansätze zu evaluieren, neue prognostische Marker für die Entfernung von Retentionssoluten zu definieren und neue Strategien zur Entfernung oder anderer Interventionsmöglichkeiten zur Absenkung oder vollständigen Normalisierung von Plasmaspiegeln urämischer Solute zu entwickeln (52). Mit der Möglichkeit, neue Forschungsinformationen einzugeben, wird die Datenbank zu einer Austausch- und Referenzplattform, die eine weltweite Kooperation zur Verbesserung der klinischen Forschung an urämischen Retentionssoluten ermöglicht.

Die resultierende Übersicht der erfassten Verbindungen spiegelt die Komplexität der urämischen Retention wieder. Es ist anzunehmen, dass zukünftig sowohl die Anzahl der bekannten Retentionssolute als auch ihrer pathophysiologischen Wirkungsgrade und damit die Bedeutung einer systematischen Erfassung weiterhin zunehmen werden.

## **5.2 Definition und Ausschluss von Retentionssoluten**

In der vorliegenden Arbeit wurde die Bezeichnung „Urämiesolut“ verwendet, da anzunehmen ist, dass eine Konzentrationserhöhung unter Urämie nicht zwingend eine pathologische Wirkung zur Folge hat. Diese Auffassung scheint sich durch das hier gefundene Ergebnis zu bestätigen, dass nur für etwa 23 Prozent der Retentionssolute eine klinisch-pathologisch relevante Assoziation

auffinden ließ.

Wann sollte ein Retentionssolut als toxisch bezeichnet werden? Die von Vanholder et al. definierten Kriterien sind in der Praxis schwierig zu erfüllen, was von ihnen selbst eingeräumt wird. Insbesondere die gezielte Absenkung der Konzentration einer Substanz sei schwierig umzusetzen, da die betreffende Substanz häufig auf Grund ihres Molekulargewichts oder ihrer Proteinbindung nur ungenügend durch Dialyse entfernt werden könnte (129). Meyer und Hofstetter können kein einziges Solut erkennen, welches sämtliche Kriterien erfüllt und halten die meisten Urämiesolute für wahrscheinlich nicht toxisch (11). Almeras und Argiles reduzieren das Attribut „toxisch“ zu Retentionssoluten, die biologisch oder biochemisch aktiv sind (8). Zukünftige Definitionen der Toxizität könnten sich zwischen Vanholders 5 Kriterien und der Reduktion auf biologische Aktivität bewegen.

Dabei beeinflusst die Nachweisbarkeit einer Korrelation einer erhöhten Retentionssolutkonzentration zu urämischen Symptomen oder einer Dysfunktion eine nachfolgende Forschungstätigkeit. Aus dem Fehlen einer klinische Nachweisbarkeit eines „Nutzen durch Entfernung“ („benefit by removal“) folgt ein mangelnder Anreiz, verbesserte Methoden und Technologien zur Entfernung der Substanz aus dem urämischen Patienten zu entwickeln (12), und die erhöhte Wahrscheinlichkeit, das Studien eines individuellen Retentionssoluts keine klinisch relevanten Ergebnisse zeigen, schreckt von weiterer Forschungstätigkeit ab (11). Zukünftige Evaluationen könnten zeigen, ob die Eigenschaft der Datenbank, neben der Speicherung der Konzentrationen auch klinisch relevante Assoziationen zu erfassen, dieser Entwicklung entgegenwirken kann.

Orientierend an Vanholder et al. wurden Retentionssolute mit einem Molekulargewicht über 60 Kilodalton von der Erfassung ausgeschlossen, da sie nicht vom Glomerulum filtriert werden können (23). Dennoch sind die Plasmakonzentrationen von  $\alpha$ 2-Makroglobulin, Myeloperoxidase und endothel-assoziiertes Proteine, deren Molekulargewicht weit über 100 Kilodalton liegt, unter Urämie erhöht (130–132). Dass auch Verbindungen mit hohem Molekulargewicht eine diagnostische oder pathophysiologische Aussagekraft haben können, zeigen die Arbeiten von Suliman et al. und Schrijvers et al. zu erhöhten Konzentrationen von interzellulären und vaskulären Adhäsionsmolekülen und Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) bei Patienten mit chronischer Nierenkrankheit (133,134). Es ist daher vorstellbar, dass zukünftige Untersuchungen einen Einschluss von Molekülen über 60000 Dalton erfordern. Die Bedingung, dass die urämische Plasmakonzentration eines Retentionssoluts über der

normalgesunden liegen muß, wurde von einer Aufnahme einer Reihe von Verbindungen abgesehen, deren Konzentration unter Urämie *erniedrigt* ist. Dazu gehören Bilirubin,  $\alpha$ 1-Antitrypsin und Homoarginin, die antioxidativ, antiinflammatorisch und vasodilatatorisch assoziiert sind (9). Ihre reduzierte Konzentration könnte in zukünftigen Untersuchungen mit einem pathophysiologischen Effekt verknüpft werden und damit eine Klassifizierung als Urämietoxin erfordern.

### 5.3 Vergleichbarkeit von Plasmakonzentrationsmessungen

Die Datenbank fasst Konzentrationsmessungen urämischer Solute aus unterschiedlichen Studien zusammen, die zum Teil mehr als 20 Jahre zurückliegen. Die Arbeit von Meert et al. und die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass zum Teil große Schwankungen in den gemessenen Plasmakonzentrationen bestehen (24). Die Ursachen könnten in einer Reihe von Charakteristiken liegen, die aufgrund der Datenlage nicht erfasst wurden.

Dazu gehörten patientenseitig das Stadium der chronischen Nierenkrankheit, Altersverteilung, Vorerkrankungen, sozialer Status, metabolische und genetische Dispositionen, Lokalisation der Probanden und der Dialysestatus zum Zeitpunkt der Probenentnahme.

Dass eine unterschiedliche örtliche Lokalisation der Patienten einen Einfluß auf die Messergebnisse haben könnte, zeigt ein Vergleich der Studien von Lesaffer et al. mit einer nordeuropäischen und Fagugli et al. mit einer südeuropäischen Studienpopulation. Bei vergleichbarer Dialysestrategie und im selben Labor mit der selben Testmethode durchgeführten Messungen von CMPF wurde eine Konzentrationsdifferenz um den Faktor 5 ermittelt (21,135).

Weiterhin ist davon auszugehen, dass ein Großteil der Studienpopulation unter dialytischer Therapie stand, die definitionsgemäß eine Absenkung der Plasmakonzentrationen von Retentionslösungen zum Ziel hat. Zudem wurden wie bei Vanholder et al.

Konzentrationsmessungen von Patienten im prädialytischen Stadium unterschiedslos behandelt (23). Für die Beantwortung der Frage, inwieweit der Zeitpunkt der letzten Dialyse vor der Probenentnahme einen Einfluß auf Schwankungen in Konzentrationsmessungen hat, standen in dieser Arbeit keine ausreichenden Daten zur Verfügung. Durantoni et al. ermittelten in ihrer Studie einen Anteil von etwa 84% dialysepflichtiger Patienten und konnten hinsichtlich der urämischen Konzentration einer Auswahl von Soluten keinen signifikanten Unterschied gegenüber prädialytischen Patienten feststellen (9, Supplement 4).

Auch Meert et al. konnten in ihrer Untersuchung zur Streuungsbreite keinen wesentlichen

Einfluß der Dialyse auf die Ergebnisse herausarbeiten, vermuteten aber als Grund für eine wahrgenommene zeitliche Tendenz zu niedrigeren Werten verbesserte Dialysetechniken (24). Vanholder et al. schlussfolgern, dass im Vergleich zu unterschiedlichen Messmethoden selbst wesentliche Unterschiede in renaler Funktion oder Dialysestrategie nur einen geringen Einfluß auf die Konzentration von Retentionssoluten haben (128).

Eine retrospektive Ermittlung der zur Konzentrationsermittlung verwendeten Messmethoden (z.B. ELISA, Gaschromatographie, Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, Kernspinresonanzspektroskopie) war mit den gefundenen Daten nicht verlässlich durchführbar. Falls Angaben verfügbar waren, fehlten häufig genauere Beschreibungen der verwendeten Geräte und technologischen Hilfsmittel. Für zukünftige Evaluierungen wären nicht nur die Unterschiede zwischen den Messmethoden, sondern auch die einzelnen Methoden auf einer zeitlichen Ebene zu betrachten: Die ständige Verbesserung der noch jungen Verfahren sorgt dafür, dass sich rezente Arbeitsschritte und Hilfsmittel zur Methodendurchführung stark zu ihren eine Dekade zurückliegenden Vorgängern unterscheiden können.

So zeigte ein von Horowitz et al. mit asymmetrischem Dimethylarginin durchgeführter Vergleich der Quantifikationsmethoden durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie, ELISA und Massenspektrometrie eine große Ergebnisvariabilität nicht nur zwischen, sondern auch innerhalb der verwendeten Verfahren, wobei die Massenspektrometrie als zuverlässigste Methode bewertet wurde (136).

Meert et al. führen als Gründe für falsch hohe Konzentrationsmessungen mit chromatographischen Methoden zu hohe Sensitivität, Probenkontamination und eine gleichzeitige Eluierung mehrerer Verbindungen an. Falsch niedrige Messungen seien durch ineffiziente Extraktion und Derivatisierung, oder Materialverlust durch Absorption, Evaporation und Disintegration innerhalb einer fehlerhaft durchgeführten Vorbereitung möglich (24). Auch Mutsaers et al. warnen bei Kernspinresonanzspektroskopie vor durch die Fülle von Proteinen im Probenplasma verursachten breiten Signalspektren, welche Resonanzen niedrigmolekularer Verbindungen verschleiern können, und empfehlen zur Optimierung der Analyse kleinerer organischer Moleküle eine vorbereitende Deproteinisierung (26). Vanholder et al. stellten fest, dass selbst das bei der Umrechnung von molarer Masse zu Stoffmengenkonzentration benötigte Molekulargewicht je nach verwendetem Verfahren geringfügig abweichen kann, allerdings dürften aus der Differenz keine signifikanten Konzentrationsunterschiede resultieren (23).

Viele Retentionssolute entfalten zudem ihre biologische Aktivität nur in einer bestimmten strukturellen Variante. Vanholder et al. zeigten am Beispiel von Adrenomedullin, dass die biologisch aktive, reife Form nur etwa 10-15% der totalen Konzentration bildet, aber viele Studien nicht näher beschrieben haben, welche Form gemessen wurde (128). Bei proteingebundenen Retentionssoluten weist häufig nur der ungebundene Anteil eine biologische Aktivität auf. Dies wurde in der Datenbank berücksichtigt, indem freie und totale Konzentration eines Urämiesoluts separat aufgeführt wurden, wenn entsprechende Daten vorhanden waren. Meert et al. hoben hervor, dass totale und freie Konzentrationen fortlaufend in Verbindung stehen würden und daher totale Konzentrationen als stellvertretend für freie hinreichend akzeptabel wären (24).

Zu hohe oder zu niedrige Werte können bei in vitro durchgeführten Experimenten zu einer Über- oder Unterschätzung eines möglichen toxischen Effekts führen. Eine annähernd zutreffende normale und urämische Konzentration von Retentionssoluten ist daher von großer Bedeutung für eine korrekte Interpretation ihrer pathophysiologischen Rolle und der daraus folgenden Therapieentscheidungen, zum Beispiel einer fehlkalkulierten glomerulären Filtrationsrate oder einer inkorrekten Interpretation der Inhibition von iNOS durch asymmetrisches Dimethylarginin (23,128). Hinsichtlich der aufgeführten Charakteristiken bezeichnete schon Durantoni die Vergleichbarkeit von Solutplasmakonzentrationen verschiedener Studien als schwierig. Wenn möglich, nutze ihre Arbeitsgruppe interne Kontrollen für Normalkonzentrationen, gleichaltrige Studienpopulationen und selektierte Studien solche mit gleichartiger Technik.

Sensitivitätsanalysen verschiedener Normalkonzentrationen zeigten hierbei keine erheblichen Ergebnisabweichungen (9). Die in dieser Arbeit verwendete Varianzanalyse und Einteilung der Streubreite in die Kriterien A bis D sollte eine Einschätzung zur Zuverlässigkeit der zusammengefassten Konzentrationen geben. In dieser Hinsicht stellen die ermittelten Werte Orientierungshilfen dar, die variabel mit jeder neuen Dateneingabe verändert werden können. Zukünftige Evaluationen sollten zeigen, ob eine steigende Anzahl von Datenpunkten auch eine grössere Genauigkeit bedingen können. Ebenso ist eine Erweiterung der Datenbank für Informationen zum Dialysestatus, der Messmethoden und der örtliche Lokalisationen geplant.

#### **5.4 Anzahl der erfassten Retentionssolute**

Zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit umfasst die Datenbank 130 Retentionssolute, die kürzlich entwickelten neuen Quantifizierungstechnologien wie Proteomik und Metabolomik,

häufig unter dem Oberbegriff „Omiks“ zusammengefasst, deuten jedoch auf eine wesentlich höhere Anzahl hin. Schiffer et al. konnten zeigen, dass eine Proteomanalyse unter Anwendung der Kombination von Kapillarelektrophorese mit Massenspektrometrie eine Quantifikation von bis zu 1400 Verbindungen in einem einzelnen Arbeitsschritt erlaubt, wobei neben middle Molecules auch Polypeptide bis zu 10 Kilodalton erfasst werden können (25). Weissinger et al. konnten mit der gleichen proteomischen Methode mehr als 1000 unter Urämie erhöhte Polypeptide nachweisen, Toyohara et al. konnten mit metabolomischen Methoden eine Erhöhung von 9 zuvor nicht erfasster Verbindungen zeigen (27,74). Eine Erfassung dieser neuen, potentiell pathophysiologisch relevanten Retentionssolute war zum Zeitpunkt dieser Arbeit noch nicht möglich, denn die vorliegenden Daten konnten nur eine allgemeine Aussage über eine Erhöhung unter Urämie geben, ohne die betreffende Verbindung benennen oder Konzentrationsangaben bereitstellen zu können. Solcher Art identifizierte Verbindungen liessen sich aber als Hinweis nutzen, weiterführende Untersuchungen zu der betreffenden Verbindung in zukünftigen Studien durchzuführen. Vanholder et al. weisen darauf hin, dass die in Frage kommenden Verbindungen mit Hilfe der Biostatistik in Verbindung mit klinischen Ergebnissen gebracht werden könnten, um Hinweise auf neue Pathomechanismen zu erhalten (96). Ein solches Vorgehen könnte mit Hilfe der Datenbank zukünftig realisiert werden.

## 5.5 Pathologische Bezüge

Zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit umfasst die Datenbank 55 klinische Assoziationen, die zu 12 Pathologietypen zugeordnet wurden. Die Auswahl der Pathologietypen orientierte sich an den in Kapitel 1.2 genannten klinischen Manifestationen der Urämie. Es ist vorstellbar, dass es zukünftig zu Modifikationen dieser Einteilung kommt. So sind nicht nur weitere Manifestationsgebiete denkbar, sondern auch Überlappungen zwischen den Einteilungen möglich, beispielsweise zwischen hämatologischen und immunologischen Pathologien. Weiterhin wurden rein biochemische und Anomalien auf zellulärer Ebene, wie eine  $\text{Ca}^{2+}$ -Rezeptoren-Stimulanz in Zellkulturen, nur als Referenz aufgenommen, wenn eine praktische klinische Relevanz auffindbar war.

Viele Referenzen zeigen Retentionssolute als Marker für eine prädiktive klinische Einschätzung, nicht als toxische Mediatoren. Dies wurde als hinreichend klinisch relevant betrachtet, auch wenn ein kausaler Zusammenhang zu einer Pathologie nicht nachweisbar war. Mit der zukünftig zu erwartenden, steigenden Anzahl an möglichen klinischen Assoziationen könnte es auch zu Änderungen in diesem Bereich kommen. So wäre eine weitere Ebene denkbar, welche die

Auswirkungen eines konzentrationserhöhten Urämiesoluts in klinisch relevant und forschungsrelevant einteilt.

Bei den klinischen Assoziationen dominieren die kardiovaskulären Pathologietypen mit etwa 43% Prozent. Auch wenn dies mit der häufigsten Todesursache der chronischen Nierenkrankheit in Deutschland korreliert (4), könnten auch weitere Faktoren zu diesem Übergewicht geführt haben. Wie Meyer und Hofstätter feststellten, wurden diejenigen Retentionssolute, welche die höchsten Konzentrationen aufweisen, auch am meisten untersucht, und paradoxerweise hat die Entwicklung der Dialyse die Urämieforschung erschwert, da viele Symptome nur noch stark abgeschwächt wahrzunehmen sind oder ganz fehlen (11). Diesem Gedanken folgend, könnten Forschungsprojekte mit kardiovaskulären Fragestellungen aufgrund ihrer sozialmedizinischen Bedeutung eine höhere Gewichtung erfahren und eine höhere Aufmerksamkeit bei aufgefundenen Pathomechanismen versprechen. Dazu existieren in diesem Bereich eine Vielzahl von Messparametern, die den Erfolg einer Studie sichtbar und nachvollziehbar machen können. Daher sollte die Verteilung der gefundenen klinischen Assoziationen auch unter diesem Aspekt betrachtet werden.

## **5.6 Vorteile einer digitalen Erfassung und ihrer gemeinsamen Nutzung**

Nach der Einteilung von Collen handelt es sich bei dem hier beschriebenen Informationssystem um eine Forschungsdatenbank (30), Embi und Payne verwenden den übergreifenderen Begriff „Clinical Research Informatics (CRI)“ für eine Informationsinfrastruktur, die eine Verbesserung der Qualität und Effizienz in der klinischen Forschung bezeichnet. In Folge der fortschreitenden Entwicklungen in den biomedizinischen Wissenschaften wird eine effiziente Forschung mit qualitativ hochwertigen Resultaten benötigt und die klinische Forschung muss sich zunehmend mit immer komplexeren Informationsmanagementproblemen beschäftigen. Daten aus der klinischen Versorgung zur Sekundärverwertung in der klinischen Forschung nutzbar zu machen ist damit zu einer Wettbewerbsanforderung geworden (137).

Die Datenbank für urämische Retentionssolute soll hierbei helfen, indem durch die Konzentration der Forschungsergebnisse an einem gemeinsamen Ort ein strukturiertes Wissenssystem aufgebaut werden soll. Die Zugänglichkeit des Systems im Internet ermöglicht die öffentliche Verfügbarkeit der gespeicherten sowie eine Eingabe von neuen Daten für Dritte. Die Förderung der aktiven Teilnahme, des Austauschs von Informationen und der Anpassung und Optimierung existierender Daten soll einen Wissensgewinn für zukünftige

Forschungsprojekte erzielen, der in einer Verbesserung der Therapie und des Behandlungsmanagements der Urämie unter der fortgeschrittenen chronischen Nierenkrankheit münden soll. Die Vorteile einer solchen gemeinsamen Nutzung von Forschungsdaten wurden bereits 1985 von Fienberg et al. beschrieben (138).

Dazu gehört die Stärkung einer offenen, wissenschaftlichen Prüfung, die Verifizierung, Widerlegung oder Verbesserung der ursprünglichen Ergebnisse und der Schutz vor fehlerhaften Daten. Dies soll einerseits durch die vor der Veröffentlichung stattfindende Überprüfung der eingegebenen Daten durch fachlich qualifizierte Mitglieder, andererseits durch die öffentliche Zugänglichkeit der Datenbank erreicht werden. Zum Zeitpunkt dieser Arbeit liessen sich bereits zwei Ereignisse diesem Vorteil zuordnen: Eine Überprüfung der eingegebenen Daten innerhalb der Eutox-Gruppe führte zu einem Erratum (9), und ein Korrekturvorschlag von Prof. Douglas Sweet vom Medical College of Virginia zu Indoxylsulfat konnte in kurzer Zeit umgesetzt werden.

Ein weiterer von Fienberg beschriebener Vorteil ist die Förderung neuer Forschungsvorhaben durch existierende Daten. Neben der Zusammenfassung des Forschungsstandes an einem zentralen Ort wäre es denkbar, durch die Sammlung und Analyse der Konzentrationsangaben und der pathologischen Bezüge eine Definition von Kriterien zu erarbeiten, die diejenigen Retentionssolute markieren, bei denen eine forschende Tätigkeit im Hinblick auf eine toxisch-pathologische Wirkung am erfolgversprechendsten erscheint. Ein Beispiel wären Verbindungen mit einem hohen relativen Konzentrationsanstieg und einem nicht signifikanten p-Wert der Varianzanalyse, bei denen bereits pathologische Assoziationen einer Gruppe erfasst wurden. Weitere Vorteile der gemeinsamen Nutzung von Forschungsdaten sieht Fienberg im Ansporn einer sachgemäßen Nutzung empirische Daten durch Richtlinienformulierung und Evaluation, einer Verbesserung der Mess- und Datenerfassungsmethoden und der Kenntnisse zu Analysetechniken.

Birney and Clamp beschreiben als spezifisches Problem biomedizinischer Datenbanken, dass eine endgültige Interpretation erfasster Daten nicht nur langfristig Veränderungen erfahren kann, sondern dass die Entdeckung neuer Informationsbeziehungen Teil der primären Motivation zur Erstellung der Datensammlung ist (139). Auch für die hier beschriebene Datenbank zeigte sich bereits zum Zeitpunkt der Erstellung dieser Arbeit, dass eine zukünftige Anpassung oder Erweiterung der erfassten Datensätze zu Retentionssoluten um Dialysestatus, Altersverteilung, Lokalisation oder Messmethoden die Erkennung neuer Beziehungen und daraus folgend neuer

Erkenntnisse zur Folge haben könnte.

Dieser Prozess wäre durch eine Formulierung von Empfehlungen erweiterbar, auf den zukünftige Studiendesigns abgestimmt werden könnten. Für in vitro-Experimente existieren bereits spezifische Empfehlungen für eine standardisierte Durchführung an einem biologischen Modell, welches die zelluläre Dysfunktion repräsentiert (52). Mögliche biologische Effekte sind Proteinmodifikation, Rezeptorstimulanz, Veränderung eines zellulären Signalwegs oder die Interaktion mit anderen Verbindungen, welche die Substanz inhibieren, neutralisieren oder abbauen (140). Auch in diesem Bereich könnte eine standardisierte Datenerfassung neue Zusammenhänge im urämischen Krankheitsbild herstellen.

### **5.7 Referenzierung externer Datenbanken**

Bei der Modellierung der Datenbanktabelle für Referenzen wurde ein Attribut "type" festgelegt, das zur Zeit bei allen Referenzen den Wert "pmid" für eine Pubmed ID enthält. Um weitere medizinisch-biologische Datenbanken zu referenzieren, können zukünftig andere Werte als Typ-Attribut einer Referenz verwendet werden. Hierdurch ist die Webapplikation in der Lage, referenzierte Quellen zur Laufzeit durch Anpassung des automatisierten Datenaustauschs unterschiedlich zu behandeln.

Externe medizinisch-biologische Datenbanken bieten zum Teil Schnittstellen zur Inklusion ihrer Daten an, die den Informationsgehalt der hier beschriebenen Webapplikation noch erheblich steigern könnte.

So bietet die Kidney and Urinary Pathway Knowledge Base (KUPKB) einen digitalen Zugang zu Ergebnissen experimenteller Arbeiten im Bereich der Nierenphysiologie und -pathologie an (141), und weiterführende Informationen zum der dem Retentionsolot zugrundeliegenden chemischen Verbindung liessen sich aus der PubChem-Datenbank des National Center for Biotechnology Information (NCBI) abrufen, die chemische Strukturen und biologische Aktivitäten organischer Verbindungen erfasst (142). Eine weitere Datenbank ist Metacyc, die metabolische Pfade speichert (143). Die kanadische Human Metabolome Database enthält Informationen zu mehr als 2000 endogenen Metaboliten des menschlichen Organismus, die aus Büchern, Artikeln und anderen elektronischen Datenbanken erfasst wurden. Sie sammelt außerdem experimentelle Konzentrationsangaben aus Massenspektrometrie- und Kernspinresonanzanalysen von Metaboliten in Blut, Urin und zerebrospinalen Liquor (144). Aber auch die Webapplikation könnte ihrerseits Schnittstellen schaffen, die einen automatisierten Zugang zu den gespeicherten Informationen ermöglichen würden. Damit würde ein Ansatz zur

Lösung eines Problems angeboten, den Bry und Kröger beschrieben haben: Bei biologischen Datenbanken ist die Einbindung externer Datenbanken eine wichtige und häufig vorkommende Anforderung. Die deutlichen Differenzen einzelner biologischer Datenbanken hinsichtlich ihrer Datenmodellierung, ihres Speichermodells sowie ihrer Analyse- und Abfragemethoden wird der Bedeutung ihrer gewünschten Interoperabilität nicht gerecht (32). Mithilfe standardisierter Datenaustauschformate wie XML/XSD oder rezenter Ansätze über ein REST-API/JSON kann eine solche Interoperabilität weitgehend gewährleistet werden und damit die gemeinsame Nutzung noch stärker betonen.

Zwar stellen die beschriebenen Änderungen auf der medizinischen als auch technischen Seite anspruchsvolle Aufgaben dar, doch merkt Russ Altman an, dass diese von der soziologischen Herausforderung in den Schatten gestellt werden, die wissenschaftliche Welt zu überzeugen, ihre Daten auf Wegen abseits der Publikationsliteratur zur Verfügung zu stellen (145).

## 6 Literaturverzeichnis

1. Herold G. Innere Medizin 2012: eine vorlesungsorientierte Darstellung ; unter Berücksichtigung des Gegenstandskataloges für die Ärztliche Prüfung ; mit ICD 10-Schlüssel im Text und Stichwortverzeichnis. Köln: Selbstverl.; 2012.
2. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease.
3. Eckardt K-U, Berns JS, Rocco MV, Kasiske BL. Definition and classification of CKD: the debate should be about patient prognosis--a position statement from KDOQI and KDIGO. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2009 Jun;53(6):915–20.
4. Frei U, Schober-Halstenberg H. Nierenersatztherapie in Deutschland: Bericht über Dialysebehandlung und Nierentransplantation in Deutschland 2006/2007. Berlin: Quasi-Niere; 2008.
5. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2002 Feb;39(2 Suppl 1):S1–266.
6. Meyer TW, Hostetter TH. Uremia. *N Engl J Med.* 2007;357(13):1316–25.
7. Vanholder R, Meert N, Schepers E, Glorieux G. Uremic toxins: do we know enough to explain uremia? *Blood Purif.* 2008;26(1):77–81.
8. Almeras C, Argilés A. The general picture of uremia. *Semin Dial.* 2009 Aug;22(4):329–33.
9. Durantou F, Cohen G, De Smet R, Rodriguez M, Jankowski J, Vanholder R, et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. *J Am Soc Nephrol JASN.* 2012 Jul;23(7):1258–70.
10. I.3 When to start dialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2002 Jul 1;17(90007):10–1.
11. Meyer TW, Hostetter TH. Pathophysiology of Uremia. In: Brenner BM, Rector FC, editors. *Brenner & Rector's the kidney.* 9th ed. Philadelphia, PA: Elsevier/Saunders; 2012. p. 2000–20.
12. Vanholder R, Glorieux G, De Smet R, Lameire N, European Uremic Toxin Work Group. New insights in uremic toxins. *Kidney Int Suppl.* 2003 May;(84):S6–10.
13. Glasscock RJ. Uremic toxins: what are they? An integrated overview of pathobiology and classification. *J Ren Nutr Off J Counc Ren Nutr Natl Kidney Found.* 2008 Jan;18(1):2–6.
14. Vanholder R, De Smet R. Pathophysiologic effects of uremic retention solutes. *J Am Soc Nephrol JASN.* 1999 Aug;10(8):1815–23.
15. Vanholder RC, Glorieux GL. An overview of uremic toxicity. *Hemodial Int Int Symp Home Hemodial.* 2003 Apr 1;7(2):156–61.

16. Vanholder R, Van Laecke S, Glorieux G. The middle-molecule hypothesis 30 years after: lost and rediscovered in the universe of uremic toxicity? *J Nephrol*. 2008 Apr;21(2):146–60.
17. Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, Daugirdas JT, Greene T, Kusek JW, et al. Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *N Engl J Med*. 2002 Dec 19;347(25):2010–9.
18. Cheung AK, Levin NW, Greene T, Agodoa L, Bailey J, Beck G, et al. Effects of high-flux hemodialysis on clinical outcomes: results of the HEMO study. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2003 Dec;14(12):3251–63.
19. Delmez JA, Yan G, Bailey J, Beck GJ, Beddhu S, Cheung AK, et al. Cerebrovascular disease in maintenance hemodialysis patients: results of the HEMO Study. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2006 Jan;47(1):131–8.
20. Jourde-Chiche N, Dou L, Cerini C, Dignat-George F, Vanholder R, Brunet P. Protein-bound toxins--update 2009. *Semin Dial*. 2009 Aug;22(4):334–9.
21. Lesaffer G, De Smet R, Lameire N, Dhondt A, Duym P, Vanholder R. Intradialytic removal of protein-bound uraemic toxins: role of solute characteristics and of dialyser membrane. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2000 Jan;15(1):50–7.
22. Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Removal of middle molecules and protein-bound solutes by peritoneal dialysis and relation with uremic symptoms. *Kidney Int*. 2003 Dec;64(6):2238–43.
23. Vanholder R, De Smet R, Glorieux G, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, et al. Review on uremic toxins: classification, concentration, and interindividual variability. *Kidney Int*. 2003 May;63(5):1934–43.
24. Meert N, Schepers E, De Smet R, Argiles A, Cohen G, Deppisch R, et al. Inconsistency of reported uremic toxin concentrations. *Artif Organs*. 2007 Aug;31(8):600–11.
25. Schiffer E, Mischak H, Vanholder RC. Exploring the uremic toxins using proteomic technologies. *Contrib Nephrol*. 2008;160:159–71.
26. Mutsaers HAM, Engelke UFH, Wilmer MJG, Wetzels JFM, Wevers RA, van den Heuvel LP, et al. Optimized metabolomic approach to identify uremic solutes in plasma of stage 3-4 chronic kidney disease patients. *PloS One*. 2013;8(8):e71199.
27. Weissinger EM, Kaiser T, Meert N, De Smet R, Walden M, Mischak H, et al. Proteomics: a novel tool to unravel the patho-physiology of uraemia. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2004 Dec;19(12):3068–77.
28. Hersh WR. A stimulus to define informatics and health information technology. *BMC Med Inform Decis Mak*. 2009;9(1):24.
29. International Organization for Standardization. International Classification for Standards 35.240.80: IT applications in health care technology [Internet]. International Organization for

- Standardization, Geneva, Switzerland.; Available from:  
[http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue\\_ics/catalogue\\_ics\\_browse.htm?  
ICS1=35&ICS2=240&ICS3=80](http://www.iso.org/iso/home/store/catalogue_ics/catalogue_ics_browse.htm?ICS1=35&ICS2=240&ICS3=80)
30. Collen MF. Computer medical databases: the first six decades (1950-2010). London ; New York: Springer; 2012. 288 p.
  31. Maojo V. Bioinformatics and Medical Informatics: Collaborations on the Road to Genomic Medicine? J Am Med Inform Assoc. 2003 Aug 4;10(6):515–22.
  32. Bry F, Kröger P. A Computational Biology Database Digest: Data, Data Analysis, and Data Management. Distrib Parallel Databases. 2003;13(1):7–42.
  33. Shortliffe EH, Cimino JJ, editors. Biomedical Informatics: computer applications in health care and biomedicine [Internet]. London: Springer London; 2014 [cited 2014 Aug 23]. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4471-4474-8>
  34. LINKS: Molecular Biologist’s Companion. Science. 2005 May 6;308(5723):769d – 769d.
  35. Fielding R, Gettys J, Mogul J, Frystyk H, Masinter L, Leach P, et al. RFC 2616, Hypertext Transfer Protocol – HTTP/1.1 [Internet]. 1999. Available from: <http://www.rfc.net/rfc2616.html>
  36. Berners-Lee T, Connolly D. Hypertext Markup Language - 2.0 [Internet]. IETF; 1995. Available from: <http://www.ietf.org/rfc/rfc1866.txt>
  37. Shklar L. Web application architecture: principles, protocols, and practices. Chichester, England ; Hoboken, NJ: John Wiley; 2003. 357 p.
  38. National Library of Medicine. PubMed Health [Internet]. 2011. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmedhealth/>
  39. Balzert H, Liggesmeyer P, Schwichtenberg H. Lehrbuch der Softwaretechnik Entwurf, Implementierung, Installation und Betrieb [Internet]. Heidelberg: Spektrum Akademischer Verlag; 2011 [cited 2013 Oct 10]. Available from: <http://site.ebrary.com/id/10494391>
  40. Institute of Electrical and Electronics Engineers, IEEE Computer Society, Software Engineering Standards Subcommittee, IEEE Standards Association, IEEE Standards Board. IEEE recommended practice for architectural description. New York: Institute of Electrical and Electronics Engineers; 2000.
  41. Fowler M. Patterns of enterprise application architecture. Boston: Addison-Wesley; 2003. 533 p.
  42. Kemper A, Eickler A. Datenbanksysteme: eine Einführung. München [u.a.]: Oldenbourg; 2006.
  43. Codd EF. A relational model of data for large shared data banks. Commun ACM. 1970 Jun;13(6):377–87.

44. Silberschatz A. Database system concepts. 5th ed. Boston: McGraw-Hill Higher Education; 2006. 1142 p.
45. Connolly TM. Database systems: a practical approach to design, implementation, and management. 4th ed. Harlow, Essex, England ; New York: Addison-Wesley; 2005. 1374 p.
46. Elmasri R. Fundamentals of database systems. 6th ed. Boston: Addison-Wesley; 2011. 1172 p.
47. Chen PP-S. The entity-relationship model—toward a unified view of data. *ACM Trans Database Syst.* 1976 Mar;1(1):9–36.
48. Jamison DC. Structured Query Language (SQL) fundamentals. *Curr Protoc Bioinforma Ed Board Andreas Baxevanis Al.* 2003 Feb;Chapter 9:Unit9.2.
49. Baltasar Sánchez A, González-Sistal A. Design of a Web-tool for diagnostic clinical trials handling medical imaging research. *J Digit Imaging.* 2011 Apr;24(2):196–202.
50. Delisle M, Limeback R, Kulkarni M. Creating your MySQL database practical design tips and techniques: a short guide for everyone on how to structure their data and set up their MySQL database tables efficiently and easily [Internet]. Birmingham, U.K.: Packt Pub.; 2006 [cited 2013 Sep 30]. Available from: <http://www.books24x7.com/marc.asp?bookid=25594>
51. Chen R, Enberg G, Klein GO. Julius--a template based supplementary electronic health record system. *BMC Med Inform Decis Mak.* 2007;7:10.
52. Cohen G, Glorieux G, Thornalley P, Schepers E, Meert N, Jankowski J, et al. Review on uraemic toxins III: recommendations for handling uraemic retention solutes in vitro--towards a standardized approach for research on uraemia. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2007 Dec;22(12):3381–90.
53. Cohen BH. Explaining psychological statistics. 3rd ed. Hoboken, N.J: Wiley; 2008. 825 p.
54. Toothaker LE, Banz M, Noble C, Camp J, Davis D. N = 1 Designs: The Failure of ANOVA-Based Tests. *J Educ Stat.* 1983;8(4):289.
55. Lackritz JR. Exact p Values for F and t Tests. *Am Stat.* 1984 Nov;38(4):312.
56. Chu A, Cui J, Dinov ID. SOCR Analyses: Implementation and Demonstration of a New Graphical Statistics Educational Toolkit. *J Stat Softw [Internet].* 2009 [cited 2015 Oct 27];30(3). Available from: <http://www.jstatsoft.org/v30/i03/>
57. Pezzullo JC. Analysis of Variance from Summary Data. *Analysis of Variance from Summary Data.*
58. Soper D. Analysis of Variance Calculator from Summary Data [Internet]. *Analysis of Variance Calculator from Summary Data.* [cited 2015 Aug 15]. Available from: <http://www.danielsoper.com/statcalc3/calc.aspx?id=43>

59. Dinov I. SOCR High-precision Normal, Student's T, Chi-Square and F Calculators [Internet]. SOCR High-precision Normal, Student's T, Chi-Square and F Calculators. Available from: [http://socr.umich.edu/Applets/Normal\\_T\\_Chi2\\_F\\_Tables.html](http://socr.umich.edu/Applets/Normal_T_Chi2_F_Tables.html)
60. Soper D. p-Value calculator for an F-Test [Internet]. p-Value calculator for an F-Test. [cited 2015 Aug 15]. Available from: <http://www.danielsoper.com/statcalc3/calc.aspx?id=7>
61. Postel J, Reynolds J. RFC 959, File Transfer Protocol (FTP) [Internet]. IETF; 1985. Available from: <http://www.ietf.org/rfc/rfc959.txt>
62. Host Europe [Internet]. [cited 2015 Jul 29]. Available from: <https://www.hosteurope.de/>
63. MySQL [Internet]. [cited 2015 Jul 29]. Available from: <http://www.mysql.com/>
64. NetBeans [Internet]. [cited 2015 Jul 29]. Available from: <https://netbeans.org/>
65. Lie H, Bos B, Lilley C. RFC 2318, The text/css Media Type [Internet]. IETF; 1998. Available from: <http://www.ietf.org/rfc/rfc2318.txt>
66. D3.js [Internet]. [cited 2015 Jul 29]. Available from: <http://d3js.org/>
67. Git [Internet]. [cited 2015 Jul 29]. Available from: <http://www.git-scm.com/>
68. Langer S, Stewart B. Aspects of computer security: A primer. *J Digit Imaging*. 1999 Aug;12(3):114–31.
69. Díez JJ, Iglesias P, Fernández-Reyes MJ, Aguilera A, Bajo MA, Alvarez-Fidalgo P, et al. Serum concentrations of leptin, adiponectin and resistin, and their relationship with cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2005 Feb;62(2):242–9.
70. Perna AF, Ingrosso D, Zappia V, Galletti P, Capasso G, De Santo NG. Enzymatic methyl esterification of erythrocyte membrane proteins is impaired in chronic renal failure. Evidence for high levels of the natural inhibitor S-adenosylhomocysteine. *J Clin Invest*. 1993 Jun;91(6):2497–503.
71. Chudek J, Adamczak M, Karkoszka H, Budziński G, Ignacy W, Funahashi T, et al. Plasma adiponectin concentration before and after successful kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2003 Sep;35(6):2186–9.
72. Martinez AW, Recht NS, Hostetter TH, Meyer TW. Removal of P-cresol sulfate by hemodialysis. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2005 Nov;16(11):3430–6.
73. Vanholder R, Bammens B, de Loor H, Glorieux G, Meijers B, Schepers E, et al. Warning: the unfortunate end of p-cresol as a uraemic toxin. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2011 May;26(5):1464–7.
74. Toyohara T, Akiyama Y, Suzuki T, Takeuchi Y, Mishima E, Tanemoto M, et al. Metabolomic profiling of uremic solutes in CKD patients. *Hypertens Res Off J Jpn Soc Hypertens*. 2010 Sep;33(9):944–52.

75. Igarashi K, Ueda S, Yoshida K, Kashiwagi K. Polyamines in renal failure. *Amino Acids*. 2006 Nov;31(4):477–83.
76. Cohen G, Rudnicki M, Schmaldienst S, Hörl WH. Effect of dialysis on serum/plasma levels of free immunoglobulin light chains in end-stage renal disease patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2002 May;17(5):879–83.
77. Johnson WJ, Hagge WW, Wagoner RD, Dinapoli RP, Rosevear JW. Effects of urea loading in patients with far-advanced renal failure. *Mayo Clin Proc*. 1972 Jan;47(1):21–9.
78. Kraus LM, Kraus AP. Carbamoylation of amino acids and proteins in uremia. *Kidney Int Suppl*. 2001 Feb;78:S102–7.
79. Wang Z, Nicholls SJ, Rodriguez ER, Kummu O, Hökkö S, Barnard J, et al. Protein carbamylation links inflammation, smoking, uremia and atherogenesis. *Nat Med*. 2007 Oct;13(10):1176–84.
80. D’Apolito M, Du X, Pisanelli D, Pettoello-Mantovani M, Campanozzi A, Giacco F, et al. Urea-induced ROS cause endothelial dysfunction in chronic renal failure. *Atherosclerosis*. 2015 Apr;239(2):393–400.
81. Glorieux GL, Dhondt AW, Jacobs P, Van Langeraert J, Lameire NH, De Deyn PP, et al. In vitro study of the potential role of guanidines in leukocyte functions related to atherogenesis and infection. *Kidney Int*. 2004 Jun;65(6):2184–92.
82. D’Hooge R, Van de Vijver G, Van Bogaert P-P, Marescau B, Vanholder R, De Deyn PP. Involvement of voltage- and ligand-gated Ca<sup>2+</sup> channels in the neuroexcitatory and synergistic effects of putative uremic neurotoxins. *Kidney Int*. 2003 May;63(5):1764–75.
83. De Deyn PP, D’Hooge R, Van Bogaert PP, Marescau B. Endogenous guanidino compounds as uremic neurotoxins. *Kidney Int Suppl*. 2001 Feb;78:S77–83.
84. Bode-Böger SM, Scalera F, Kielstein JT, Martens-Lobenhoffer J, Breithardt G, Fobker M, et al. Symmetrical dimethylarginine: a new combined parameter for renal function and extent of coronary artery disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2006 Apr;17(4):1128–34.
85. Zoccali C, Bode-Böger S, Mallamaci F, Benedetto F, Tripepi G, Malatino L, et al. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet*. 2001 Dec 22;358(9299):2113–7.
86. Kielstein JT, Impraim B, Simmel S, Bode-Böger SM, Tsikas D, Frölich JC, et al. Cardiovascular effects of systemic nitric oxide synthase inhibition with asymmetrical dimethylarginine in humans. *Circulation*. 2004 Jan 20;109(2):172–7.
87. Niwa T, Tohyama K, Kato Y. Analysis of polyols in uremic serum by liquid chromatography combined with atmospheric pressure chemical ionization mass spectrometry. *J Chromatogr*. 1993 Mar 5;613(1):9–14.
88. Niwa T, Sobue G, Maeda K, Mitsuma T. Myoinositol inhibits proliferation of cultured Schwann cells: evidence for neurotoxicity of myoinositol. *Nephrol Dial Transplant Off Publ*

- Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc. 1989;4(7):662–6.
89. Simenhoff ML, Burke JF, Saukkonen JJ, Ordinario AT, Doty R. Biochemical profile or uremic breath. *N Engl J Med*. 1977 Jul 21;297(3):132–5.
  90. Mitchell SC, Zhang AQ. Methylamine in human urine. *Clin Chim Acta Int J Clin Chem*. 2001 Oct;312(1-2):107–14.
  91. Pirisino R, Ghelardini C, Pacini A, Galeotti N, Raimondi L. Methylamine, but not ammonia, is hypophagic in mouse by interaction with brain Kv1.6 channel subtype. *Br J Pharmacol*. 2004 May;142(2):381–9.
  92. Kock R, Delvoux B, Sigmund M, Greiling H. A comparative study of the concentrations of hypoxanthine, xanthine, uric acid and allantoin in the peripheral blood of normals and patients with acute myocardial infarction and other ischaemic diseases. *Eur J Clin Chem Clin Biochem J Forum Eur Clin Chem Soc*. 1994 Nov;32(11):837–42.
  93. Rasić-Milutinović Z, Perunčić-Peković G, Pljesa S. [Clinical significance and pathogenic mechanisms of insulin resistance in chronic renal insufficiency (part II): pathogenic factors of insulin resistance in chronic renal insufficiency]. *Med Pregl*. 2000 Apr;53(3-4):159–63.
  94. Drüeke TB. Beta2-microglobulin and amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2000;15 Suppl 1:17–24.
  95. Schwalbe S, Holzhauer M, Schaeffer J, Galanski M, Koch KM, Floege J. Beta 2-microglobulin associated amyloidosis: a vanishing complication of long-term hemodialysis? *Kidney Int*. 1997 Oct;52(4):1077–83.
  96. Vanholder R, Van Laecke S, Glorieux G. What is new in uremic toxicity? *Pediatr Nephrol Berl Ger*. 2008 Aug;23(8):1211–21.
  97. Ueda K, Teragawa H, Kimura M, Matsuda K, Higashi Y, Yamagata T, et al. Adrenomedullin causes coronary vasodilation in humans: effects of inhibition of nitric oxide synthesis. *J Cardiovasc Pharmacol*. 2005 Oct;46(4):534–9.
  98. Cases A, Esforzado N, Lario S, Vera M, Lopez-Pedret J, Rivera-Fillat F, et al. Increased plasma adrenomedullin levels in hemodialysis patients with sustained hypotension. *Kidney Int*. 2000 Feb;57(2):664–70.
  99. Eto T, Kitamura K, Kato J. Biological and clinical roles of adrenomedullin in circulation control and cardiovascular diseases. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 1999 Jun;26(5-6):371–80.
  100. Yoshihara F, Horio T, Nakamura S, Yoshii M, Ogata C, Nakahama H, et al. Adrenomedullin reflects cardiac dysfunction, excessive blood volume, and inflammation in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2005 Sep;68(3):1355–63.
  101. Menon V, Li L, Wang X, Greene T, Balakrishnan V, Madero M, et al. Adiponectin and mortality in patients with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2006 Sep;17(9):2599–606.

102. Becker B, Kronenberg F, Kielstein JT, Haller H, Morath C, Ritz E, et al. Renal insulin resistance syndrome, adiponectin and cardiovascular events in patients with kidney disease: the mild and moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2005 Apr;16(4):1091–8.
103. Young GA, Woodrow G, Kendall S, Oldroyd B, Turney JH, Brownjohn AM, et al. Increased plasma leptin/fat ratio in patients with chronic renal failure: a cause of malnutrition? *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 1997 Nov;12(11):2318–23.
104. Ottonello L, Gnerre P, Bertolotto M, Mancini M, Dapino P, Russo R, et al. Leptin as a uremic toxin interferes with neutrophil chemotaxis. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2004 Sep;15(9):2366–72.
105. Scholze A, Rattensperger D, Zidek W, Tepel M. Low serum leptin predicts mortality in patients with chronic kidney disease stage 5. *Obes Silver Spring Md*. 2007 Jun;15(6):1617–22.
106. Woodrow G, Turney JH, Davison AM, Cooper EH. Serum hyaluronan concentrations predict survival in patients with chronic renal failure on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 1996 Jan;11(1):98–100.
107. Takeda M, Babazono T, Nitta K, Iwamoto Y. High glucose stimulates hyaluronan production by renal interstitial fibroblasts through the protein kinase C and transforming growth factor-beta cascade. *Metabolism*. 2001 Jul;50(7):789–94.
108. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G, Benedetto FA, Parlongo S, Cutrupi S, et al. Prospective study of neuropeptide y as an adverse cardiovascular risk factor in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2003 Oct;14(10):2611–7.
109. Yamaji T, Ishibashi M, Takaku F, Sato F, Kamoi K, Nakaoka H, et al. Clinical significance of atrial natriuretic peptide in human blood. *Jpn J Med*. 1987 May;26(2):207–11.
110. Wright M, Woodrow G, O'Brien S, Armstrong E, King N, Dye L, et al. Cholecystokinin and leptin: their influence upon the eating behaviour and nutrient intake of dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc*. 2004 Jan;19(1):133–40.
111. Ottosson-Seeberger A, Lundberg JM, Alvestrand A, Ahlborg G. Exogenous endothelin-1 causes peripheral insulin resistance in healthy humans. *Acta Physiol Scand*. 1997 Oct;161(2):211–20.
112. Dhaun N, Goddard J, Webb DJ. The endothelin system and its antagonism in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol JASN*. 2006 Apr;17(4):943–55.
113. Niwa T. Phenol and p-cresol accumulated in uremic serum measured by HPLC with fluorescence detection. *Clin Chem*. 1993 Jan;39(1):108–11.
114. Cerini C, Dou L, Anfosso F, Sabatier F, Moal V, Glorieux G, et al. P-cresol, a uremic

- retention solute, alters the endothelial barrier function in vitro. *Thromb Haemost.* 2004 Jul;92(1):140–50.
115. Faure V, Cerini C, Paul P, Berland Y, Dignat-George F, Brunet P. The uremic solute p-cresol decreases leukocyte transendothelial migration in vitro. *Int Immunol.* 2006 Oct;18(10):1453–9.
116. Schepers E, Meert N, Glorieux G, Goeman J, Van der Eycken J, Vanholder R. P-cresylsulphate, the main in vivo metabolite of p-cresol, activates leucocyte free radical production. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2007 Feb;22(2):592–6.
117. Liabeuf S, Barreto DV, Barreto FC, Meert N, Glorieux G, Schepers E, et al. Free p-cresylsulphate is a predictor of mortality in patients at different stages of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2010 Apr;25(4):1183–91.
118. Jankowski J, van der Giet M, Jankowski V, Schmidt S, Hemeier M, Mahn B, et al. Increased plasma phenylacetic acid in patients with end-stage renal failure inhibits iNOS expression. *J Clin Invest.* 2003 Jul;112(2):256–64.
119. Schmidt S, Westhoff TH, Krauser P, Ignatius R, Jankowski J, Jankowski V, et al. The uraemic toxin phenylacetic acid impairs macrophage function. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2008 Nov;23(11):3485–93.
120. Cohen G, Hörl WH. Retinol binding protein isolated from acute renal failure patients inhibits polymorphonuclear leucocyte functions. *Eur J Clin Invest.* 2004 Nov;34(11):774–81.
121. Sun C-Y, Chang S-C, Wu M-S. Uremic toxins induce kidney fibrosis by activating intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system associated epithelial-to-mesenchymal transition. *PloS One.* 2012;7(3):e34026.
122. Wu I-W, Hsu K-H, Lee C-C, Sun C-Y, Hsu H-J, Tsai C-J, et al. p-Cresyl sulphate and indoxyl sulphate predict progression of chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2011 Mar;26(3):938–47.
123. Rana I, Kompa AR, Skommer J, Wang BH, Lekawanvijit S, Kelly DJ, et al. Contribution of microRNA to pathological fibrosis in cardio-renal syndrome: impact of uremic toxins. *Physiol Rep.* 2015 Apr;3(4).
124. Harpel PC, Zhang X, Borth W. Homocysteine and hemostasis: pathogenic mechanisms predisposing to thrombosis. *J Nutr.* 1996 Apr;126(4 Suppl):1285S – 9S.
125. Robinson K, Gupta A, Dennis V, Arheart K, Chaudhary D, Green R, et al. Hyperhomocysteinemia confers an independent increased risk of atherosclerosis in end-stage renal disease and is closely linked to plasma folate and pyridoxine concentrations. *Circulation.* 1996 Dec 1;94(11):2743–8.
126. Mallamaci F, Zoccali C, Tripepi G, Fermo I, Benedetto FA, Cataliotti A, et al. Hyperhomocysteinemia predicts cardiovascular outcomes in hemodialysis patients. *Kidney*

- Int. 2002 Feb;61(2):609–14.
127. Francis ME, Eggers PW, Hostetter TH, Briggs JP. Association between serum homocysteine and markers of impaired kidney function in adults in the United States. *Kidney Int.* 2004 Jul;66(1):303–12.
128. Vanholder R, Meert N, Schepers E, Glorieux G, Argiles A, Brunet P, et al. Review on uraemic solutes II--variability in reported concentrations: causes and consequences. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2007 Nov;22(11):3115–21.
129. Vanholder R, Argilés A, Baurmeister U, Brunet P, Clark W, Cohen G, et al. Uremic toxicity: present state of the art. *Int J Artif Organs.* 2001 Oct;24(10):695–725.
130. Lindström V, Grubb A, Alquist Hegbrant M, Christensson A. Different elimination patterns of beta-trace protein, beta2-microglobulin and cystatin C in haemodialysis, haemodiafiltration and haemofiltration. *Scand J Clin Lab Invest.* 2008;68(8):685–91.
131. Capeillère-Blandin C, Gausson V, Nguyen AT, Descamps-Latscha B, Drüeke T, Witko-Sarsat V. Respective role of uraemic toxins and myeloperoxidase in the uraemic state. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2006 Jun;21(6):1555–63.
132. Jourde-Chiche N, Dou L, Sabatier F, Calaf R, Cerini C, Robert S, et al. Levels of circulating endothelial progenitor cells are related to uremic toxins and vascular injury in hemodialysis patients. *J Thromb Haemost JTH.* 2009 Sep;7(9):1576–84.
133. Suliman ME, Qureshi AR, Heimbürger O, Lindholm B, Stenvinkel P. Soluble adhesion molecules in end-stage renal disease: a predictor of outcome. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2006 Jun;21(6):1603–10.
134. Schrijvers BF, Flyvbjerg A, De Zeeuw AS. The role of vascular endothelial growth factor (VEGF) in renal pathophysiology. *Kidney Int.* 2004 Jun;65(6):2003–17.
135. Fagugli RM, De Smet R, Buoncristiani U, Lameire N, Vanholder R. Behavior of non-protein-bound and protein-bound uremic solutes during daily hemodialysis. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found.* 2002 Aug;40(2):339–47.
136. Horowitz JD, Heresztyn T. An overview of plasma concentrations of asymmetric dimethylarginine (ADMA) in health and disease and in clinical studies: methodological considerations. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007 May 15;851(1-2):42–50.
137. Embi PJ, Payne PRO. Clinical research informatics: challenges, opportunities and definition for an emerging domain. *J Am Med Inform Assoc JAMIA.* 2009 Jun;16(3):316–27.
138. Stephen E. Fienberg Margaret E. Martin, Miron L. Straf NRC Editors; Committee on National Statistics. *Sharing Research Data* [Internet]. The National Academies Press; 1985. Available from: [http://www.nap.edu/openbook.php?record\\_id=2033](http://www.nap.edu/openbook.php?record_id=2033)

139. Birney E. Biological database design and implementation. *Brief Bioinform.* 2004 Jan 1;5(1):31–8.
140. Glorieux G, Vanholder R. New uremic toxins - which solutes should be removed? *Contrib Nephrol.* 2011;168:117–28.
141. Jupp S, Klein J, Schanstra J, Stevens R. Developing a kidney and urinary pathway knowledge base. *J Biomed Semant.* 2011;2 Suppl 2:S7.
142. Bolton EE, Wang Y, Thiessen PA, Bryant SH. PubChem: Integrated Platform of Small Molecules and Biological Activities. In: *Annual Reports in Computational Chemistry* [Internet]. Elsevier; 2008 [cited 2015 Nov 12]. p. 217–41. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1574140008000121>
143. Caspi R, Altman T, Billington R, Dreher K, Foerster H, Fulcher CA, et al. The MetaCyc database of metabolic pathways and enzymes and the BioCyc collection of Pathway/Genome Databases. *Nucleic Acids Res.* 2014 Jan 1;42(D1):D459–71.
144. Wishart DS, Tzur D, Knox C, Eisner R, Guo AC, Young N, et al. HMDB: the Human Metabolome Database. *Nucleic Acids Res.* 2007 Jan;35(Database issue):D521–6.
145. Altman RB. Building successful biological databases. *Brief Bioinform.* 2004 Mar;5(1):4–5.

## 7 Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Omar Abou Deif, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Erfassung urämischer Retentionsolute durch eine interaktive Datenbank“ 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](http://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

## **8 Lebenslauf**

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

## 9 Danksagung

Ich danke Prof. Dr. Walter Zidek für seine freundliche und uneingeschränkte Betreuung. Außerdem möchte ich Prof. Dr. Angel Argiles, Chairman der European Uremic Toxin Workgroup, für seine Unterstützung danken.

Ich danke auch Björn Bengelsdorf für seine Geduld und Beratung bei statistischen Themen. Dank schulde ich auch den vielen unbekanntem Autoren der quelloffenen Software, die ich nutzen konnte, ohne sie wäre diese Arbeit nicht möglich gewesen.

Ich danke dem ehemaligen Schulleiter des Hamburger Kaiser-Friedrich-Ufer Gymnasiums, Dr. Rainer Schmitz.

Mein größter Dank gilt Romy, David und Yvonne Abou Deif, die alle auf ihre Weise sehr viel beigetragen haben.