

Aus dem Center for Cardiovascular Research
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Eignen sich die Proteine S100a12 und Calprotectin bei
kontrastmittelinduziertem Nierenversagen als Biomarker im
Urin?

Untersuchung anhand einer prospektiven klinischen Studie

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Gina Franziska von Einem

aus Göttingen

Datum der Promotion: 11.12.2015

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungsverzeichnis	IV
Abbildungsverzeichnis	V
Tabellenverzeichnis.....	VI
Zusammenfassung	VII
Abstract.....	VIII

Gliederung

1 EINLEITUNG	1
1.1 Die kontrastmittelinduzierte Nephropathie (CIN)	2
1.1.1 Inzidenz und Risikofaktoren.....	4
1.1.2 Prävention.....	7
1.1.3 Ätiologie und pathophysiologische Hypothesen.....	8
1.2 Die S100- Proteinfamilie.....	11
1.2.1 S100a12 und Calprotectin (S100a8/9).....	13
1.2.2 S100a12 und Calprotectin in der Funktion als Biomarker	17
2 FRAGESTELLUNG	18
3 MATERIAL UND METHODEN.....	19
3.1 Die „CIN“-Studie	19
3.2 Studienablauf und -endpunkte.....	20
3.3 Probengewinnung und labortechnische Messung	23
3.3.1 Bestimmung von Kreatinin	23
3.3.2 Bestimmung von Calprotectin und S100a12.....	24
3.4 Statistische Auswertung und Definitionen	25
3.4.1 Berechnung der eGFR.....	27
3.4.2 Definitionen.....	27

4	ERGEBNISSE	29
4.1	Patientenauswahl	29
4.2	Beschreibung der Gesamtkohorte	30
4.2.1	Verteilung der S100a12-Werte.....	32
4.2.2	Verteilung der Calprotectin-Werte.....	34
4.3	Analyse des primären Endpunkts (CIN)	35
4.3.1	S100a12 als Biomarker für CIN	38
4.3.2	Calprotectin als Biomarker für CIN.....	41
4.4	Analyse der sekundären Endpunkte.....	45
4.4.1	S100a12 und Calprotectin als Biomarker der sekundären Endpunkte..	47
4.4.2	Kombinierte Endpunktanalyse	48
4.5	Geschlechtsspezifische Unterschiede von S100a12 und Calprotectin	51
4.6	Zusammenfassung der Ergebnisse	58
5	DISKUSSION.....	59
5.1	Kreatinin und seine Nachteile	59
5.2	Diskussion der Einschlusskriterien und Studienkohorte	60
5.3	S100a12 als Biomarker für CIN	61
5.4	Calprotectin als Biomarker für CIN	62
5.5	S100a12 und Calprotectin im Serum als Studienlimitation	65
5.6	S100a12 und Calprotectin als Biomarker der sekundären Endpunkte	66
5.7	Geschlechtsspezifische Unterschiede	69
5.8	Studienlimitationen und Wissenschaftsausblick	70
	Literaturverzeichnis.....	72
	Anhang	79
	Eidesstattliche Versicherung	88
	Lebenslauf.....	90
	Publikationsliste	91
	Danksagung	92

Abkürzungsverzeichnis

ACC	Acetylcystein
ANV	akutes Nierenversagen
AKIN	acute kidney injury network
BMI	body mass index
Ca ²⁺	Calciumion
CIN	Kontrastmittel induzierte Nephropathie
CRP	C-reaktives-Protein
DAMP	Damage-associated molecular pattern proteins
DRG	Diagnosis Related Groups
GFR	glomeruläre Filtrationsrate
HUGO	Gene Nomenclatur Comitee
IABP	intraaortale Ballonpumpe
ITS	Intensivstation
KH	Krankenhaus
KHK	koronare Herzkrankheit
KM	Kontrastmittel/ Kontrastmittelgabe
MDRD	Modification of Diet in renal disease
MACE	major adverse cardiovascular event
MW	Mittelwert
NaCl	Natriumchlorid
O ₂	Sauerstoff
NYHA	New York Heart Association
ROC	Receiver Operating Characteristic
ROS	reaktive Sauerstoffspezies
SD	Standardabweichung
SW	Spannweite
TLR	Toll-like-Rezeptor
Vgl.	Vergleich/ vergleiche
Zn ²⁺	Zinkion

Abbildungsverzeichnis

Abb. 1 Schema des Punktsystems in Anlehnung an den Mehran-Riskscore (26).....	6
Abb. 2 Pathophysiologische Mechanismen der CIN.....	9
Abb. 3 Schematischer Aufbau eines S100-Proteins.....	12
Abb. 4 Studienablauf.....	21
Abb. 5 ELISA-Sandwich-Technik.....	25
Abb. 6 Patientenauswahl für die Auswertungen.....	29
Abb. 7 Verteilung der S100a12-Konzentrationen in der Gesamtkohorte <i>vor</i> KM.....	32
Abb. 8 Verteilung der S100a12-Konzentrationen in der Gesamtkohorte <i>24h nach</i> KM.....	33
Abb. 9 Verteilung der Calprotectin-Konzentration in der Gesamtkohorte <i>vor</i> KM.....	34
Abb. 10 Verteilung der Calprotectin-Konzentration in der Gesamtkohorte <i>24h nach</i> KM.....	34
Abb. 11 S100a12-Konzentration <i>vor</i> KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN..	39
Abb. 12 S100a12-Konzentration <i>24h nach</i> KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN.....	40
Abb. 13 ROC-Analyse von S100a12 <i>vor</i> KM und <i>24h nach</i> KM (ng/ml) für CIN.....	41
Abb. 14 Calprotectin-Konzentration <i>vor</i> KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN.....	43
Abb. 15 Calprotectin-Konzentration <i>24h nach</i> KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN	43
Abb. 16 ROC-Analyse Calprotectin <i>vor</i> KM und <i>24h nach</i> KM (ng/ml) für CIN.....	44
Abb. 17 S100a12-Konzentration <i>vor</i> KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht.....	54
Abb. 18 S100a12-Konzentration <i>24h nach</i> KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht..	55
Abb. 19 Calprotectin-Konzentration <i>vor</i> KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht.....	57
Abb. 20 Calprotectin-Konzentration <i>24h nach</i> KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht.....	57

Tabellenverzeichnis

Tab. 1 Darstellung der primären und sekundären Endpunkte	22
Tab. 2 Definition der Kohortencharakteristika	28
Tab. 3 Beschreibung der Gesamtkohorte	31
Tab. 4 Kohortenvergleich von Patienten mit und ohne CIN	36
Tab. 5 S100a12-Konzentration, Vgl. Patienten mit und ohne CIN.....	38
Tab. 6 Calprotectin-Konzentration, Vgl. Patienten mit CIN und ohne CIN	42
Tab. 7 Kohortenbeschreibung unterteilt nach Endpunkten.....	45
Tab. 8 Beschreibung der Kohorte in der Kombinierten Endpunktanalyse.....	49
Tab. 9 S100a12-Konzentration in der Kombinierten Endpunktanalyse.....	50
Tab. 10 Calprotectin-Konzentration in der kombinierten Endpunktanalyse	51
Tab. 11 Kohortenbeschreibung unterteilt nach Geschlecht	52
Tab. 12 S100a12-Konzentration unterteilt nach Geschlecht.....	53
Tab. 13 Calprotectin-Konzentration unterteilt nach Geschlecht.....	56

Zusammenfassung

Hintergrund: Kontrastmittelgestützte Untersuchungsverfahren finden in steigender Zahl Anwendung. Kontrastmittelinduziertes Nierenversagen (CIN) ist dabei eine unerwünschte Wirkung. Risikofaktoren hierfür sind, z.B. hohes Alter, Diabetes mellitus, Herz- oder Niereninsuffizienz. Diese Risiken nehmen aufgrund des demographischen Wandels zu. Die CIN ist mit einem schlechteren Kurz- und Langzeit-Outcome der betroffenen Patienten verbunden.

Die gängige Definition der CIN basiert auf der Messung des Serum-Kreatinin, durch die das Nierenversagen jedoch erst 24-72h nach Kontrastmittelgabe angezeigt wird. Angesichts der sehr kurzen mittleren Krankenhausverweildauer von Patienten, stellt sich die Frage nach einem Biomarker, der eine CIN früher diagnostiziert.

S100a12 und Calprotectin sind S100-Proteine, die in hoher Konzentration in aktivierten Granulozyten vorkommen, aber auch im Gewebe induzierbar sind. Sie gehören zu den „Damage-associated molecular pattern proteins“ (DAMP). Intrazellulär erfüllen sie Aufgaben der Zellhomöostase. Bei einem Zellschaden werden sie jedoch frei und verursachen die Aktivierung und Aufrechterhaltung einer Immunantwort.

Ziel dieser Arbeit ist, Calprotectin und S100a12 im Urin als Biomarker für eine CIN zu untersuchen. Zusätzlich wird ein Zusammenhang mit dem Outcome der Patienten drei Monate nach Kontrastmittelgabe anhand sekundärer Endpunkte betrachtet.

Methode: Basis dieser Arbeit ist eine prospektive Studie an 314 Patienten mit erhöhtem Risiko für eine CIN. Alle Patienten erhielten eine elektive Herzkatheteruntersuchung. Aus Urinproben *vor* und *24h nach* KM wurde S100a12 und Calprotectin bestimmt. Gleichzeitig erfolgte eine Serum-Kreatininmessung. Zusätzlich wurde Kreatinin nach 48h bestimmt. Drei Monate nach Kontrastmittelgabe wurden die Probanden in einer Follow-up-Untersuchung auf die Endpunkte: „Verdopplung des Serumkreatinins“, „Dialyse“, „weitere Krankenhausaufenthalte“ und „Tod“ hin untersucht und erhielten eine weitere Serum-Kreatininmessung.

Ergebnisse: 21 (7,4%) von 283 Patienten der Studienkohorte erlitten eine CIN. Die Analyse der Biomarker zeigte, dass CIN-Patienten *24h nach* Kontrastmittelgabe signifikant höhere S100a12-Werte haben, als Patienten ohne CIN. Bei der Auswertung hinsichtlich der Calprotectin-Konzentration ergaben sich bei Patienten

mit CIN nicht signifikant höhere Konzentrationen *vor* und *24h nach* Kontrastmittelgabe.

Patienten, die zum Zeitpunkt der Follow-up-Untersuchung einen Endpunkt erreicht hatten, wiesen jeweils *vor* und *24h nach* Kontrastmittelgabe höhere S100a12- und Calprotectin-Konzentrationen auf, als Patienten, die keinen der beschriebenen Endpunkte erreichten. Dies erwies sich jedoch als nicht signifikant.

Ein weiteres Ergebnis ist ein hoch signifikanter Unterschied der S100a12- und Calprotectin-Konzentrationen *vor* und *24h nach* KM in Abhängigkeit vom Geschlecht. Die weiblichen Patienten wiesen hierbei höhere Werte auf als die männlichen.

Schlussfolgerung: S100a12 eignet sich potentiell als Biomarker für die Diagnostik der CIN. Calprotectin erscheint in diesem Zusammenhang ungeeignet. Es sollten ergänzende Studien durchgeführt werden, um dies zu bestätigen.

Im Bezug auf das Outcome der Patienten anhand der sekundären Endpunkte ergaben sich für S100a12 und Calprotectin keine signifikanten Ergebnisse.

Abstract

Background: There are a rising number of patients undergoing radiocontrast media-enhanced examinations. Contrast media-induced kidney injury (CIN) is a side effect of the radiocontrast agent. Due to demographic changes, the incidence of risk factors for CIN-, such as advanced age, diabetes mellitus and cardiac or renal failure will increase. CIN is associated with worse short-and long-term outcomes. Today's common definition of CIN is based on measurement of the serum creatinine, which only indicates renal failure 24-72hrs after administration of radiocontrast media. It is necessary to find an earlier biomarker to indicate CIN.

S100a12 and calprotectin are proteins that occur in high concentrations in activated granulocytes and can be induced in tissue. They belong to the "Damage-associated molecular pattern proteins" (DAMP) and fulfill the duties of intracellular homeostasis. During tissue or cell damage they are responsible for the activation and amplification of an immune response.

The goal of this paper is to examine calprotectin and S100a12 in urine as a biomarker for CIN. Additionally, calprotectin and S100a12 are analyzed regarding the outcome based on specific endpoints three months after the administration of the contrast medium.

Methods: We performed a prospective study on 314 patients with an increased risk for CIN undergoing percutaneous coronary angiography. Urine samples before and 24h after contrast media application were collected. S100a12 and calprotectin were measured. At the same time, creatinine samples were taken from the blood. Three months after administration of the contrast medium, data regarding the endpoints: "doubling of serum creatinine", "dialysis", "non-elective hospitalizations" and "death" were collected and another blood sample for creatinine measurement taken.

Results: 21 (7,4%) out of 283 patients developed CIN. The results show that patients who developed CIN had significantly higher S100a12-levels than patients without CIN, 24hrs after administration of contrast medium. The calprotectin-level was not significantly higher before and 24hrs after contrast administration in patients with CIN. The patients who reached an endpoint, had higher S100a12- and calprotectin-levels before and 24hrs after contrast administration, compared to patients who did not reach an endpoint. However, this difference proved to be statistically insignificant. There is also strong evidence for a gender-dependent difference of S100a12- and calprotectin-levels before and 24hrs after contrast administration, with women having higher levels.

Conclusion: S100a12 has the potential to be a promising biomarker detecting CIN. Calprotectin is as a biomarker rather unsuitable in this context. It is necessary to carry out further studies to confirm this. In terms of patient outcome on the basis of secondary endpoints no significant results for S100A12 and calprotectin were found.

1 EINLEITUNG

"Mit solchen Kunststückchen habilitiert man sich in einem Zirkus und nicht an einer anständigen deutschen Klinik!". Dies waren die Worte, die der Berliner Chirurg Ferdinand Sauerbruch zum späteren Nobelpreisträger Werner Forßmann sagte, als er ihn 1929 aus der Berliner Charité entließ. In einem Selbstversuch hatte sich Werner Forßmann den ersten Herzkatheter über eine Armvene eingeführt und eine Röntgenaufnahme angefertigt, während sich die Spitze des Katheters im rechten Vorhof seines Herzens befand. Mit diesem unkonventionellen Vorgehen wollte er die Ungefährlichkeit der Untersuchungsmethode demonstrieren (1).

Weltweit sind heutzutage kathetergestützte Verfahren aus der Klinik nicht mehr wegzudenken. Sie sind von unschätzbarem Wert bei der Behandlung von bspw. Herzinfarkten oder arteriellen Verschlusskrankheiten. Bei der Untersuchung wird jodhaltiges Kontrastmittel (KM) intravasal verabreicht, um einen Dichteunterschied zwischen den Gefäßen und dem umliegenden Gewebe zu erreichen. Auf diese Weise werden Pathologien wie z.B. Stenosen dargestellt. Laut Angaben der deutschen Gesellschaft für Kardiologie stieg allein die Anzahl der diagnostischen Herzkatheteruntersuchungen in Deutschland von 2000 bis 2008 insgesamt um 30% (von 594.898 auf 845.172) (2). Durch die steigende Anzahl dieser Untersuchungen erhöht sich analog auch der Kontrastmittelverbrauch. Mit steigenden Kontrastmittelapplikationen nimmt das Auftreten der damit einhergehenden, unerwünschten Wirkungen ebenfalls zu. Diese sind z.B. anaphylaktoide Früh- und Spätreaktionen, Schmerzen, Störungen des Schilddrüsenhormonhaushaltes und – vermutlich ökonomisch am bedeutendsten- die kontrastmittelinduzierte Nephropathie, von deren Diagnostik diese Arbeit handelt.

Der erste Fall von kontrastmittelinduziertem Nierenversagen (CIN) wurde bereits im Jahre 1942 beschrieben (3). Zusammen mit anderen medikamenteninduzierten Nephropathien ist die CIN für 11%-26,5% der akuten Nierenversagen im Krankenhaus verantwortlich (4-6). Patienten, die eine CIN entwickeln, haben während ihres Krankenhausaufenthaltes ein 5,5-fach erhöhtes Mortalitätsrisiko gegenüber Patienten ohne CIN (7). Weitere Studien haben gezeigt, dass unabhängig von der ursprünglichen Nierenfunktion eines Patienten, die CIN mit einem längeren Krankenhausaufenthalt, einer höheren Rate an krankenhausaufenthaltsbezogenen Komplikationen und einer gesteigerten 1-Jahres-Mortalität positiv korreliert (4, 8, 9).

Besonders zu bedenken ist, dass die KM gestützten Untersuchungen zwar notwendig sind, es sich bei der CIN jedoch um eine allein iatrogen verursachte Komplikation handelt.

Für verschiedene Erkrankungen gibt es heutzutage in der Medizin relativ zuverlässige laborchemische Marker, wie z.B. das Troponin T bei einem Herzinfarkt und die D-Dimere bei einer Lungenembolie. Für die CIN existiert derzeit ein solcher Marker noch nicht. Bislang werden die Messungen von Kreatinin und die Berechnung der glomerulären Filtrationsrate als Funktionsparameter diagnostisch zur Hilfe genommen.

In dieser Arbeit wird anhand einer prospektiven Studie untersucht, ob sich die Proteine, S100a12 und Calprotectin als Marker im Urin zur Detektion einer CIN und Prognose bestimmter weiterer Endpunkte drei Monate nach KM eignen.

Hierzu werden zunächst Grundlagen erläutert und dann das Studiendesign, die erfassten Parameter sowie Analysemethoden vorgestellt. Anschließend werden die Ergebnisse präsentiert und ausführlich diskutiert.

1.1 Die kontrastmittelinduzierte Nephropathie (CIN)

Kreatinin wird seit mehr als 60 Jahren als endogener Marker für die Nierenfunktion genutzt (10). Es ist ein spontan entstehendes, nichtenzymatisches Abbauprodukt des Phosphokreatinins der Muskulatur und eine harnpflichtige Substanz. Von der Niere wird Kreatinin bei normalen Serumkonzentration frei filtriert und weder sezerniert, noch rückresorbiert. Bei hohen Serumkonzentrationen von Kreatinin, kann die tubuläre Sekretionsrate jedoch ansteigen. Die Syntheserate von Kreatinin ist proportional abhängig von der Muskelmasse eines Menschen. Somit gibt es innerhalb der Bevölkerung eine große Variationsbreite der Normalwerte, abhängig von Alter, Geschlecht, Ernährungszustand und ethnischer Herkunft.

Für Kreatinin gibt es vom jeweiligen klinischen Labor vorgegebene Normwertgrenzen. Das Problem ist, dass diese für alle Patienten vereinheitlicht sind und sich wenig an den genannten Faktoren orientieren. Das heißt, dass ein Wert, der gerade noch im Normalbereich liegt, bei einem stattlichen, jungen Mann eine gute Nierenfunktion angibt, wo hingegen die dünne, ältere Frau schon an einer ausgeprägten Einschränkung ihrer Nierenfunktion leidet.

Zusätzlich können sich die absoluten Basalwerte intraindividuell je nach Hydratationsstatus um 10-20% unterscheiden (11). Ein weiterer Einflussfaktor ist bspw. erhöhter Fleischkonsum, der den Kreatinin-Spiegel steigen lassen kann. Zusätzlich kann die Kreatininkonzentration in der photometrischen Messung im Labor durch bestimmte Medikamente, wie z.B. Cephalosporine, Acetylsalicylsäure oder Metabolite wie Billirubin verfälscht und zu hoch gemessen werden (12, 13).

Insgesamt zeigt sich also, dass der Kreatinin-Wert eines Patienten von zahlreichen Faktoren beeinflusst wird.

Eine weitere Möglichkeit zur Evaluation der Nierenfunktion ist die glomeruläre Filtrationsrate (GFR). Zur genauen Bestimmung der GFR ist als Goldstandard die Messung der Kreatinin-Clearance durch eine 24-h-Sammelurin-Untersuchung notwendig. Die Clearance gibt an, wie viel Plasmavolumen pro Minute von der Substanz befreit wird. Die 24h- Sammelurin-Untersuchungen sind zeitaufwändig, belastend für die Patienten und durch häufige Verluste beim Urinsammeln sehr fehlerbehaftet. Deswegen entwickelten Cockraft und Gault bereits 1976 eine der ersten noch heute verwendeten Formeln zur Abschätzung der GFR (estimated GFR eGFR) (14). Eine weitere Formel wurde 1999 im Rahmen der „Modification of Diet in renal disease“ (MDRD)-Studie an einem größeren Patientenkollektiv (1628 Patienten) entwickelt (15). Sie ist eine geeignete Screeningmethode für Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion. Eine Vereinfachung der ursprünglichen Formel macht es möglich, anhand einer Serum-Kreatinin-Messung die GFR indirekt abzuschätzen (Formel [1]). Es besteht eine inverse nichtlineare Korrelation zwischen Kreatinin und eGFR.

[1]

$$\text{eGFR [ml/min/1,73m}^2\text{]} = 186 \cdot (\text{Serumkreatinin [mg/dl]})^{-1,154} \cdot (\text{Alter [Jahre]})^{-0,203} \\ (\cdot 0,742 \text{ falls weiblich})$$

Das Kreatinin ist im Allgemeinen kein zuverlässiger Parameter für eine nur leichte Nierenschädigung. Der Serumkreatininspiegel erhöht sich erst, wenn die GFR um mehr als 50% gesunken ist. Dies wird auch als kreatininblinder Bereich bezeichnet. Trotzdem ist Kreatinin ein lange im klinischen Gebrauch etablierter Standardparameter für die Nierenfunktion und wird auch nach Kontrastmittelgabe zur Überwachung dieser eingesetzt.

Die CIN ist definiert als: Eine akute Abnahme der Nierenfunktion 24-72h nach parenteraler Applikation von Kontrastmittel unter dem Ausschluss anderer Ursachen. Als pathologisch wird ein Anstieg des Kreatinin um $\geq 25\%$ oder $0,5 \text{ mg/dl}$ ($44 \mu\text{mol/l}$) innerhalb von 24-72h angesehen.(4, 8, 16-19)

In nur sehr wenigen Fällen leiden die Patienten dabei an einer An- oder Oligourie, was die rein klinische Diagnostik erschwert. Nach dem Anstieg fällt das Kreatinin meist innerhalb von zwei Wochen wieder auf den Ausgangswert. Häufig bleibt die CIN somit unentdeckt. Zumal nach dem heutigen DRG-System (Diagnosis Related Group System) die Patienten z.B. nach einer unkomplizierten diagnostischen Angiographie eine mittlere Verweildauer von nur einem Tag in der Klinik haben und die Überwachung der Nierenfunktion sich auf diese Weise in die ambulante Patientenversorgung verschiebt. Hier wird sie, da die vorangegangene Kontrastmittelgabe nicht so präsent ist und mangels Aufklärung der Hausärzte, oft vergessen. Die Auswertung eines amerikanischen Registers stellt sogar die problemlose Anwendung ambulanter Herzkatheteruntersuchungen dar (20, 21), was, sollte dies auch in Deutschland umgesetzt werden das Problem noch weiter verschärfen würde.

Entsprechend kann die CIN wegen der heutigen Rahmenbedingungen vermutlich in vielen Fällen gar nicht erkannt werden. Somit wird sie in Folge auch nicht behandelt. Eine unbehandelte CIN kann persistieren und bis zur dialysepflichtigen terminalen Niereninsuffizienz führen (22).

1.1.1 Inzidenz und Risikofaktoren

In der Literatur finden sich Angaben zur Inzidenz von CIN, die von 2%-50% reichen (8, 23, 24), wobei das generelle Risiko der Normalbevölkerung recht gering ist. Betrachtet man jedoch Subgruppen mit einzelnen oder kombinierten Risikofaktoren, so steigt die Wahrscheinlichkeit eines KM-induzierten Nierenversagens. Aufgrund des, in Kapitel 1.1.3 beschriebenen, Pathomechanismus kommen alle Erkrankungen, die eine Prädisposition zur medullären Oxygenierungsinsuffizienz in der Niere aufweisen, als Risikofaktoren in Frage. Hierzu zählen Erkrankungen, zu deren pathophysiologischen Mechanismen eine reduzierte Herzleistung, koexistierende vasokonstriktive Stimuli, ein reduzierter renaler Perfusionsdruck, die Änderung der rheologischen Eigenschaften des Blutes, eine Linksverschiebung der

Sauerstoffbindungskurve und eine Erhöhung des renalen Sauerstoffbedarfs gehören. Solche Erkrankungen sind z.B. Herzinsuffizienz, koronare Herzkrankheit (KHK), Diabetes mellitus, nephrotoxische Medikamenteneinnahme, Multiples Myelom, Anämie und viele weitere.

Der wichtigste Risikofaktor für die CIN ist eine vorbestehende Niereninsuffizienz. Sie ist definiert als basale $GFR < 60 \text{ ml/min/1.73m}^2$ über einen Zeitraum von mehr als drei Monaten (25).

Die Arbeitsgruppe um Mehran et al. entwickelte als erste ein einfaches Punktsystem, das für die Kombination von Risikofaktoren ein prozentuales Risiko für die Entwicklung einer CIN angibt (26). Das Punktesystem enthält patientenbezogene und prozedereabhängige Risikofaktoren. Patientenbezogene Risikofaktoren sind in Abb.1 hellblau dargestellt. Es handelt sich dabei um periprozedurale Hypotonie, chronische Herzinsuffizienz, Patientenalter über 75 Jahren, Anämie, Diabetes mellitus und chronische Niereninsuffizienz. Prozedereabhängige Risikofaktoren sind in Abb.1 dunkelblau dargestellt. Hierzu gehören große KM-Mengen und der Einsatz einer intraaortalen Ballonpumpe zur Kreislaufunterstützung.

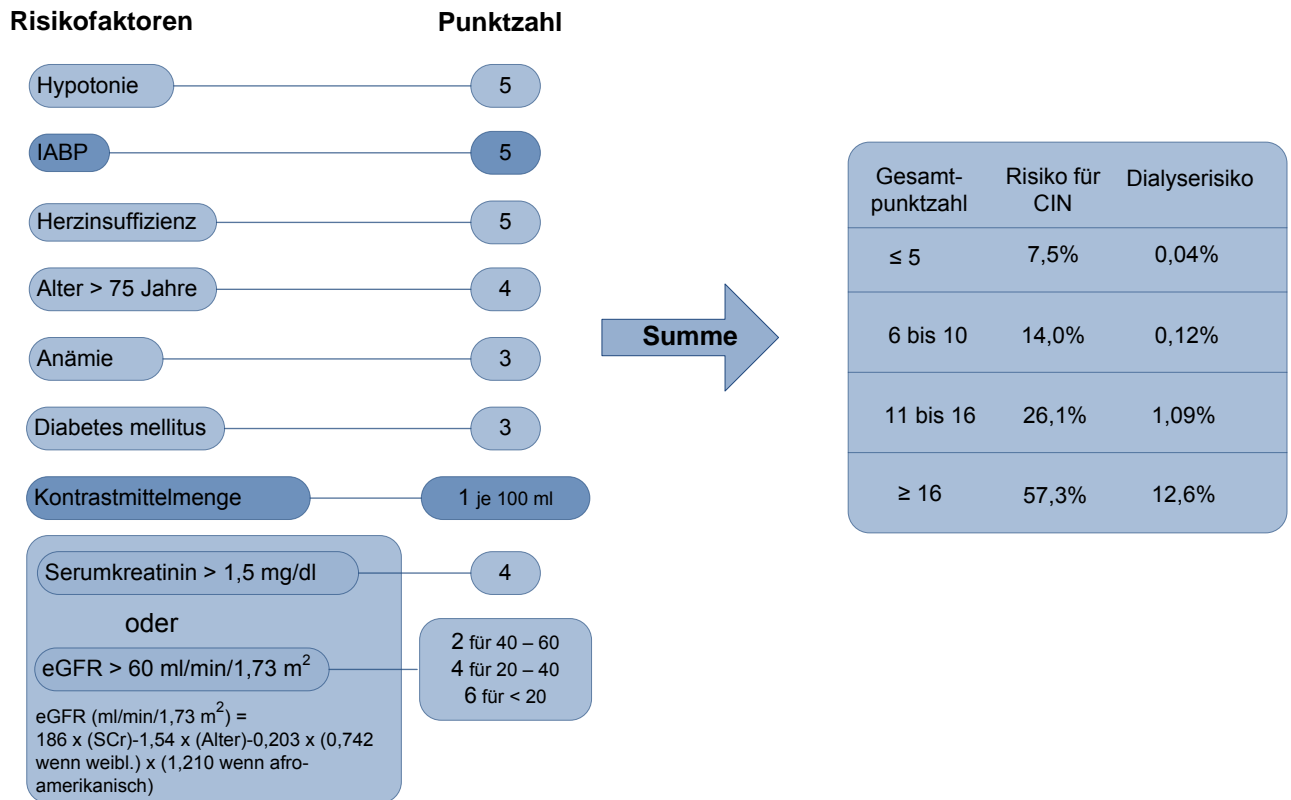


Abb. 1 Schema des Punktsystems in Anlehnung an den Mehran-Riskscore (26)

[Hypotonie: systolischer Blutdruck <80mmg für mindestens 1h und medikamentöse Kreislaufunterstützung; IABP: Intraaortale-Ballonpumpe innerhalb von 24h periprozedural; Herzinsuffizienz: Klasse III-IV der New York Heart Association und/oder Lungenödem; Anämie: Hämatokrit < 39% für Männer; <36% für Frauen; Dialyserisiko: Dialyse während dem Krankenhausaufenthalt]

Wie sich der Abb.1 entnehmen lässt, wird den einzelnen Risikofaktoren eine Punktzahl zugeordnet. Die Summe der Punkte ergibt eine Gesamtpunktzahl mit der die Möglichkeit besteht, die Wahrscheinlichkeit für ein CIN und/oder eine Dialyse für die einzelnen Patienten abzuschätzen. Die Wahrscheinlichkeit wächst mit steigender Punktzahl.

Allgemein ist zu bedenken, dass durch den demographischen Wandel der Gesellschaftsstruktur die Inzidenz der chronischen Niereninsuffizienz vermutlich zunehmen wird. Gleichzeitig können durch den medizintechnischen Fortschritt auch vermehrt ältere und morbidere Patienten immer aufwändigeren, bildgebenden Verfahren und Angioplastien unterzogen werden, die eine große Kontrastmittelmenge benötigen. Insgesamt ist zu erwarten, dass zukünftig immer häufiger Patienten mit hohem Risiko (siehe Abb.1) Kontrastmittel bekommen.

1.1.2 Prävention

Für die CIN gibt es zurzeit noch keine kausale Therapie. Deswegen ist eine gute Präventionsstrategie notwendig. Die "European-Society of Urogenital Radiologie" und das "American College of Radiology (A.C.R.) Committee on Drugs and Contrast Media" geben regelmäßig Leitlinien zur Patientensicherheit unter Kontrastmittelgebrauch heraus (27, 28).

Beide Organisationen stimmen in den aktuellen Fassungen ihrer Publikationen darin überein, dass eine ausreichende Hydratation des Patienten, das Absetzen nephrotoxischer Medikamente und die Verwendung einer möglichst geringen KM-Mengen, die einzigen evidenzbasierten Präventionsstrategien sind.

Die Idee der Hydratation besteht darin, die Fließeigenschaften des Blutes zu verbessern und die Kontaktzeit des KM mit der Niere zu verringern (siehe Kapitel 1.1.3). Die Toxizität wird folglich herabgesetzt. Vollständig verhindert werden kann eine CIN dadurch nicht, das Risiko kann aber gesenkt werden.

Zusätzlich empfiehlt die "European Society of Urogenital Radiologie" auf eine sorgsame Indikationsstellung zur Notwendigkeit von KM zu achten (27).

In den letzten Jahrzehnten wurden verschiedene, medikamentöse Ansätze zur Prävention der CIN in Studien getestet. Ein Medikament, das sich bis in den klinischen Gebrauch durchgesetzt hat, ist Acetylcystein (ACC). Es ist ein potentes Antioxidantium und zur Bindung freier Radikaler befähigt. Der präventive Effekt von ACC wird derzeit jedoch immer noch kontrovers diskutiert. Die Erstbeschreibung eines positiven Effektes bei der Prävention der CIN fand im Jahr 2000 statt (29). Einige folgende kleinere Studien konnten einen positiven Effekt bestätigen (23, 30), andere hingegen nicht (31-33). Eine große Metaanalyse konnte im Jahre 2008 die präventive Wirkung von ACC auf die CIN nachweisen (34). Welche klinische Relevanz bezogen auf z. B. Morbidität und Mortalität besteht, konnte aus den erfassten Daten allerdings nicht gezeigt werden. Im Jahre 2011 wurde in einer großen randomisierten Studie an 2308 Patienten die Wirksamkeit von ACC bzgl. der Prävention einer CIN hingegen widerlegt (35). Jedoch ist diese Studie der Methodik als kritisch zu bewerten. Dies betrifft insbesondere die Verabreichung und Dauer der Anwendung von ACC, sowie die Messung und Definition der Endpunkte der Studie.

Da es sich bei ACC zusätzlich um ein kostengünstiges Präparat handelt und sich keine negativen Auswirkungen bezüglich der CIN gezeigt haben (30), wird es in den aktuellen Leitlinien für Risikopatienten empfohlen.

Als weitere medikamentöse Prävention wurden verschiedene vasoaktive Substanzen getestet. Es gibt Studien zu Prostaglandin E-1 (36), Fenoldopam metasyllat (37), Dopamin (38), Kalziumkanal-Blocker (39), Theophyllin (40), ACE-Hemmer (41) und einigen mehr. Die getesteten Medikamente zeigten jedoch keinen positiven Effekt bezüglich der Prävention von CIN.

Das Gleiche gilt für andere Medikamentenklassen wie Diuretika (Furosemid, Mannitol) (42), Bicarbonate (43) und Statine (44). Keines dieser Medikamente erbrachte einen durchschlagenden Erfolg. Auch eine prophylaktische Hämodialyse für Hochrisikopatienten wurde probiert und verworfen (45).

Insgesamt stellt sich hier also ein großes Problem dar: Die Kontrastmittelgabe ist oft lebensnotwendig zur Diagnostik, die mögliche CIN ist mit einem insgesamt schlechteren Outcome der Patienten verbunden, und es ist momentan noch kein Medikament bekannt, das eine CIN erfolgreich verhindert. Deswegen ist es umso wichtiger, die CIN mittels neuer Marker frühzeitig zu erkennen, um sie zeitnah behandeln zu können und so das Outcome der Patienten zu verbessern.

1.1.3 Ätiologie und pathophysiologische Hypothesen

Röntgenkontrastmittel, die heute zur Angiographie verwendet werden, sind meist trijodierte, nieder-osmolare wasserlösliche Salze, die bei normaler Nierenfunktion zu 95% renal eliminiert werden. Es besteht keine nennenswerte Sekretion oder Reabsorption in der Niere. Ihre Röntgendichte hängt von dem jeweiligen Jodgehalt ab (46). Man unterscheidet die Kontrastmittel nach ihren physikochemischen Eigenschaften. Dazu zählen Osmolarität, Ionizität und Viskosität. Durch die hauptsächlich nicht-metabolisierte renale Elimination ist die Niere im Vergleich zu anderen Organen über eine längere Zeit höheren KM-Konzentrationen ausgesetzt. Dies erklärt u.a., warum dieses Organ besonders anfällig für die toxischen Effekte des KM ist. Einige Studien haben gezeigt, dass alle Röntgenkontrastmittel, unabhängig von ihren physikochemischen Eigenschaften, nephrotoxisch sind (47-49).

Die pathophysiologischen Vorgänge der CIN sind bis heute noch nicht abschließend erforscht. Man geht von einer multifaktoriellen Genese aus. Angenommen wird eine Kombination aus hypoxischer und toxischer Gewebeschädigung. Diese resultiert aus verschiedenen Einzelmechanismen, die sich gegenseitig beeinflussen und perpetuieren. Veranschaulicht wird dies in Abb. 2.

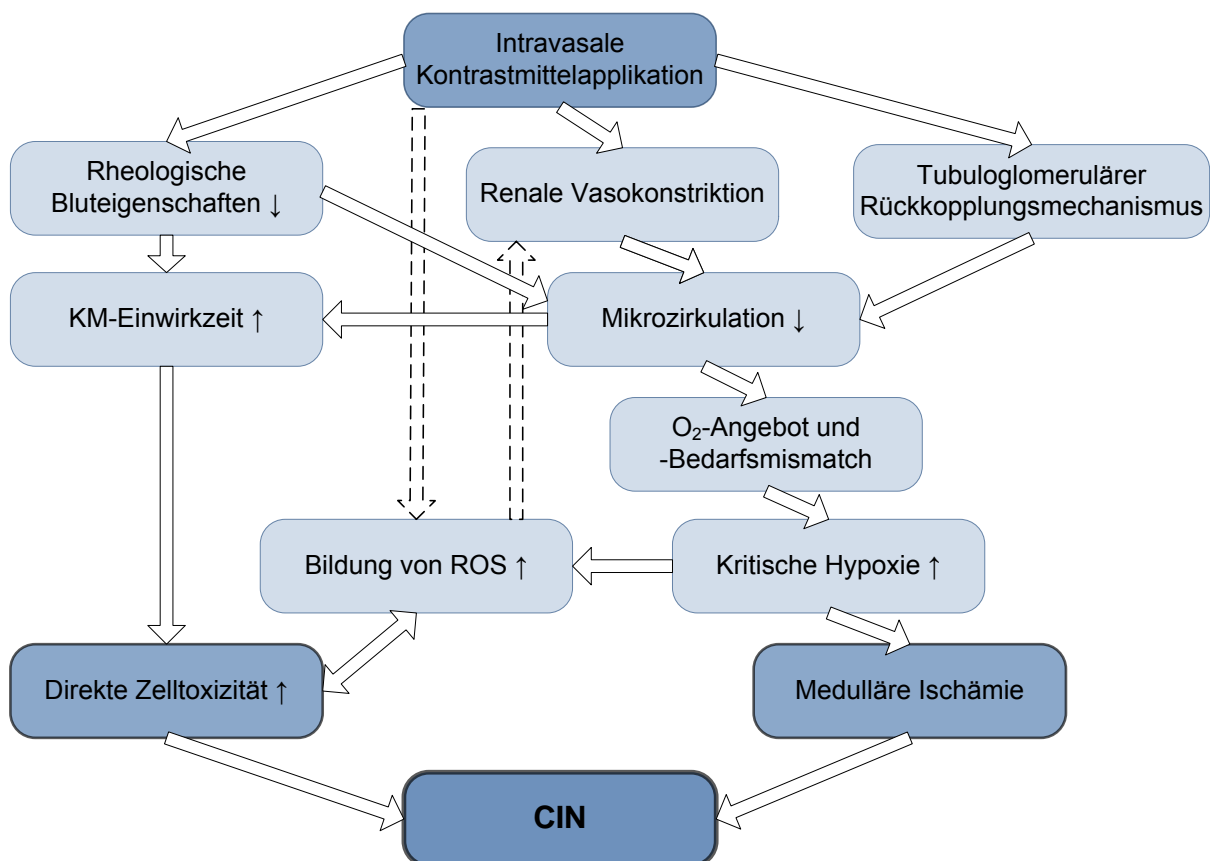


Abb. 2 Pathophysiologische Mechanismen der CIN
[schematische, eigene Darstellung]

Es wird angenommen, dass durch die KM-Applikation, wie mittig in Abb.2 dargestellt, es zu einer renalen Vasokonstriktion kommt. In Folge dessen ändert sich die intrarenale Mikrozirkulation und das Resultat ist eine kritische Hypoxie der Niere (50).

Einen Auslöser für eine renale Vasokonstriktion stellt der tubuloglomeruläre Rückkopplungsmechanismus dar. Dieser ist in Abb. 2 rechts dargestellt. Es wird angenommen, dass zunächst durch die osmotische Wirksamkeit des KM der tubuläre Druck steigt. Gleichzeitig wird die Diurese und damit auch die Natriuresis durch die osmotische Wirksamkeit gesteigert. Infolgedessen wird der tubuloglomeruläre Rückkopplungsmechanismus aktiviert. Durch ihn wird die glomeruläre Filtrationsrate (GFR) jedes einzelnen Nephrons reguliert. Im physiologischen Fall wird der Körper

vor Elektrolytverlust, insbesondere NaCl geschützt. Der tubuloglomeruläre Rückkopplungsmechanismus führt zu einer Konstriktion des Vas afferenz. Unterstreichend konnte in Studien an Tiermodellen z.B. eine stärkere Vasokonstriktion der afferenten als der efferenten Arteriole nach KM-Applikation in Mäusen beobachtet werden (51). Ein weiteres Beispiel ist eine biphasische Änderung der glomerulären Durchblutungsrate nach KM-Injektion an Hunden (52). Hier wurde zunächst eine vorübergehende Steigerung beobachtet und direkt darauf eine Abnahme der glomerulären Durchblutung auf ein niedrigeres Niveau als dem Ausgangsniveau. Im Zustand der Dehydratation zeigte sich dieser Effekt noch ausgeprägter (53).

Als weitere Ursache für die akute Vasokonstriktion wird eine Imbalance neurohumoraler vasoaktiver Substanzen (z.B. Prostaglandin E₂, Endothelin, NO, ANP, Adenosin, Vasopressin und Angiotensin II) einhergehend mit einer endothelialen Dysfunktion angenommen. Hinzu kommt eine direkte Wirkung von Kontrastmittel auf den Adenosinrezeptor A₁ und das Endothel in den afferenten Arteriolen (51, 54).

Konsekutiv führt eine stärkere Vasokonstriktion der afferenten gegenüber der efferenten Arteriole zu einem verminderten Filtrationsdruck und somit zu einer verminderten GFR. Das spiegelt sich klinisch je nach Ausmaß in einem steigenden Serumkreatininspiegel des Patienten wider.

Wie in Abb. 2 mittig dargestellt, führt eine übermäßige Vasokonstriktion der afferenten Arteriole zur verminderten Mikrozirkulation in der Niere. Einen zusätzlichen Einflussfaktor auf die intrarenale Mikrozirkulation stellt, in Abb.2 links gezeigt, eine durch die physikalischen Eigenschaften des KM entstandene Änderung der rheologischen Eigenschaften des Blutes dar (50, 55, 56). Nachfolgend resultiert in der Summe daraus eine Sauerstoffminderversorgung. Die vulnerabelste Struktur in diesem Zusammenhang ist die äußere Medulla. In diesem Teil der Niere wird, im dicken aufsteigenden Ast der Henle'schen Schleife, durch die aktive Reabsorption von NaCl ein osmotischer Gradient zwischen Tubulus und Kapillare hergestellt. Diese Region ist bereits unter physiologischen Bedingungen aufgrund eines niedrigen Sauerstoffangebotes und einer hohen metabolischen Leistung einem fragilen Gleichgewicht ausgesetzt. Durch die Applikation des Kontrastmittels kommen zwei Effekte hinzu, die dieses Gleichgewicht negativ beeinflussen: Erstens erhöht die

Interferenz des KM mit den Wasser und Elektrolyttransportern den Sauerstoffverbrauch (55). Zweitens vermindert die Osmolarität des KM die Erythrozytenelastizität (56). Dadurch nimmt Blutviskosität zu und der Blutfluss ab. Die Sauerstoffversorgung sinkt, und es kommt zu einer kritischen Hypoxie im Gewebe.

Der verminderte Blutfluss führt außerdem, wie in Abb. 2 links dargestellt, zu einer längeren Einwirkzeit des KM auf die Tubuluszellen und vaskulären Endothelzellen. Proportional hierzu steigt die direkte Toxizität durch das im Kontrastmittel enthaltene Jod auf die Zellmembranen. Diese führt gemeinsam mit der Hypoxie zu einer Zellmembranzerstörung.

Sowohl durch die Hypoxie, als auch die nachfolgende Reperfusion und die direkte Einwirkung des KM kommt es zur Bildung von reaktiven Sauerstoffspezies (ROS). Sie konnten sowohl in Vitro als auch in Vivo nach KM-Applikation nachgewiesen werden (57, 58). Die ROS-Bildung, wiederum erhöht den Effekt der vasokonstriktiven Mediatoren und erniedrigt die Bioverfügbarkeit von Vasodilatoren, insbesondere von NO (59). Dies führt abermals zur einer Vasokonstriktion (siehe Abb.2).

Zusammenfassend lässt sich sagen, dass durch die Hypoxie und Toxizität des KM Gewebnekrosen und Zellschäden entstehen. Als Folge von KM sind strukturell Apoptosen und Nekrosen der proximalen Tubuluszellen, Zellen der Henle'schen Schleife und des glomerulären Endothel nachgewiesen worden (57, 60, 61).

Jede nekrotische Gewebeschädigung führt zur Freisetzung von endogenen Molekülen (Damage-associated molecular pattern proteins, DAMP) und dadurch zur Aktivierung des Immunsystems mit der Folge einer Entzündungsreaktion (62). S100a12 sowie Calprotectin sind Proteine der S100-Proteinfamilie und gehören zu den DAMP. Wir gehen in dieser Arbeit davon aus, dass sie nach der Applikation von KM vermehrt in den Urin gelangen und dort als Marker für eine CIN messbar sind.

1.2 Die S100- Proteinfamilie

Das erste Mitglied der S100-Proteinfamilie wurde bereits 1965 aus Rinderhirn extrahiert (63). S100-Proteine gehören zur Superfamilie der Ca^{2+} - Effektorproteine. Sie werden strukturell nach dem Aufbau ihrer Ca^{2+} -Bindungsstelle unterteilt. Bekanntere Mitglieder der Superfamilie sind das muskuläre Troponin C, Parvalbumin und Calmodulin, die Strukturverwand mit den S100-Proteinen sind (64).

Gemäß Abb.3 zeichnet sich die Familie der S100-Proteine durch zwei aus einem Helix-Loop-Helix-Motiv bestehenden, mit EF-Hand bezeichneten Ca^{2+} -Bindungsstellen aus. Sie werden auch als Ca^{2+} Typ-1 Bindungsstellen bezeichnet. Beide EF-Hand-Abschnitte sind durch eine als „Hinge“-Region bezeichnete Sequenz verbunden und durch hydrophobe Enden flankiert. Die Ca^{2+} -Bindung erfolgt in der „Loop“-Region und führt zu einer Konformationsänderung. Durch sie wird die biologische Aktivität bestimmt bzw. eine Target-Bindung ermöglicht (65).

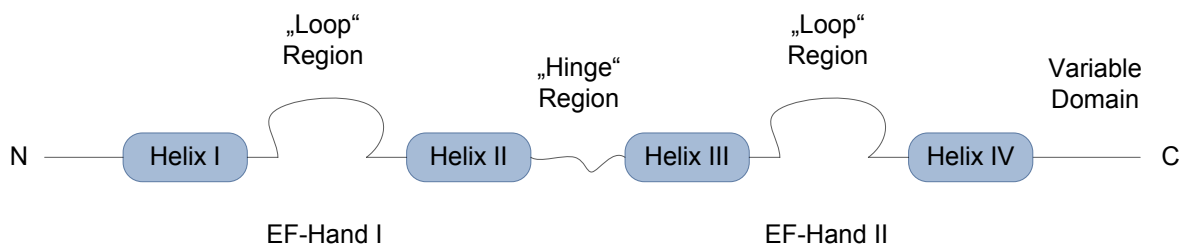


Abb. 3 Schematischer Aufbau eines S100-Proteins

[in Anlehnung an Pietzsch et al.(66)]

Die Bindungsaffinität der einzelnen Ca^{2+} -Bindungsstellen ist bei jedem S100-Protein verschieden. Den Namen „S100“ tragen diese Proteine, da sie in 100%-gesättigter Ammoniumsulfatlösung bei normalem PH löslich bleiben, während andere Proteine ausfallen (63).

Proteine der S100-Familie haben im Durchschnitt ein niedriges Molekulargewicht von 9-13kDa. Sie können sowohl als Homodimere, als auch als nicht kovalent gebundene Hetero- und Oligomere vorliegen. Einige S100-Proteine haben neben ihrer Ca^{2+} -Bindungsfähigkeit auch eine hohe Affinität zu Zn^{2+} und Cu^{2+} (67).

Da in den letzten Jahrzehnten verschiedene Arbeitsgruppen immer neue Mitglieder der S100-Proteine entdeckten, ergab sich zunächst eine uneinheitliche Nomenklatur. Einige Proteine haben mehrere in der Literatur gängige Namen erhalten. Damit es nicht zu weiteren Verwirrungen kommt, wurde im Jahre 2006 die Nomenklatur von Marenholz et al. und dem „HUGO gene nomenclature committee“ vereinheitlicht (68). Die einheitliche Nomenklatur erfolgt anhand der Genlokalisierung. Der S100-Proteinfamilie gehören zum jetzigen Zeitpunkt insgesamt 24 verschiedene Proteine an. Die einzelnen Mitglieder unterscheiden sich untereinander in der Länge der Aminosäuresequenz ihrer „Hinge“-Region und dem C-terminalen Ende, welches vermutlich die biologische Aktivität mitbestimmt. Dagegen sind die Ca^{2+} -Bindungsstellen in allen S100-Proteinen relativ sequenzhomolog (65).

S100-Proteine kommen ausschließlich in Wirbeltieren vor (69). Beim Menschen erfolgt die Expression der Proteine S100a1-S100a16 aus einem Gencluster auf dem Chromosom 1q21. Da sich eine ähnliche Region auch auf dem Chromosom 3 bei Mäusen findet, wird angenommen, dass die Clusterung der S100-Gene evolutionstechnisch konserviert wurde (70). Die Proteine S100B, S100G, S100P und S100Z liegen auf anderen Chromosomen verstreut.

In den letzten drei Jahrzehnten wurden die Aufgaben und Funktionen der S100-Proteine immer detaillierter, wenn auch noch lange nicht vollständig, erforscht. Grundsätzlich wird davon ausgegangen, dass sie bei einer großen Anzahl Ca^{2+} -abhängiger zellulärer Prozesse eine Rolle spielen. Die S100-Proteine sind an der Zellzyklusregulation, Zellwachstum und Differenzierung, Zellbewegung und Kontraktion, Transkription und Sekretion beteiligt (69). In manchen Zellen sind sie dauerhaft exprimiert und in anderen induzierbar (71, 72).

Manche S100-Proteine können krankheitsassoziiert vermehrt exprimiert werden. So wurde in verschiedenen Geweben und diversen Körperflüssigkeiten wie Serum, Sperma, Sputum, Faeces, Liquor, Abszessflüssigkeit und Urin eine pathologische Erhöhung von einzelnen S100-Proteinen gefunden (69). Die erhöhten Konzentrationen bestimmter S100-Proteine wurden bereits mit kardiovaskulären, rheumatischen, autoimmunen und neurodegenerativen Erkrankungen assoziiert (73). Auch mit verschiedenen malignen Tumoren konnte ein Zusammenhang hergestellt werden. Als Ursache hierfür konnte ein häufiges Rearrangement der 1q21 Region in malignen Zellen festgestellt werden (74).

Die S100-Proteine eignen sich somit potenziell als Biomarker.

1.2.1 S100a12 und Calprotectin (S100a8/9)

Die Proteine S100a8, S100a9 und S100a12 bilden eine Subfamilie der S100-Proteine, die mit Calgranuline oder Myeloid-related Proteinen bezeichnet wird (75). Sie werden vornehmlich in Zellen der Myeloidreihe, insbesondere neutrophilen Granulozyten und Monozyten exprimiert (65, 76).

S100a8 und S100a9 bilden zusammen den einzigen, unter den S100-Proteinen bekannten, nicht kovalent gebundenen heterodimeren Komplex. Er ist in der Literatur auch unter dem Namen Calprotectin bekannt. Weitere seltener verwendete Synonyme sind Calgranulin A/B, 27E10-antigen und „L1L and L1H proteins“. Die

beiden Proteine S100a8 und S100a9 können auch jeweils Homodimere bilden oder einzeln vorliegen. Es wird angenommen, dass die verschiedenen Komplexe unterschiedliche Funktionen haben (69).

Das Protein S100a12 wurde als neues Mitglied der S100-Proteinfamilie zuerst im Jahre 1995 beschrieben (72). Es ist auch unter dem Begriff EN-RAGE (extracellular newly identified receptor for advanced glycation end products), (RAGE)-binding-protein und Calgranulin C bekannt (77, 78). Das S100a12-Gen ist auf Chromosom 1q21 zwischen den Genen von S100a8 und S100a9 lokalisiert (79). Die Expression erfolgt jedoch hauptsächlich unabhängig voneinander (80).

Bei der Maus ist das Gen für S100a12 non-funktional und das Protein wird nicht exprimiert (81). Man geht davon aus, dass mS100a8 in der Maus viele der Funktionen übernimmt, die S100a12 im Menschen ausübt (82).

Menschliches S100a12 kann nicht kovalent gebundene Dimere, Tetramere und Hexamere unter Einfluss von Ca^{2+} und Zn^{2+} bilden. Es wird vermutet, dass sich auf diese Weise seine Wirksamkeit potenziert (83).

Vorkommen und Sekretion

Die größte Konzentration von Calgranulinen kommt in aktivierten neutrophilen Granulozyten vor. Hier beträgt der S100a8- und S100a9-Gehalt ca. 45% der cytosolischen Proteine. 5% des Gesamtproteingehalts besteht aus S100a12 (84). In Gewebe-Monozyten konnte Calprotectin in einer Konzentration von ungefähr 1% nachgewiesen werden (85). Auch in frühen Differenzierungsstadien von Makrophagen wurde Calprotectin gefunden (86). In Zellen des erworbenen Immunsystems wurden keine Calgranuline nachgewiesen (69).

Extrazelluläres Calprotectin und S100a12 entstammen in signifikanter Menge hauptsächlich aktivierten neutrophilen Granulozyten oder Makrophagen (87). Der Sekretionsmechanismus ist noch nicht vollständig verstanden. Es konnte jedoch nachgewiesen werden, dass die Sekretion nicht auf dem regulären Weg über das endoplasmatische Retikulum und dem Golgi-Apparat erfolgt (87).

Erhöhte extrazelluläre Konzentrationen können entsprechend auch durch vermehrte Nekrosen von Zellen der Myeloidreihe auftreten (88).

Für einige Gewebezellen konnte gezeigt werden, dass Calgranuline durch Reize in der Expression induzierbar sind. So zeigten Volz et al, dass Myokard-Zellen nach ischämischer Reizung Calprotectin exprimieren (89). Als weitere Beispiele sind, die

Expression von S100a8 während der Wundheilung in Epithelzellen und Fibroblasten und von S100a8 und S100a9 in Keratinozyten bei Patienten mit Psoriasis zu nennen (71, 90).

Die Arbeitsgruppe um Zhang et al. ermittelte im Mausmodell durch die Mikroarray-Analyse die Genexpression von S100a8 und S100a9 in der Niere. Sie konnten zeigen, dass nach einer Ischämiezeit von 30 min und Reperfusionszeit von 3h die Gene für S100a8 und S100a9 hochreguliert sind. Die Expression des S100a8 Gens stieg um das Siebenfache und die des S100a9 Gens um das 3,5 fache an (91). Für S100a12 konnte ein Anstieg nicht gezeigt werden, da die Maus dies nicht exprimiert (81).

Trotz gewebeeigener Expression entstammt die hohe Konzentration von S100a12 und Calprotectin in beschädigtem Gewebe wahrscheinlich den aktivierten Immunzellen (76, 92).

Funktion in der Entzündung

Die extrazellulären und intrazellulären Aufgaben der Calgranuline sind komplex und noch nicht im Einzelnen verstanden. Wie bereits für S100-Proteine im Allgemeinen erwähnt, wird vermutet, dass sie intrazellulär an Ca^{2+} -abhängigen Prozessen beteiligt sind.

S100a12 und Calprotectin gehören zu den sogenannten „Damage-associated molecular pattern proteins, DAMP“, die auch unter dem Synonym „alarmins“ bekannt sind (76). Unter dem Begriff DAMP sind allgemein intrazelluläre Proteine zusammen gefasst, die von nekrotischen Zellen und Zellen des angeborenen Immunsystems freigesetzt werden (62, 76). Intrazellulär haben diese Proteine die physiologische Funktion der Erhaltung der Zellhomöostase. Extrazellulär verhalten sie sich zytokinähnlich. DAMP sind maßgeblich an der Initiation und Perpetuierung einer nicht infektiösen Entzündungsreaktion beteiligt (62). Zu den DAMP gehören außer den Calgranulinen u.a. noch „heat shock proteins“, „high mobility group box chromosomal protein 1“, Heparansulfate, Hyaluronanfragmente, und Fibronectin (93).

Die Signalwirkung von S100a8/9 und S100a12 entsteht durch die Bindung an den multiliganden Rezeptor RAGE (receptor for advanced glycation end products) und den Rezeptor TLR (Toll-like-Rezeptoren) (77). RAGE und TLR werden u.a. von Zellen des angeborenen Immunsystems exprimiert, z.B. TLR4 von Makrophagen (94). Man geht u.a. davon aus, dass Calprotectin und S100a12 mit der Interaktion

zwischen angeborenem und erworbenem Immunsystem im Zusammenhang stehen (69).

In niedrigen picomolaren Konzentrationen, wie sie in frühen Phasen einer Gewebeschädigung vorkommen, wirken S100a12 und Calprotectin selbst chemotaktisch auf Leukozyten und Zellen des angeborenen Immunsystems, während bei steigenden Konzentrationen auch andere Zytokine exprimiert werden, die diese Mediatoreigenschaften übernehmen (76, 92, 95).

Dies geschieht vor allem durch Bindung von S100a12 oder Calprotectin an RAGE und TLR4. Hierdurch wird die Expression und Sekretion von pro-inflammatorischen Mediatoren ausgelöst, die zur Initiation und Amplifikation der Entzündungsreaktion beitragen. Die Expression erfolgt über die Aktivierung verschiedener intrazellulärer Signalkaskaden, z.B. MAP-kinase und dem NFκ-B Pathway (76, 77, 96).

TLR und RAGE werden außerdem Endothelzellen und anderen Gewebezellen exprimiert. In der Niere kommen sie auf Podozyten, Tubuluszellen und Zellen des Sammelrohres vor, so dass Calprotectin und S100a12 auch an diese Zellen binden können (97).

In der Literatur sind zusätzlich folgende Funktionen der Calgranuline beschrieben:

- S100a12 und Calprotectin fördern die Adhäsion von neutrophilen Granulozyten und Phagozyten an das Endothel und deren transendotheliale Migration (95, 98).
- Hohe Konzentrationen von S100A12 aktivieren Mastzellen (99).
- Durch Calprotectin wird die Myeloidzellendifferenzierung beeinflusst (100).
- Calprotectin verursacht einen mikrovaskulären Kontaktverlust der Endothelzellen in VITRO und einen caspase-induzierten und nicht-caspase-induzierten Zelltod (98).
- S100a12 und Calprotectin haben eine antibakterielle und antihelminthische Wirkung (101, 102).

Funktion in der Gewebeprotektion

Das Calprotectin hat einen hohen Cystatingehalt. Es eignet sich somit chemisch auch als Fänger von ROS. In hohen Konzentrationen kann Calprotectin folglich oxydativen Stress reduzieren und einen, durch eine Entzündung oder Hypoxie entstehenden, Gewebeschaden mildern (103). Für S100a12 trifft dies nicht zu, da der Cystatingehalt geringer ist (81).

Als weitere protektive Wirkung können S100a12 und Calprotectin pro-inflammatorische Zytokine binden und deren Aktivität modulieren (104).

1.2.2 S100a12 und Calprotectin in der Funktion als Biomarker

Neutrophile Granulozyten und Monozyten sind ein wichtiger Teil in der Immunabwehr von Pathogenen. Sie spielen aber auch eine Rolle bei chronisch entzündlichen Erkrankungen und traumatischen oder toxischen Gewebeschädigungen. Wie in Kapitel 1.2.1 beschrieben, setzen diese Immunzellen im aktivierten Zustand S100a12 und Calprotectin frei. Auch durch Nekrosen von neutrophilen Granulozyten und Monozyten im entzündlichen Milieu gelangen S100a12 und Calprotectin in die Umgebung. Die Konzentration dieser Proteine korreliert folglich positiv mit der Entzündungsaktivität (105).

Eine erhöhte Konzentration von Calprotectin und S100a12 im Serum, Gelenk- und Abszessflüssigkeit wurde bei bakteriellen Infektionen, nicht infektiösen entzündlichen Prozessen und verschiedenen malignen Erkrankungen nachgewiesen (69). Aus klinischer Sicht eignen sich S100a12 und Calprotectin somit als Marker für die Krankheitsaktivität und den Therapieverlauf vieler Erkrankungen. Wissenschaftlich diskutiert wird die Möglichkeit der klinischen Verwendung für die rheumatoide Arthritis, die idiopathische juvenile Arthritis, Psoriasis, Vaskulitis, Arteriosklerose, Diabetes mellitus, Asthma, Sepsis und viele Weitere (73).

Eine erfolgreiche Messung im Urin von S100a12 ist bis zum bislang von keiner Arbeitsgruppe beschrieben worden.

Im klinischen Gebrauch hat sich die Calprotectin-Messung im Stuhl bereits etabliert. Sie wird verwendet, um eine chronisch entzündliche Darmerkrankung von einem Reizdarmsyndrom zu unterscheiden. Man geht davon aus, dass das Calprotectin im Stuhl ein Maß für die granulozytäre Infiltration der Darmwand und folglich für die Schwere der Entzündung ist (105, 106). Insbesondere bei Kindern kann so evtl. auf eine invasive Diagnostik verzichtet werden(107).

Analog hierzu gehen wir in dieser Arbeit davon aus, dass S100a12 und Calprotectin durch eine kontrastmittelinduzierte Nierenschädigung und u.a. reaktive Inflammation in den Urin gelangen. Hier können sie als potenzielle Biomarker für die CIN gemessen werden

2 FRAGESTELLUNG

In dieser Arbeit wird die Bedeutung der Calprotectin- und S100a12- Konzentration im Urin in Bezug auf die diagnostischen Möglichkeiten bei kontrastmittelinduziertem Nierenversagen erörtert und miteinander verglichen. Es wird geklärt, ob sich aus den Basalwerten vor KM eine Risikoeinschätzung durchführen lässt. Des Weiteren soll die prognostische Bedeutung der Absolutwerte und dem kurzfristigen Verlauf beider Biomarker auf das Langzeit-outcome drei Monate nach KM betrachtet werden. Hierbei interessiert besonders der mögliche Zusammenhang der Biomarker mit der Häufigkeit des Auftretens von Dialysepflichtigkeit, Tod, nichtelektive Krankenhausaufenthalten und einer Verdoppelung des Serumkreatinins als Endpunkte. Basis der Arbeit ist eine prospektive Studie. Sie wurde an Patienten durchgeführt, die eine diagnostische oder interventionelle Koronarangiographie erhielten und ein erhöhtes Risiko für eine CIN hatten.

3 MATERIAL UND METHODEN

3.1 Die „CIN“-Studie

Alle Daten wurden im Rahmen der „CIN“-Studie erhoben und von der örtlichen Ethikkommission der Charité-Universitätsmedizin Berlin genehmigt. Die „CIN“-Studie fand im Zeitraum von Januar 2010 bis Dezember 2011 in der Klinik für Kardiologie und Angiologie der Charité, Campus Mitte, Berlin statt. Eingeschlossen in die Datenerhebung wurden konsekutiv alle Patienten, die zwischen Montag und Freitag eine Herzkatheteruntersuchung erhielten, den Einschlusskriterien entsprachen und in die Studie einwilligten. Die Entscheidung über die Indikation der Untersuchung, die KM-Menge und die Dauer des stationären Aufenthalts trafen die jeweiligen behandelnden Ärzte. Auf die Behandlung hatte die Teilnahme an der Studie keinen Einfluss.

Einschlusskriterien: Es wurden alle Patienten eingeschlossen, die bei der stationären Aufnahme einen Kreatininwert von $>1,1$ mg/dl und/oder einen bereits diagnostizierten Diabetes mellitus Typ I oder Typ II hatten.

Ausschlusskriterien: Ausgeschlossen wurden Patienten, die bereits bei Studienbeginn eine dialysepflichtige terminale Niereninsuffizienz hatten, den Einschlusskriterien nicht entsprachen, nicht einwilligten/ nicht einwilligungsfähig waren oder bereits an einer anderen Studie der Charité teilnahmen.

Einwilligung und Datenschutz

Die Einwilligung der Probanden erfolgte nach schriftlicher und mündlicher Aufklärung über die Ziele und Absichten der Studie, über die Pseudonymisierung und Aufbewahrung der Daten und Proben, sowie die Berücksichtigung der aktualisierten Fassung der Deklaration von Helsinki. Die schriftliche Patienteninformation ist im Anhang 1 zu finden.

Außerdem wurden die Patienten über einen Follow-Up-Termin drei Monate nach Studieneinschluss und weitere Urinabgaben und Blutentnahmen informiert (vgl. Abb.4). Jeder Proband wurde im Besonderen darüber aufgeklärt, dass eine Nichtteilnahme oder ein Rücktritt von der Studie zu jedem Zeitpunkt ohne Angabe von Gründen möglich ist und sich in keiner Weise auf die medizinische oder ärztliche Versorgung auswirkt. Nach einer ausreichenden Bedenkzeit erfolgte die schriftliche Einwilligung mit Datum und eigenhändiger Unterschrift. Hiermit bestätigte der

Proband, dass er sich freiwillig entschlossen hatte, an der Studie teilzunehmen und die Informationen verstanden hatte.

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wurden sowohl alle gewonnenen Proben als auch die Anamnesebögen gemäß § 3 Abs. 6a Bundesdatenschutzgesetz pseudonymisiert.

Wässerung und ACC: Es gab Patienten, die vor KM hydriert wurden und prophylaktisch ACC bekamen. Die Entscheidung darüber lag im Ermessen des behandelnden Arztes. Die Wässerung erfolgte nach einem standardisierten Protokoll. Dieses bestand in 500ml NaCl + 600 mg ACC Infusionen. Die Wässerung folgte dem Schema 1-1-1 (morgens-mittags-abends) vom Abend vor KM bis zur Entlassung des Patienten oder maximal über drei Tage.

Kontrastmittel: Bei allen Patienten wurde das Kontrastmittel Xenetix® 350 der Firma Guerbet GmbH, Sulzbach/Taunus, Deutschland verwendet. Der Wirkstoff heißt Iobitridol. Dabei handelt es sich um ein monomeres, nicht-ionisches, niederosmolares Röntgenkontrastmittel zur parenteralen Applikation mit einem Jodanteil von 350mg/ml.

3.2 Studienablauf und -endpunkte

Die Patienten wurden zunächst stationär aufgenommen. Sie erhielten eine allgemeine Aufklärung über die notwendige Herzkatheteruntersuchung. Wenn sie den Einschlusskriterien (s.o.) entsprachen, wurden sie zusätzlich über die Möglichkeit der Teilnahme an der „CIN“-Studie informiert. Wie in Abb.4 ersichtlich, erfolgte nach der Einwilligung in die Studie die erste Blut- und Urinentnahme im Rahmen der allgemeinen Aufnahmeuntersuchung. Gegebenenfalls wurde nach Ermessen des Arztes mit einer Hydratation und ACC-Gabe begonnen (s.o.). Am darauffolgenden Tag geschah die Koronarangiographie mit der Kontrastmittelapplikation. Ungefähr 24h später fand die zweite Blut- und Urinentnahme statt (siehe Abb.4). War der Patient nach 48h noch in der Klinik, so kam es zu einer dritten Blutentnahme. Bei einer Entlassung bereits nach 24h entfiel diese Blutentnahme.

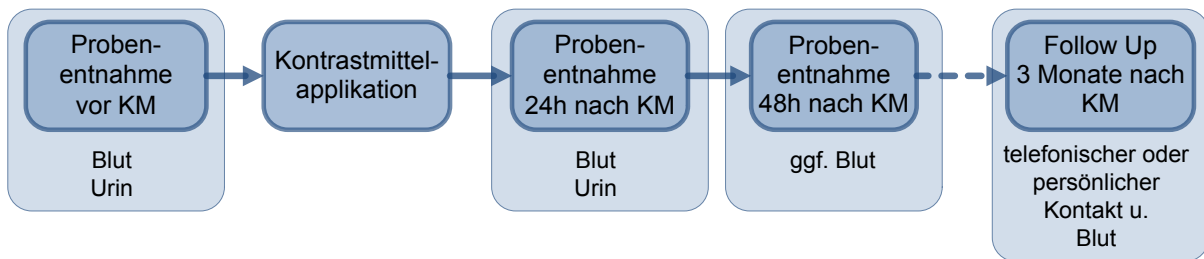


Abb. 4 Studienablauf
[eigene Darstellung]

Die Daten zum allgemeinen Krankheitsverlauf wurden sowohl im Rahmen der Anamnese von den Probanden erfragt, als auch aus Arztbriefen vorangegangener Krankenhausaufenthalte entnommen und in einen standardisierten Fragebogen übertragen. Er enthielt Angaben zur Größe, Gewicht, Diabetes mellitus, Nikotin- und Alkoholkonsum, Pharmakotherapie und den Begleiterkrankungen. Der Fragebogen ist exemplarisch im Anhang 2 zu finden.

Jeweils drei Monate nach Studieneinschluss fand für alle Probanden eine Follow-up-Untersuchung statt (siehe Abb.4). Erfasst wurde hierbei der zwischenzeitliche Krankheitsverlauf, wobei insbesondere das Erreichen bestimmter Endpunkte, die im Folgenden näher beschrieben werden, Berücksichtigung fand. Der bereits angelegte standardisierte Anamnesebogen wurde auf diese Weise vervollständigt. Im Rahmen der Wiedereinbestellung wurde den Patienten abermals Blut zur Messung des Kreatinin abgenommen. Gegebenenfalls wurden die anamnestischen Angaben durch telefonische Auskünfte der behandelnden (Haus-)Ärzte und/oder Arztbriefe ergänzt.

Die Endpunkte der „CIN“-Studie

<u>primärer Endpunkt</u>	
CIN	Sie ist gekennzeichnet durch einen Anstieg des Serum-Kreatinin um 25% vom Aufnahmewert oder um einen Absolutwert von 0,5mg/dl innerhalb von 24h-48h
<u>sekundäre Endpunkte</u>	
Dialyse	Unter dem Ereignis „Dialyse“ wurde die Notwendigkeit sowohl zur temporären als auch zur dauerhaften Dialyse, die die Patienten bis zum Follow-up nach drei Monaten erhielten, zusammengefasst. Dabei wurden kontinuierliche und intermittierende Hämodialyse, sowie Peritonealdialyse gleichermaßen als Ereignis
Tod	Der Endpunkt „Tod“ bedeutet das Ableben des Patienten innerhalb des Studienzeitraums. Hierbei wurden die Ursachen zwar erfasst, jedoch nicht unterschiedlich gewichtet.
Verdopplung des Serumkreatinin	Dieser Endpunkt tritt ein, wenn sich der Kreatininwert zum Zeitpunkt des Follow-Up im Vergleich zum Ausgangswert vor KM verdoppelt hat.
Nichtelektive Krankenhausaufenthalte	Als „nichtelektive Krankenhausaufenthalte“ wurden alle ungeplanten, erneuten Aufnahmen der Probanden in ein Krankenhaus im Zeitraum von ihrer Entlassung bis zum Follow-up gezählt. Hierbei steht meist eine akute Verschlechterung des Allgemeinzustandes, gleich welcher Genese, im Vordergrund. Elektive Eingriffe, wie beispielsweise prothetische orthopädische Operationen, wurden von der Erfassung ausgeschlossen.
Kombinierte Endpunktanalyse	Unter diesem Begriff wurden die Ereignisse „Dialyse“, „Tod“ und „nicht elektive Krankenhausaufenthalte“ zusammengefasst. Jeder der Patienten, der mindestens einen der vorangegangenen Endpunkte erreicht hat, fällt in diese Gruppe.

Tab. 1 Darstellung der primären und sekundären Endpunkte

3.3 Probengewinnung und labortechnische Messung

Die Probenentnahme fand wie beschrieben vor, 24h und 48h (nur Blutproben) nach Kontrastmittelapplikation statt (Vgl. Abb.4). Die Kreatininbestimmung erfolgte aus Blutproben der routinemäßigen Blutentnahmen der Stationen (Stationsärzte). Die Blutproben wurden mittels Butterfly-Vacutainer®-System in einem EDTA-Röhrchen der Firma *Becton, Dickinson and Company* entnommen.

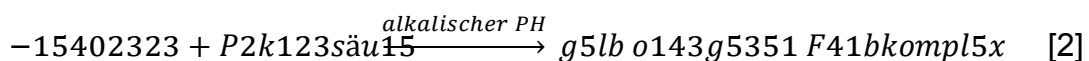
Die Blutproben zur Kreatininbestimmung wurden 5min bei 4°C mit 3000 Umdrehungen/min (*Eppendorf, Centrifuge 5810F*) zentrifugiert. Das entstandene Serum wurde mit einer Pipette in ein 2 ml Eppendorf-Safe-Lock-Gefäß (*0030.120.094, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland*) umgefüllt, pseudonymisiert, etikettiert und bei -80°C bis zur weiteren Verarbeitung tiefgefroren.

Die Urinproben wurden als Spontanurin in einem sterilen Urinbecher der Firma *Sarstedt* gewonnen. Sofort nach der Entnahme wurden die Urinproben bei 8°C kühl gelagert und innerhalb von 12h mit Hilfe einer Pipette in zwei 2 ml Eppendorf-Safe-Lock-Gefäße (*0030.120.094, Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland*) umgefüllt, sowie ebenso pseudonymisiert etikettiert. Danach wurden sie bei -80°C bis zur weiteren Bearbeitung tiefgefroren.

Alle Messungen wurden verblindet gegenüber den klinischen Daten durchgeführt.

3.3.1 Bestimmung von Kreatinin

Aus den Blut- und Urinproben wurde Kreatinin nach der Jaffé-Methode bestimmt (108). Es handelt sich hierbei um einen vor fast 130 Jahren entdeckten und lange klinisch etablierten, kinetischen Farbttest. Kreatinin und Pikrinsäure reagieren in alkalischer Lösung zu einem gelb-orangenem Farbkomplex (siehe Formel [2]), der sich photometrisch quantifizieren lässt. Die Bildungsgeschwindigkeit des Farbstoffs ist proportional zur Kreatininkonzentration in der Probe. Um Störungen durch Bilirubin in der Serummessung zu minimieren wurde die "rate-blanking"-Methode angewendet. Zur Kompensation von unspezifischen Reaktionen, die durch Pseudo-Kreatinin-Chromogene, u.a. Proteine und Ketone, im Serum hervorgerufen werden, wurden die Werte um -26µmol/l korrigiert.



Verwendete Reagenzien:

- 1.) Kaliumhydroxid 900mmol/l; Phosphat:135mmol/l; pH≥13.5;
Konservierungsmittel; Stabilisator;
- 2.) Pikrinsäure:38mmol/l; pH6.5; nichtreaktiver Puffer

3.3.2 Bestimmung von Calprotectin und S100a12

Die Calprotectin- und S100a12-Bestimmungen erfolgten jeweils mit einem Test, basierend auf der quantitativen „Sandwich“-ELISA Technik. Verwendet wurde dabei das *PhiCal®CalprotectinELISA K6927* KIT für Calprotectin und das *S100a12ELISA KIT K6938*. für S100a12. Beide KITs stammten von der *Firma Immundiagnostik AG, Bensheim*.

Die KITs enthalten ausgewählte hochaffine, monoklonale Antikörper, die jeweils entweder humanes Calprotectin oder humanes S100a12 erkennen. Die Proben werden auf Mikrotiterplatten gegeben, die mit den Antikörpern (Fängerantikörpern) beschichtet sind, und 30-60min bei Raumtemperatur inkubiert. In diesem ersten Schritt wird das Calprotectin bzw. S100a12 aus der Probe gefangen. Es erfolgt ein Waschgang mit Waschpufferlösung, bei dem die Reste entfernt werden. Im nächsten Schritt wird ein enzymmarkiertes Konjugat hinzugegeben und nochmals 30-60min bei Raumtemperatur inkubiert. Als Enzym wird Peroxydase verwendet. In einem erneuten Waschgang mit Waschpufferlösung werden auch hier die Reste entfernt. Es verbleibt, gebunden an die Mikrotiterplatte, nun folgender Komplex gem. Abb. 5.

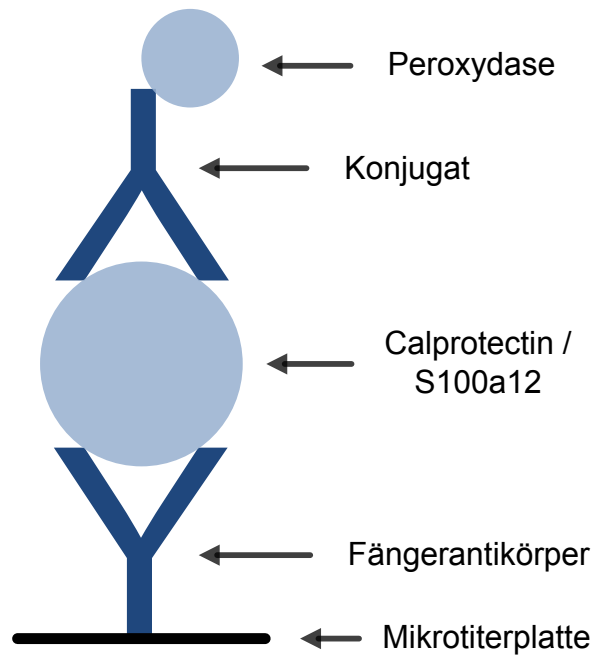


Abb. 5 ELISA-Sandwich-Technik
[eigene Darstellung]

Als Enzymsubstrat wird eine Lösung, die Tetramethylbenzidin (TMB) enthält, hinzugesetzt. Die Inkubation dauert bei Raumtemperatur 10-20min. In dieser Zeit geschieht ein Farbumschlag von blau nach gelb. Danach wird die Enzymreaktion durch Zugabe von Säure gestoppt. Die entstandene chromogene Verbindung wird nun photometrisch bei 450nm gemessen. Die Farbtintensität verhält sich jeweils proportional zum Calprotectin- respektive S100a12-Gehalt. Gleichzeitig wird eine Standardkurve aus optischer Dichte (Absorbtion bei 450nm) versus Standardkonzentration erstellt. Anhand der Standardkurve wird die Konzentration der Proben ermittelt.

3.4 Statistische Auswertung und Definitionen

Die Daten werden zunächst in einer dafür erstellten Excel®-Tabelle gesammelt. Sämtliche deskriptive Statistiken und statistische Analysen werden mit Hilfe des Statistikprogramms „IBM-SPSS“© in der Version 20.0 für Windows© durchgeführt. Hierzu wird die Excel®-Tabelle in „SPSS“ transformiert.

Ausgewertet werden die Daten aller Patienten, bei denen zum Zeitpunkt 24h *nach* KM ein Messwert für S100a12 bestimmt werden konnte.

Patientendaten und Kreatininwerte:

Quantitative Messwerte der Kategorien „Patientendaten“ und „Kreatininmesswerte“ werden als Mittelwert und Standardabweichung angegeben. Die Überprüfung auf Normalverteilung der Werte wird mit Hilfe des Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test durchgeführt. Eine Normalverteilung der Werte wird angenommen, wenn einer der Tests dies anzeigt.

Der Mittelwertvergleich erfolgt, in Abhängigkeit der Daten durch den Student-T-Test für Mittelwertgleichheit zweier unabhängiger Stichproben oder zweier verbundener Stichproben.

Unterschiede kategorialer Variablen werden durch den Chi-Quadrat-Test (χ^2) ermittelt.

Eine Irrtumswahrscheinlichkeit mit $p \leq 0,05$ wird bei allen in dieser Arbeit verwendeten statistischen Tests als ausreichend betrachtet, um einen statistisch signifikanten Unterschied festzustellen. Alle statistischen Tests wurden mit zweiseitiger Signifikanz geprüft.

Auswertung der Messwerte für S100a12 und Calprotectin

Die Messwerte von Calprotectin und S100a12 werden sowohl in Median /Spannweite (SW) als auch in Mittelwert \pm Standardabweichung (MW \pm SD) angegeben. Nach der Überprüfung auf Normalverteilung der Werte durch den Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test, werden die Mittelwerte der Stichproben durch den Mann-Whitney-U-Test (M-W-U) verglichen.

Boxplots

Die S100a12- und Calprotectin-Achsen sind in den Abbildungen logarithmisch skaliert. Die Boxhöhe gibt den Abstand zwischen der 25. und der 75. Perzentile wieder. Als schwarzer, waagerechter Balken wird der Median dargestellt, Ausreißer als kleine Kreise und Extremwerte als Sternchen. Ausreißer sind Werte, deren Abstand von der 25. Perzentile nach unten (bzw. von der 75. Perzentile nach oben) zwischen dem 1,5-fachen und dem 3-fachen der Boxhöhe liegt. Extremwerte sind solche mit einem Abstand größer dem 3-fachen der Boxhöhe von der entsprechenden Perzentile.

ROC

Zur Bestimmung der diagnostischen Leistungsfähigkeit von S100a12 und Calprotectin werden Receiver Operating Characteristic Plots (ROC-Plots) erstellt. Die Fläche unter der Kurve (AUC) ist ein Maß für die diagnostische Leistungsfähigkeit.

3.4.1 Berechnung der eGFR

Anhand der im Serum gemessenen Kreatinin-Werte erfolgt die Berechnung der eGFR. Wir verwendeten hierzu die in der Einleitung bereits beschriebene, vereinfachte MDRD-Formel (Formel [1]), da sie an Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion entwickelt worden ist.

Geschätzte GFR nach vereinfachter MDRD-Formel anhand von Kreatinin (15):

$$eGFR[\text{ml}/\text{min}/1,73\text{m}^2] = 186 \cdot (\text{SerumKreatinin} [\text{mg}/\text{dl}])^{-1,154} \cdot (\text{Alter} [\text{Jahre}])^{-0,203} \cdot (0,742 \text{ bei Frauen}) \quad [1]$$

3.4.2 DefinitionenNormierte Werte:

Für die genaue Konzentrationsbestimmung von S100a12 und Calprotectin im Urin wäre eine 24h Sammelurinbestimmung notwendig. Da uns jedoch nur Spontanurin zur Verfügung stand, bestimmten wir als Maß für die zum Abnahmezeitpunkt bestehende Urinkonzentration Kreatinin im Urin. Es wurde jeweils ein S100a12-Kreatinin-Quotient und ein Calprotectin-Kreatinin-Quotient gebildet, um so die Konzentration zu normieren. Der entstandene Wert wird ohne Einheiten angegeben.

Verlauf der Werte:

Um den *Verlauf* von S100a12 und Calprotectin beurteilen zu können, wurde jeweils die Differenz der Werte von *vor* und *24h nach* KM ermittelt. Dies geschah sowohl für die reinen Werte, als auch für die durch Kreatinin normierten Werte. Aus der Differenz der Einzelwerte jedes Patienten wurden wiederum Median/Spannweite und Mittelwert \pm Standardabweichung ermittelt.

Definition der Kohortencharakteristika	
Herzinsuffizienz	NYHA (New York Heart Association) Stadium III-VI
Anämie	Hämatokrit < 0,39 bei Männern und < 0,36 bei Frauen
Alkoholabusus	täglicher Alkoholkonsum >30g/d bei Männern und >20g/d bei Frauen.
BMI (body mass index)	$\frac{\text{Körpergewicht [kg]}}{(\text{Körpergröße [m]})^2}$
Krankenhausaufenthalt	Zeit von Aufnahme bis Entlassung (in Tagen)
ITS-Aufenthalt	Zeit von Aufnahme auf eine Intensivstation (ITS) bis zur Rückverlegung auf eine Normalstation (in Tagen)

Tab. 2 Definition der Kohortencharakteristika

4 ERGEBNISSE

4.1 Patientenauswahl

Im Studienzeitraum wurden 1824 Patienten, die eine elektive Herzkatheteruntersuchung oder Angiographie in der Charité Berlin, Campus Mitte erhielten im Bezug auf eine mögliche Studienteilnahme betrachtet. Die Abb. 6 zeigt den Vorgang der Patientenauswahl.

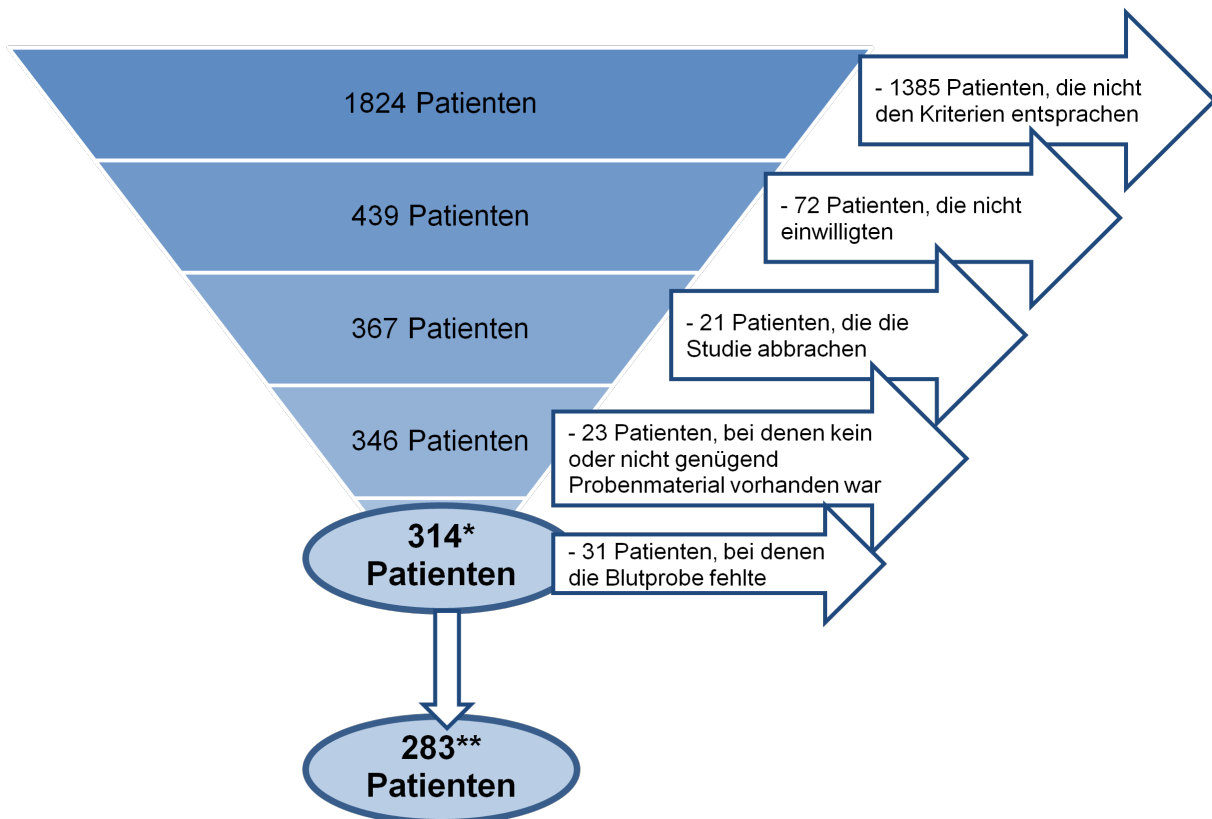


Abb. 6 Patientenauswahl für die Auswertungen

* Auswertung sekundärer Endpunkte für 314 Patienten

** Auswertung zur CIN für 283 Patienten

[eigene Darstellung]

Von den 1824 elektiven Herzkatheter-Patienten entsprachen 1385 nicht den Einschlusskriterien, und 72 weitere stimmten einer Teilnahme an der CIN-Studie nicht zu. Wir konnten somit gemäß Abb. 6 eine Kohorte von 367 Patientinnen und Patienten in die Datenerhebung einschließen. Von den primär 367 Patienten mussten 21 nachträglich wieder ausgeschlossen werden, weil sie entweder ihre Einwilligungserklärung zurückzogen oder wichtige Datenangaben fehlten (Vgl. Abb.6).

Da definitionsgemäß nur Patienten mit einem Messwert für S100a12 zum Zeitpunkt 24h nach KM ausgewertet werden sollten, wurden 23 weitere Patienten nicht

berücksichtigt. Bei ihnen fand sich nach Studienabschluss kein oder zu wenig Probenmaterial. Somit entstand eine Kohorte mit 314 auswertbaren Patienten. Unter ihnen gab es außerdem von 31 Probanden nicht ausreichend Blutprobenmaterial. Entsprechend konnten zum primären Endpunkt „CIN“ nur in Summe 283 Patienten ausgewertet werden. Für alle weiteren Auswertungen standen 314 Patienten zur Verfügung.

Follow-Up

Die Follow-Up-Untersuchung für die Analyse der Endpunkte fand im Median nach 94,5 Tagen (Spannweite 42-171 Tage) statt. Von den 314 eingeschlossenen Patienten lehnten 13 Patienten aus verschiedenen Gründen (verzogen, kein Interesse, zu großer Aufwand) die Untersuchung ab. Somit gingen 301 Patienten (95,8% der Gesamtkohorte) in die Analyse der sekundären Endpunkte ein.

4.2 Beschreibung der Gesamtkohorte

Die Verteilung demographischer Daten, sowie weitere Patientencharakteristika sind Tab. 3 zu entnehmen.

Parameter	Anzahl	Häufigkeit (%) oder MW±SD	Spannweite
Geschlecht (m/w)	n=314	239 (76,1%)/75(23,9%)	
Alter (Jahre)	n=314	68,89 ±9,68	37-95
Ethnie -kaukasisch		310 (98,7%)	
-asiatisch	n=314	1 (0,3%)	
-arabisch		3 (1%)	
BMI (kg/m ²)	n=314	28,99 ±5,44	19-50
Diabetes mellitus (j/n)	n=314	169 (53,8%)/144(45,9%)	
Herzinsuffizienz (j/n)	n=314	81 (25,8%)/233 (74,2%)	
Anämie (j/n)	n=314	86 (27,4%)/228 (72,6%)	
Nikotinabusus (j/n)	n=306	199(63,4%)/107 (34,1%)	
Alkoholabusus (j/n)	n=285	31 (10,9%)/254 (89,1%)	
Serum Kreatinin <u>vor</u> KM (mg/dl)	n=305	1,24 ±0,43	0,53-3,48
eGFR MDRD <u>vor</u> KM (ml/min)	n=305	64,06 ±21,05	13,93-129,96
Urin Kreatinin <u>vor</u> KM (mg/dl)	n=302	7,81±4,89	0,12-37,57
Wässerung (j/n)	n=313	173 (55,1%)/140 (44,6%)	
Wässerungsmenge (ml)	n=173	1480± 690	250-5000
ACC-Prophylaxe (j/n)	n=311	148 (47,1%)/163 (51,9%)	
ACC-Menge (mg)	n=148	1905±730	600-4200
KM-Volumen (ml)	n=312	112 ±55	20-356
KH-Aufenthalt (Tage)	n=312	5,12 ±6,68	1-70
ITS-Aufenthalt (j/n)	n=312	18 (5,7%)/296 (94,3%)	

Tab. 3 Beschreibung der Gesamtkohorte
[MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung]

Tab. 3 zeigt, dass das durchschnittliche Alter in der untersuchten Kohorte bei 68,89 ± 9,68 Jahren lag. Mehr als Dreiviertel der Patienten waren männlich. Etwa die Hälfte der Patienten (53,8%) litt an einem diagnostizierten Diabetes mellitus. Ein Viertel der Patienten war herzinsuffizient (25,8%). Gemäß Tab. 3 war ein hoher Raucheranteil mit 63,4% auffällig.

Der durchschnittliche Kreatinin-Wert vor KM lag bei 1,24 mg/dl. Die berechnete mittlere GFR ergab 64,06 ±21,05 ml/min/1,73qm. Ungefähr die Hälfte der Patienten (55,1%) erhielt eine Wässerung mit einer durchschnittlichen Menge von 1480ml NaCl. Eine zusätzliche ACC-Prophylaxe erhielten 148 Patienten und bekamen im Rahmen dessen durchschnittlich 1905±730mg verabreicht. Das mittlere KM-Volumen

betrug 112ml, wobei maximal 365ml und minimal 20ml verabreicht worden sind. Die Patienten der Studienkohorte verbrachten im Rahmen der KM-Applikation durchschnittlich $5,12 \pm 6,68$ Tage im Krankenhaus, wobei 5,7% der Patienten zwischenzeitlich auf die Intensivstation aufgenommen werden mussten.

4.2.1 Verteilung der S100a12-Werte

Die nachfolgenden Abb. 7 und Abb. 8 zeigen die Verteilung der S100a12-Werte im Urin der gesamten Studienkohorte *vor* bzw. *24h nach* KM.

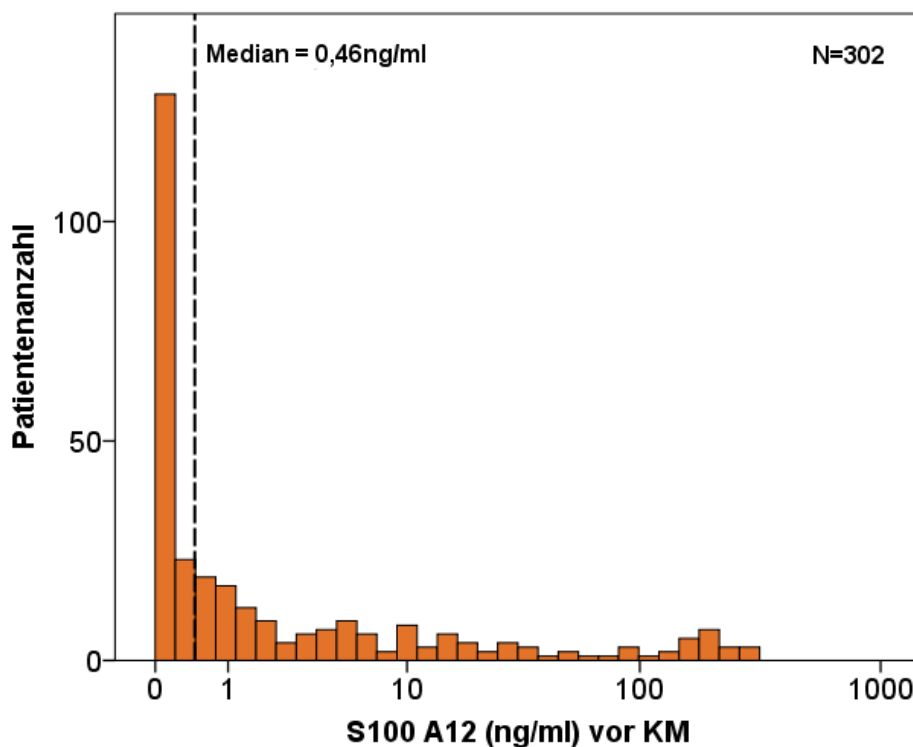


Abb. 7 Verteilung der S100a12-Konzentrationen in der Gesamtkohorte vor KM
 [S100a12-Achse logarithmisch skaliert]

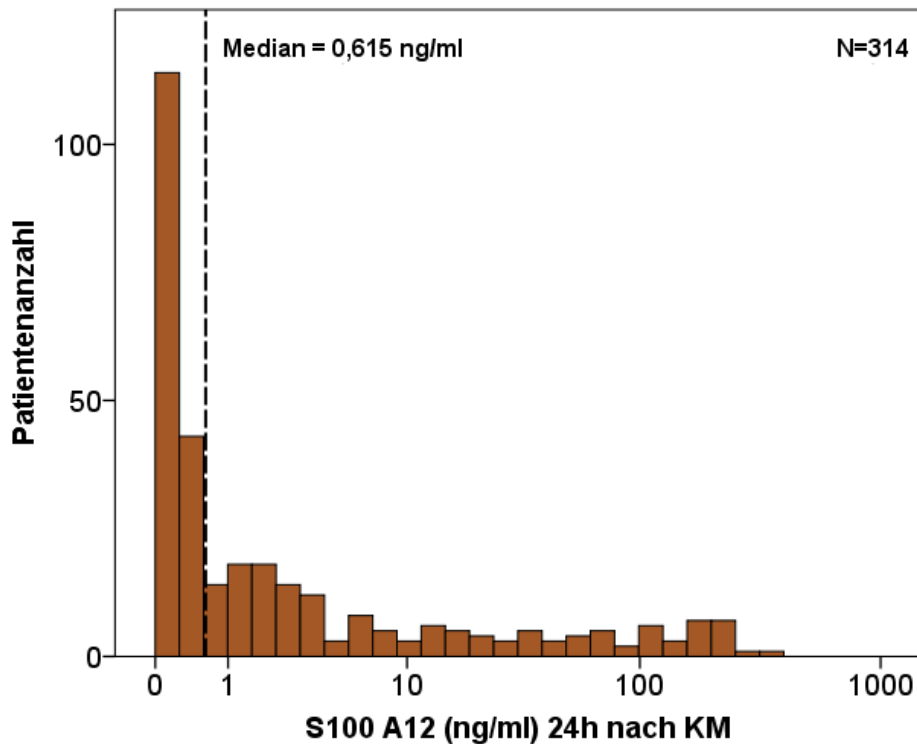


Abb. 8 Verteilung der S100a12-Konzentrationen in der Gesamtkohorte 24h nach KM

[S100a12-Achse logarithmisch skaliert]

Wie den Abb. 7 und Abb. 8 zu entnehmen ist, sind die Messwerte für S100a12 im Urin nicht normalverteilt. Der Kolmogorov-Smirnov-Test und Shapiro-Wilk-Test bestätigen dies. Die Werte zeigen sowohl *vor* als auch *24h nach* KM eine Linksschiefelage. Die Aussagekraft des Median ist somit größer als die des Mittelwerts. Zusätzlich ergibt sich aus den Werten sowohl *vor* als auch *24h nach* KM eine große Spannweite (0,0015ng/ml-285,59 ng/ml *vor* KM und 0,0015-336,79 *24h nach* KM). *Vor* KM liegt der Median der S100a12 Werte bei 0,46ng/ml, *24h nach* KM bei 0,60ng/ml. Insgesamt zeigt sich also *vor* und *24h nach* KM eine ähnliche Verteilung der Werte (vgl.Abb.7 und Abb.8)

4.2.2 Verteilung der Calprotectin-Werte

Die nachfolgenden Graphiken geben Auskunft über die Verteilung der Calprotectin-Werte in der Gesamtkohorte.

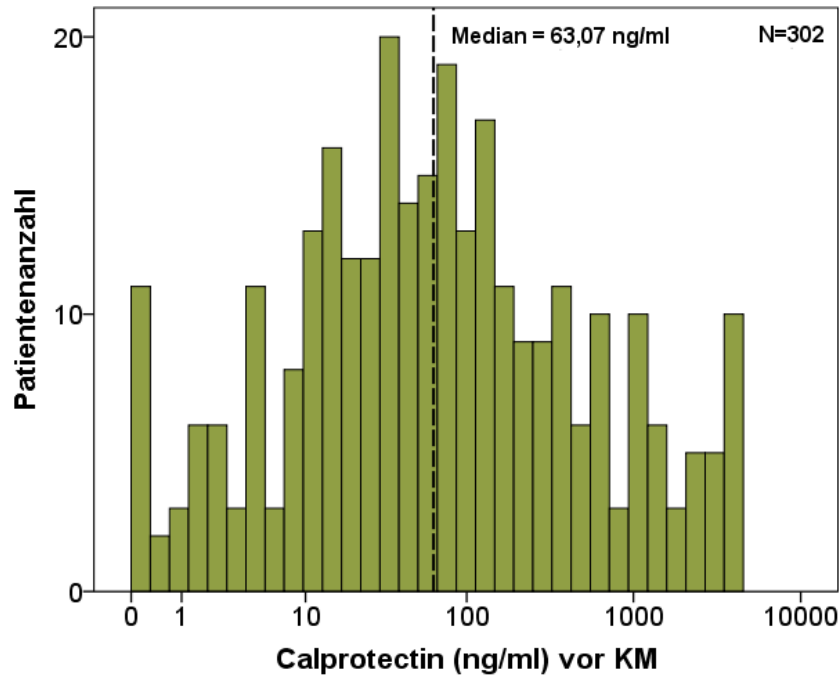


Abb. 9 Verteilung der Calprotectin-Konzentration in der Gesamtkohorte vor KM
 [Calprotectin-Achse logarithmisch skaliert]

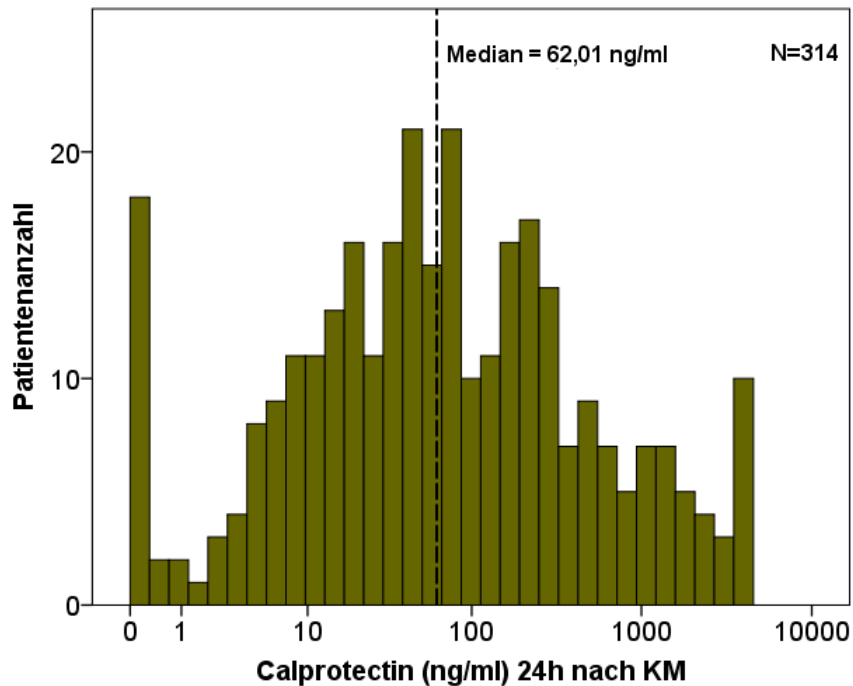


Abb. 10 Verteilung der Calprotectin-Konzentration in der Gesamtkohorte 24h nach KM
 [Calprotectin-Achse logarithmisch skaliert]

Anhand der Abb. 9 und Abb. 10 lässt sich erkennen, wie die Calprotectin Werte *vor* KM und *24h nach* KM verteilt sind. Trotz der scheinbaren Normalverteilung, zeigte sich in den Tests nach Kolmogorov-Smirnov sowie nach Shapiro-Wilk, dass die Calprotectin- Werte *vor* und *24h nach* KM nicht normalverteilt sind. Somit ist auch hier die Aussagekraft des Median größer als die des Mittelwerts. Die Spannweite reicht von 0,17 bis 4200ng/ml *vor* KM und 0,165 bis 4200ng/ml *24h nach* KM. Der Median der Calprotectin Werte *vor* KM befindet sich bei 62,93ng/ml, der *24h nach* KM bei 57,76ng/ml. Insgesamt zeigt sich auch hier *vor* und *24h nach* KM eine ähnliche Verteilung der Werte (vgl. Abb. 9 und Abb. 10).

4.3 Analyse des primären Endpunkts (CIN)

Zur weiteren Analyse wurden die Patienten in zwei Gruppen unterteilt. Eine Gruppe bestand aus Patienten, die definitionsgemäß eine CIN entwickelten (siehe Kapitel 3.2), die andere aus solchen ohne CIN. Es wurden 283 Patienten, von denen mindestens eine Kreatininmessung nach KM verfügbar war, ausgewertet. Die folgende Tab. 4 liefert Informationen über die Patientencharakteristika und demographische Daten beider Gruppen im Vergleich.

Parameter	Anzahl	Keine CIN	CIN	p-Wert t-Test/x ²
		n=262 (92,6%)	n=21 (7,4%)	
		Häufigkeit(%) oder MW±SD		
Geschlecht (m)	n=283	204 (77,9%)	11 (52,4%)	0,09
Alter (Jahre)	n=283	68,87±9,71	69,33±10,25	0,83
BMI (kg/m²)	n=283	29,22±5,37	28±5,51	0,31
Diabetes mellitus (j)	n=283	139 (49,1%)	15(71,4%)	0,26
Herzinsuffizienz (j)	n=283	66 (25,2%)	5 (32,8%)	0,88
Anämie (j)	n=283	72(27,5%)	6 (28,6%)	0,91
Nikotin (j)	n=283	87 (34,3%)	11 (52,4%)	0,22
Alkoholabusus (j)	n=283	24 (10,1%)/	2(9,5%)	0,99
Kreatinin vor KM(mg/dl)	n=283	1,25±0,41	1,18±0,68	0,63
eGFR vor KM (ml/min/1,73m²)	n=283	62,90±20,04	72,54±30,75	0,17
Urinkreatinin vor KM (mg/dl)	n=277	7,80±4,92	7,85±4,09	0,97
Kreatinin 24h nach KM(mg/dl)	n=283	1,19±0,39	1,44±0,68	0,12
Wässerung (j)	n=283	149 (56,9%)	9 (42,9%)	0,21
Wässerungsmenge(ml)	n=283	1516±703	1250±600	0,26
ACC-Prophylaxe (j)	n=282	126 (48,3%)	14 (66,7%)	0,19
ACC-Menge	n=282	1923±717	2142±838	0,44
KM-Volumen (ml)	n=283	115±56,57	115±44,57	0,95
KH-Aufenthalt (Tage)	n=283	4,83±5,6	7,71±11,5	0,42
ITS-Aufenthalt (j)	n=283	14 (5,3%)	3 (14,3%)	0,97
Tod (j)	n=283	4 (1,5%)	2(9,5%)	0,02

Tab. 4 Kohortenvergleich von Patienten mit und ohne CIN
 [MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, X²: Chi-Quadrat-Test]

Gemäß Tab. 4 konnten 21 Patienten mit einer CIN identifiziert werden. Das entspricht 7,4% der Gesamtkohorte.

Alle 283 Patienten erhielten nach 24h eine Serumkreatininmessung. Nur 86 dieser Patienten (30,3%) bekamen zusätzlich eine Messung nach 48h.

Von den 21 Patienten, die eine CIN entwickelten, bekamen nur 11 Patienten (52,3%) eine Kreatinin-Messung nach 48h.

Die Geschlechterverteilung in der Gruppe ohne CIN hat einen Frauenanteil von nur 22,1%. Dagegen findet sich in der CIN-Gruppe ein Frauenanteil von 52,4%. Die Frauen in der Studienkohorte bekamen also signifikant häufiger eine CIN als die Männer (p=0,09).

Das Durchschnittsalter der Patienten ist in beiden Gruppen vergleichbar (siehe Tab. 4). Der Anteil der Diabetiker ist in der CIN-Gruppe höher (71,4% vs 49,1%), jedoch nicht signifikant.

Die Nierenfunktion, gekennzeichnet durch die Kreatinin-Werte und die GFR zum Zeitpunkt *vor* KM, ist im Mittel in der CIN-Gruppe zwar eingeschränkter, jedoch nicht signifikant geringer.

In der Tab. 4 zeigt sich bei den Patienten ohne CIN ein Abfall der Kreatinin-Werte von 1,25mg/dl *vor* KM auf 1,19mg/dl *24h nach* KM. Dieser Abfall erweist sich als signifikant ($p=0,027$). Wohingegen sich in der Gruppe mit CIN definitionsgemäß ein Anstieg des Kreatinin zeigt (Vgl. Tab.4). Im Bezug auf den Einfluss einer Wässerung und ACC-Prophylaxe auf die CIN ist der Tab. 4 zu entnehmen, dass es keine signifikanten Unterschieden in der Häufigkeit und verabreichten Menge zwischen der CIN-Gruppe und der Gruppe ohne CIN gab. Die Wässerung und ACC-Prophylaxe haben somit scheinbar keinen Einfluss auf die CIN.

Beide Gruppen erhielten im Mittel das gleiche KM-Volumen von 115ml. Einen Zusammenhang zwischen KM-Menge und CIN scheint es in unserer Studienkohorte folglich nicht zu geben.

Die Krankenhausaufenthaltsdauer ist in der CIN-Gruppe länger und die Häufigkeit der ITS-Aufnahmen höher. Diese Unterschiede sind jedoch nicht signifikant.

Signifikant hingegen ist, dass die Patienten der CIN-Gruppe häufiger verstorben sind (9,5% vs. 1,5%, $p=0,02$).

4.3.1 S100a12 als Biomarker für CIN

In der nachfolgenden Tab. 5 sind sowohl die Absolutwerte als auch die normierten Werte sowie der Verlauf der S100a12-Konzentration der beiden Gruppen im Vergleich dargestellt.

CIN					
Parameter	Nein (n=262)		Ja (n=21)		p-Wert (M-W-U)
	Median(SW)	MW±SD	Median(SW)	MW±SD	
S100a12 vor KM(ng/ml)	0,36 (0,00-285,59)	17,55 ±50,63	0,92 (0,00-148,39)	14,80 ±37,75	0,324
normiertes S100a12 vor KM	0,06 (0,00-199,71)	4,12 ±16,96	0,16 (0,00-18,55)	2,36 ±5,46	0,396
S100a12 24h nach KM (ng/ml)	0,47 (0,00-336,79)	20,29 ±53,55	3,24 (0,00-69,96)	10,89 ±18,14	0,024
normiertes S100a12 24h nach KM	0,06 (0,00-159,63)	4,51 ±17,11	0,30 (0,0-15,66)	2,21 ±4,11	0,030
Verlauf S100a12 (ng/ml)	0,00 (-261,84 - +211,58)	2,27 ±41,03	0,29 (-136,24 - +68,78)	-3,91 ±42,45	0,715
Verlauf normiertes S100a12	0,00 (-40,07-48,53)	0,31 ±7,70	0,01 (-17,06-15,16)	-0,15 ±6,97	0,446

Tab. 5 S100a12-Konzentration, Vgl. Patienten mit und ohne CIN

[SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

In Tab. 5 fällt auf, dass CIN-Patienten signifikant höhere S100a12-Werte *24h nach* KM haben (p= **0,024**). Die normierte S100a12-Konzentration verhält sich analog zu den absoluten S100a12-Werten. Im Median zeigen sich die Werte bereits *vor* KM höher als bei den Patienten ohne CIN (0,92 ng/ml vs.0,36ng/ml). Dies ist jedoch aufgrund der erheblichen Streuung der Werte nicht signifikant.

Die Mittelwerte liefern aufgrund der Häufigkeitsverteilung (siehe Abb.7 und Abb.8) keine zuverlässigen Aussagen und sind, der Vollständigkeit halber, von nun an in grau angegeben.

Vergleicht man den Median der S100a12 Werte in beiden Gruppen *vor* und *24h nach* KM, so sind die Werte in der CIN-Gruppe im Median stärker gestiegen als in der Gruppe ohne CIN (siehe Tab3) (0,36ng/dl →0,47ng/dl vs.0,92ng/dl →3,24ng/dl).

Die folgenden Abb. 11 und Abb. 12 veranschaulichen die S100a12-Werte Verteilung der Patienten, mit und ohne CIN in Form von Boxplots. Für jede der beiden Gruppen werden Quartile, der Median, der größte und der kleinste nicht-extreme Wert sowie ggf. Ausreißer und Extremwerte dargestellt.

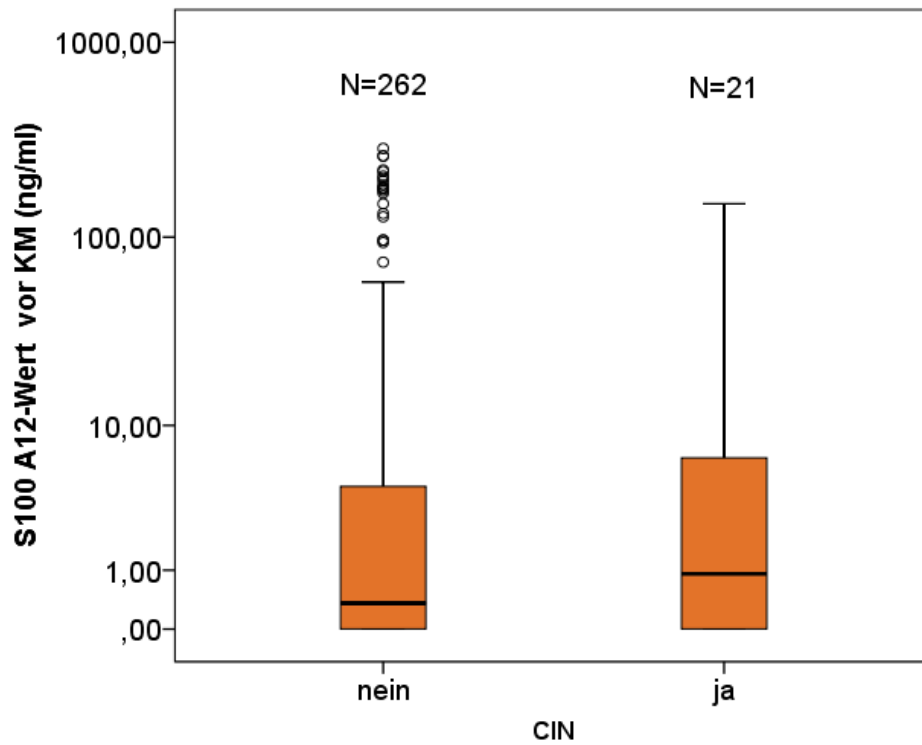


Abb. 11 S100a12-Konzentration vor KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN
 [S100a12-Achse logarithmisch skaliert]

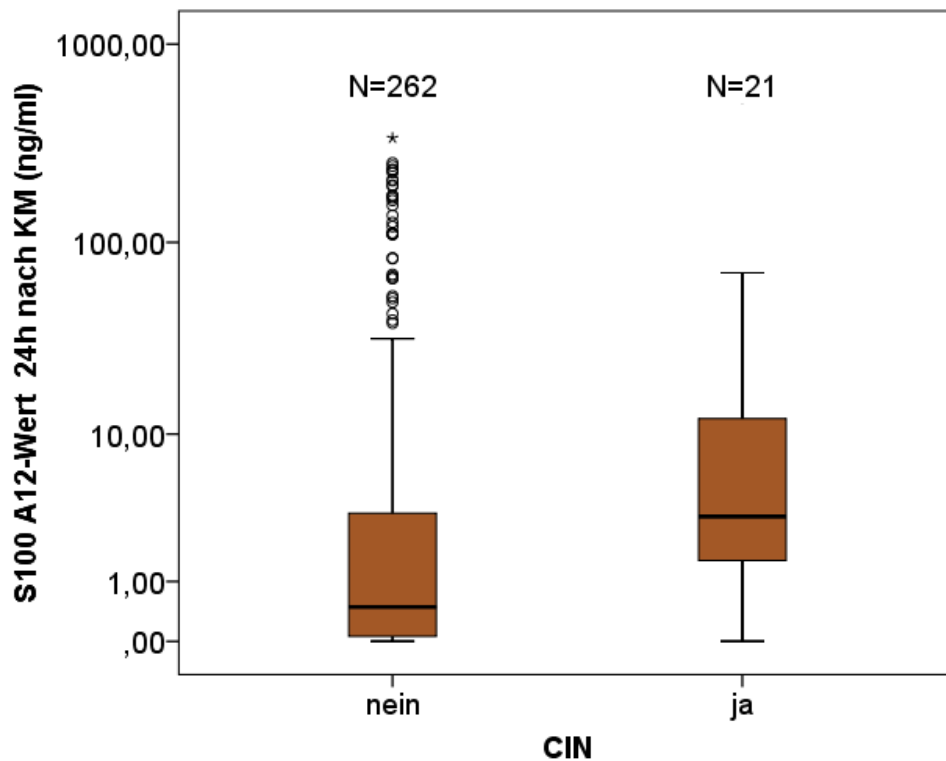


Abb. 12 S100a12-Konzentration 24h nach KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN
 [S100a12-Achse logarithmisch skaliert]

In Abb. 11 ist zu sehen, dass die Werte der Patienten mit CIN sich im Großen und Ganzen vor KM nicht von denen der Patienten ohne CIN unterscheiden. Der Median und die Quartilen liegen ungefähr auf gleicher Höhe. Die Werte der Patienten ohne CIN streuen in Richtung hoher Konzentrationen.

Hingegen ist in Abb. 12, 24h nach KM, ein deutlicher Unterschied zwischen den beiden Gruppen zu erkennen. In der Gruppe mit CIN liegt zum einen der Median deutlich höher, zum anderen endet sogar die untere Quartile schon oberhalb des Median der Patienten ohne CIN. Dieser Sachverhalt verdeutlicht den signifikanten Unterschied, der in Tab.3 am gelb markierten p-Wert erkennbar ist. Wobei jedoch bei Patienten ohne CIN in der Abb. 12 mehr Ausreißer zu erkennen sind.

Sensitivität und Spezifität von S100a12 bezüglich CIN

Zur Bestimmung der diagnostischen Leistungsfähigkeit von S100a12 in Bezug auf die CIN sind im Folgenden ROC-Plots abgebildet.

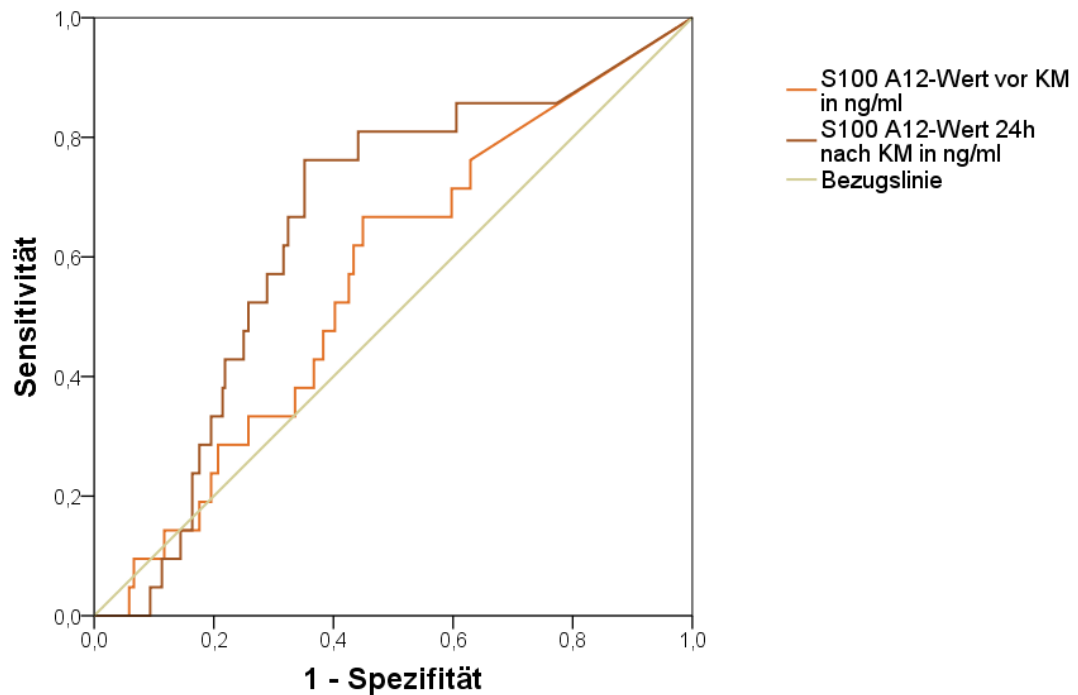


Abb. 13 ROC-Analyse von S100a12 vor KM und 24h nach KM (ng/ml) für CIN

Die Abb.13 zeigt die ROC-Analyse von S100a12 vor KM (orange) und 24h nach KM (braun). Die Kurven, aufgetragen in Sensitivität über 1-Spezifität, zeigen für die Messzeitpunkte vor und 24h nach KM unterschiedliche Verläufe. Durch die sehr breite Streuung (siehe Tab. 5) entstehen flach verlaufende Kurven.

Beide Kurven schließen das Konfidenzintervall 0,5 mit ein.

4.3.2 Calprotectin als Biomarker für CIN

Im Weiteren werden die Calprotectin-Werte der CIN-Patienten mit denen der Patienten ohne CIN verglichen. Die entsprechenden Ergebnisse sind der Tab. 6 zu entnehmen.

CIN					
Parameter	Nein (n=262)		Ja (n=21)		p-Wert
	Median(SW)	MW± SD	Median(SW)	MW± SD	M-W-U
Calprotectin vor KM (ng/ml)	57,19 (0,17-4200,00)	385,27 ±872,38	120,39 (0,17-4200,00)	661,34 ±1129,34	0,083
normiertes Calprotectin vor KM	8,35 (0,02-3214,18)	72,88 ±236,28	22,91 (0,03-715,37)	111,53 ±201,08	0,140
Calprotectin 24h nach KM(ng/ml)	56,70 (0,17-4200,00)	409,93 ±925,59	165,12 (0,165-1161,92)	280,95 ±338,92	0,333
normiertes Calprotectin 24h nach KM	7,02 (0,01-3480,22)	77,46 ±280,37	18,79 (0,01-225,89)	46,17 ±65,17	0,251
Verlauf Calprotectin (ng/ml)	0,00 (-4141,07-+3860,20)	20,87 ±873,94	-11,01 (-3232,00-+777,83)	-380,38 ±1056,33	0,419
Verlauf normiertes Calprotectin	-0,48 (-672,85-+953,73)	2,90 ±150,81	-1,99 (-696,58-+161,55)	-65,36 ±197,57	0,634

Tab. 6 Calprotectin-Konzentration, Vgl. Patienten mit CIN und ohne CIN
 [SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Gemäß Tab. 6 nimmt das Calprotectin vor KM Werte zwischen 0,17 und 4200,00 ng/ml an. Insgesamt ergeben sich keine signifikanten Unterschiede aus den Calprotectin Werten der Patienten mit CIN gegenüber den Patienten ohne CIN.

Aufgrund der Verteilung (siehe Abb.9 und Abb.10) ist hier der Median aussagekräftiger als der Mittelwert.

Der Tab.6 lässt sich weiterhin entnehmen, dass die Calprotectin-Konzentration im Median vor KM bei den CIN-Patienten schon deutlich höher ist als bei Patienten ohne CIN. Hier zeigt sich ein statistischer Trend (p=0,083). Der Unterschied der Calprotectin-Konzentrationen zwischen den Gruppen nimmt 24h nach KM zwar absolut zu. Jedoch ist dies nicht signifikant.

Zur Veranschaulichung der Werteverteilung erfolgt nun die Darstellung mittels Box-plots in den Kategorien Patienten mit und ohne CIN.

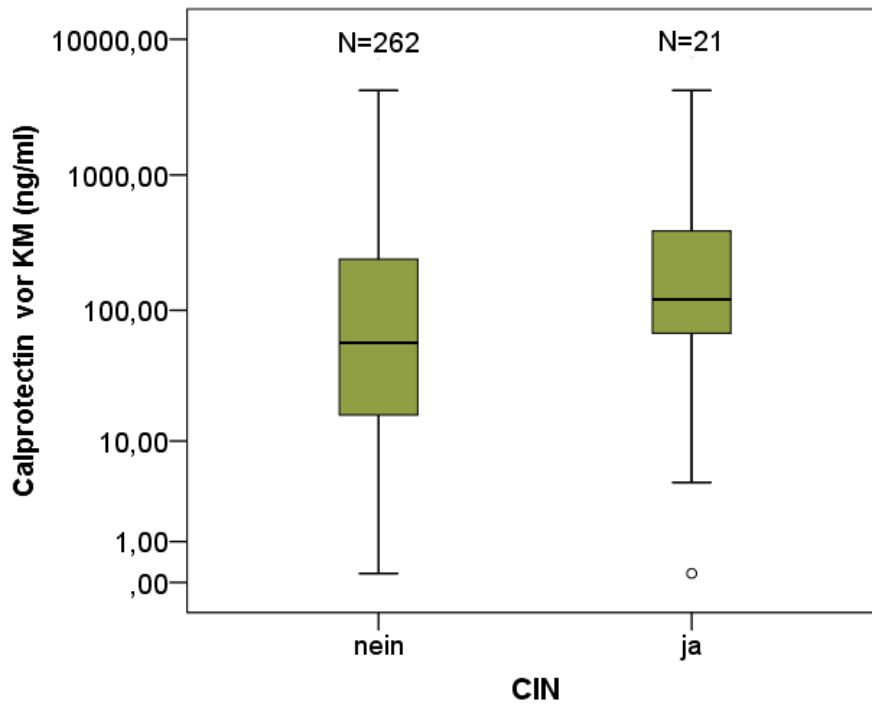


Abb. 14 Calprotectin-Konzentration vor KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN
 [Calprotectin-Achse logarithmisch skaliert]

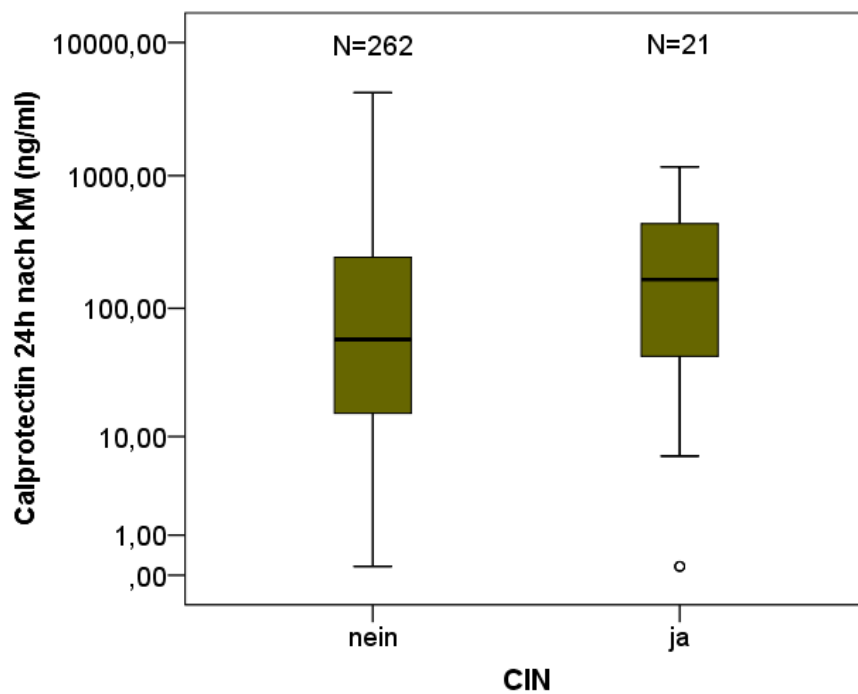


Abb. 15 Calprotectin-Konzentration 24h nach KM (ng/ml) Vgl. Patienten mit und ohne CIN
 [Calprotectin-Achse logarithmisch skaliert]

Die in Abb.14 und Abb.15 gezeigten Box-Plots verdeutlichen den Sachverhalt aus Tab. 6. Der Median der Calprotectin-Werte liegt in der CIN-Gruppe sowohl *vor* als auch *24h nach* KM deutlich höher als bei den Patienten ohne CIN.

In der graphischen Darstellung *vor* KM zeigt sich zudem, dass auch hier die untere Quartile der Patienten mit CIN bereits oberhalb des Median der Patienten ohne CIN liegt (siehe Abb. 15). Dieser Unterschied ist *nach* KM nicht mehr zu erkennen.

Zusammenfassend zeigen die Gruppen *vor* KM einen größeren Unterschied der Calprotectin Konzentration als danach.

Sensitivität und Spezifität von Calprotectin bezüglich CIN

Zur Bestimmung der diagnostischen Leistungsfähigkeit von Calprotectin in Bezug auf die CIN sind im Folgenden ROC-Plots abgebildet.

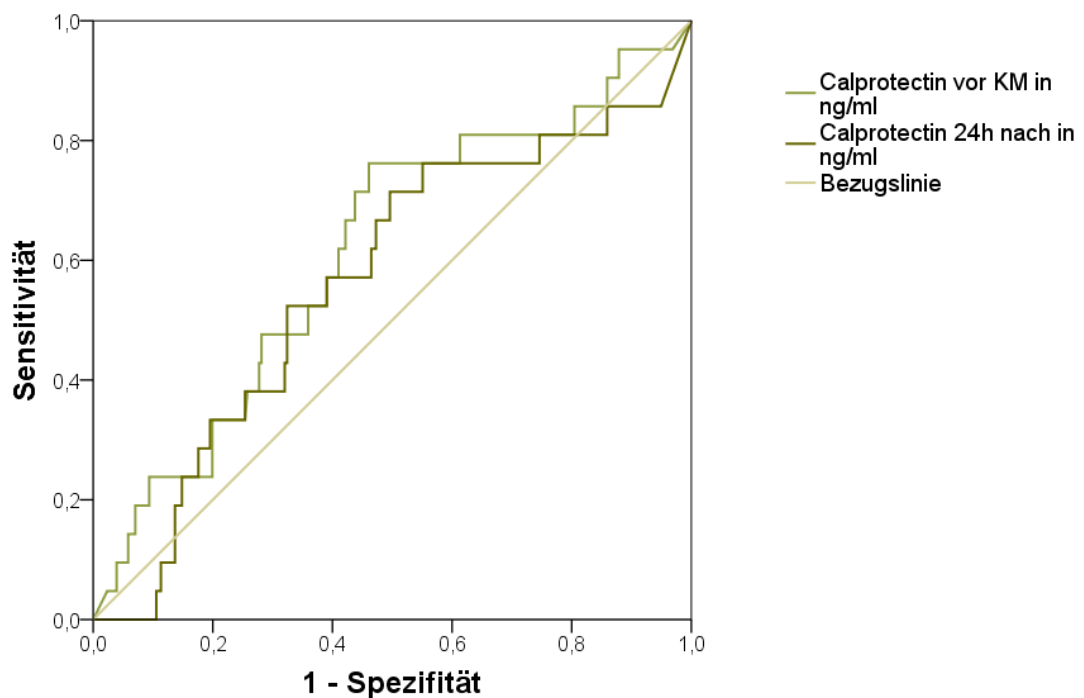


Abb. 16 ROC-Analyse Calprotectin vor KM und 24h nach KM (ng/ml) für CIN

Die Abb.16 zeigt die ROC-Analyse der Calprotectin Werte *vor* (hellgrün) und *24h nach* KM (dunkelgrün). Beide Kurven weisen einen flachen Verlauf, fast parallel zur Bezugslinie, auf. Dies entsteht durch die breite Streuung der Werte (vgl. Tab.6).

Beide Kurven schließen das Konfidenzintervall 0,5 mit ein.

4.4 Analyse der sekundären Endpunkte

In der nachfolgenden Tab. 7 sind demographische Daten und Patientencharakteristika erfasst. Die Patienten werden in Endpunktkategorien (Dialyse, KH-Aufenthalt, Kreatinin-Verdopplung und Tod), eingetreten bis zur Follow-Up Untersuchung unterteilt.

Parameter	Dialyse	KH- Aufenthalte	Krea- Verdoppelung	Tod
	Häufigkeit (%) oder MW ± SD			
Patientenzahl	11 (0,04%)	42 (13,4%)	1 (0,003%)	8 (0,03%)
Geschlecht (m)	7 (63,6%)	32 (76,1%)	1	5 (62,5%)
Alter (Jahre)	69,9±14,3	70,5±11,5	53	69,75±7,78
BMI (kg/m²)	27,34±6,23	29,24±5	35,66	25,43±3,09
Diabetes mellitus (j)	6 (54,6%)	26 (59,1%)	1	4 (50%)
Herzinsuffizienz (j)	6 (54,6%)	20 (45,5%)	0	4 (50%)
Anämie (j)	7 (63,6%)	19 (42,2%)	1	6 (75%)
Nikotin (j)	5 (45,5%)	30(69,8%)	1	3 (37,5%)
Alkoholabusus (j)	3 (27,3%)	8 (20%)	1	1 (12,5%)
Kreatinin vor KM (mg/dl)	2,26±0,95	1,40±0,67	0,94	1,85±0,97
eGFR vor KM	37,07±24,33	60,93±25,45	89,22	49,56±30,58
Kreatinin im Urin vor KM (mg/dl)	4,41± 3,01	5,32± 2,68	4,37	5,32±2,68
Wässerung (j)	7 (63,6%)	26 (59,1%)	0	5 (62,5%)
Wässerungsmenge(ml)	1400±730	1400±565	0	1400±550
KM-Volumen (ml)	122,54±87,32	99,57±35,05	88	103,62±38,96
KH-Aufenthaltsdauer (Tage)	25,09±23,03	6,61±8,3	3	23,13±25,10
ITS-Aufenthalt (j)	5 (45,5%)	2 (4,5%)	0	2 (25%)
CIN	3 (27,2%)	5 (8,4%)	0	2 (25%)

Tab. 7 Kohortenbeschreibung unterteilt nach Endpunkten
[MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung]

Anhand der Tab. 7 ist zu erkennen, dass es 11 Patienten gab, die eine Dialyse benötigten, 42 Patienten, die bis zum Follow-up noch mindestens einmal im Krankenhaus waren und 8 Patienten, die verstorben sind. Eine Kreatinin-

Verdoppelung hatte nur ein Patient, so dass hier eine weitere statistische Betrachtung nicht sinnvoll ist.

Das durchschnittliche Alter der Patienten ist in allen Kategorien mit dem der Gesamtkohorte vergleichbar (vgl. Tab.3 und Tab. 7).

Die Patienten, die im Verlauf dialysepflichtig wurden, hatten einen signifikant höheren Ausgangskreatininwert ($p=0,004$) im Vergleich zu den anderen Patienten der Studienkohorte (vgl. Tab. 3 und Tab. 7). Die GFR ($37,07\pm 24,33\text{ml/min/1,73qm}$ vs. $62,90\pm 20,04\text{ml/min/1,73qm}$) war signifikant niedriger ($p=0,00$). Die dialysepflichtigen Patienten haben mit $122,54\pm 87,32\text{ml}$ deutlich mehr KM bekommen. Von den 11 dialysepflichtigen Patienten hatten 3 (27,2%) eine CIN. Dies ist signifikant gegenüber der Gesamtkohorte ($p=0,006$). Die Krankenhausaufenthaltsdauer der Dialysepflichtigen war signifikant höher als der Kohortendurchschnitt ($25,09\pm 23,03$ Tage vs. $4,38\pm 3,69$ Tage; $p=0,014$; vgl. Tab. 3 und Tab. 7).

Insgesamt mussten 43 Patienten bis zum Follow-Up noch einmal nicht elektiv in einer Klinik aufgenommen werden. Gründe dafür waren in 32 Fällen kardiovaskuläre Ereignisse wie pektanginöse Beschwerden, kardiale Dekompensation, Herzinfarkte, Herzrhythmusstörungen und Dyspnoe. Fünf Patienten wurden wegen oberer oder unterer gastrointestinaler Blutungen aufgenommen. Die restlichen sieben Patienten hatten Traumata, Infektionen, eine dermatologische oder onkologische Aufnahmediagnose.

Patienten mit einem erneuten Krankenhausaufenthalt bis zum Follow-Up waren, verglichen mit dem gesamten Kollektiv, sehr häufig Raucher (69,8% vs 34,1%) und hatten häufig einen Alkoholabusus (20% vs. 9%) in der Vorgeschichte (vgl. Tab. 3 und Tab. 7). Die Serumkreatinin-Werte ($1,40\pm 0,67\text{mg/dl}$ vs. $1,22\pm 0,37\text{ mg/dl}$) und die berechnete GFR ($60,93\pm 25,45\text{ml/min/1,73qm}$ vs. $65,21\pm 20,55\text{ ml/min/1,73qm}$) waren jedoch nicht signifikant verschieden.

Bis zur Follow-Up Untersuchung sind 8 Patienten verstorben. Fünf Patienten verstarben dabei an kardiovaskulären Ereignissen, zwei an einer Sepsis, und bei einem Patienten ist die Todesursache unbekannt. Die verstorbenen Patienten waren mit einem Durchschnitts-BMI von $25,43\pm 3,09\text{ kg/m}^2$ leichter als die Studienkohorte ($28,99 \pm 5,44\text{ kg/m}^2$). Es besteht keine Signifikanz (vgl. Tab. 3 und Tab. 7). Sie hatten im Vergleich zum Gesamtkollektiv ein erhöhtes Serumkreatinin ($1,85\pm 0,97\text{mg/dl}$ vs.

1,22±0,40mg/dl) und eine verminderte GFR (49,56±30,58 vs. 64,51±20,67mg/dl). Beides zeigt eine Tendenz, ist jedoch nicht signifikant. Die Dauer des initialen Krankenhausaufenthalts ist im Durchschnitt deutlich erhöht (23,13±25,10 Tage vs. 4,63±4,76). Zwei von 8 verstorbenen Patienten erlitten zuvor eine CIN. Das entspricht 25% und ist signifikant gegenüber der Gesamtkohorte (p=0,015).

4.4.1 S100a12 und Calprotectin als Biomarker der sekundären Endpunkte

Zusammenfassend zeigen die S100a12- und Calprotectin-Werte keine signifikanten Ergebnisse bezüglich der einzelnen Endpunkte „Dialysepflichtigkeit“, „weitere Krankenhausaufenthalte“ und „Tod“ innerhalb von drei Monaten nach KM. Die dazugehörigen Tabellen sind im Anhang dargestellt.

Dialyse

Die Patienten, die im Verlauf dialysepflichtig wurden, haben im Median *24h nach* KM deutlich höhere S100a12 Werte (0,56ng/dl vs 3,28 ng/dl; vgl. Tab. Anhang 1). Dies ist jedoch nicht signifikant (p= 0,164).

Das Calprotectin ist im Median in der Gruppe der dialysepflichtigen Patienten *vor* und *24h nach* KM höher. Das normierte Calprotectin ist *vor* KM deutlich erhöht. Hier zeichnet sich eine Tendenz im Unterschied zu nicht-dialysepflichtigen Patienten ab (22,32ng/ml vs. 8,98ng/ml; p=0,072; vgl. Tab. Anhang 2).

Weitere Krankenhausaufenthalte

Der Tab. Anhang 3 ist zu entnehmen, dass Patienten, die im Verlauf mindestens einen weiteren Krankenhausaufenthalt aufweisen, tendenziell ein erhöhtes S100a12 *vor* KM haben (0,36ng/ml vs.1,09 ng/ml; p=0,072). *24h nach* KM ist dieser Unterschied weniger stark ausgeprägt (0,54ng/ml vs. 0,78ng/ml).

Auch der Median der Calprotectin-Werte *vor* KM liegt in der Gruppe mit weiterem KH-Aufenthalt höher. (81,39ng/ml vs. 58,63ng/ml). Es zeigt sich keine Signifikanz. *24h nach* KM ist ein gegenteiliger Effekt zu beobachten. Die Patienten mit weiterem Krankenhausaufenthalt haben nun niedrigere Calprotectin-Konzentrationen (45,33ng/ml vs. 57,14 ng/ml; vgl. Tab. Anhang 4).

Tod

Die im Verlauf verstorbenen Patienten haben deutlich höhere S100a12-Konzentrationen im Median sowohl *vor* als auch *24h nach* KM (0,45ng/ml vs.

3,55ng/ml) und (10,05 ng/ml vs 0,55ng/ml). Es zeichnet sich für die Werte *24h nach* KM eine Tendenz ab ($p=0,087$; vgl. Tab. Anhang 5).

Die Calprotectin-Werte sind in der Gruppe der verstorbenen Patienten sowohl *vor* als auch *24h nach* KM bemerkenswert höher (vgl. Tab. Anhang 6). Allerdings sind die Werte nicht statistisch signifikant.

Die Einzelanalyse der sekundären Endpunkte hat insgesamt ergeben, dass sich weder *vor* noch *24h nach* KM für S100a12 oder Calprotectin statistisch signifikante Ergebnisse zeigen. In einzelnen Betrachtungen ergeben sich jedoch statistische Tendenzen. Wir gehen davon aus, dass sich diese mit Hilfe einer Fallzahlerhöhung durch die Kombination der Endpunkte deutlicher zeigen.

4.4.2 Kombinierte Endpunktanalyse

In der kombinierten Endpunktanalyse werden die zuvor einzeln analysierten sekundären Endpunkte Dialyse, Tod und weiterer Krankenhausaufenthalt zusammengefasst betrachtet. Ist eines der Ereignisse bis zur Follow-up Untersuchung nach drei Monaten aufgetreten, so wird die Frage „Endpunkt erreicht“ mit „ja“ beantwortet. In der folgenden Tab. 8 werden die demographischen Daten der so entstandenen Gruppen abgebildet.

Kombinierte Endpunkte			
	nein Patientenzahl	ja Patientenzahl	P-Wert t-Test/x ²
Geschlecht(m)	178 (77,1%) n=231	38 (74,5%) n=51	0,697
Alter (Jahre)	68,54± 9,20 n=231	70,67±11,33 n=51	0,207
BMI (kg/m²)	28,94± 5,56 n=231	28,79±5,35 n=51	0,772
Diabetes mellitus (j)	127 (56,9%) n=231	29 (56,8%) n=51	0,875
Herzinsuffizienz (j)	51 (22,1%) n=231	23 (45,1%) n=51	0,001
Anämie (j)	56 (24,2%) n=231	21 (41,2%) n=51	0,014
Nikotin (j)	143 (63,3%) n=226	31 (62%) n=50	0,866
Alkoholabusus (j)	21 (10,1%) n=208	9 (19,1%) n=47	0,082
Kreatinin vor KM (mg/dl)	1,18± 0,33 n=223	1,47±0,71 n=49	0,009
GFR vor KM	66,17±19,75 n=223	58,22±26,02 n=49	0,054
Wässerung (j)	122 (53,0%) n=230	31 (60,8%) n=51	0,315
Wässerungsmenge(ml)	1403± 558 n=122	1500± 710 n=31	0,419
ACC-Menge (mg)	1835± 619 n=102	1960± 832 n=30	0,451
KM-Volumen (ml)	115,16± 53,42 n=230	106,80± 51,62 n=51	0,335
KH-aufenthaltsdauer (Tage)	4,22± 3,42 n=231	9,61± 13,93 n=51	0,008
ITS-Aufenthalt (j)	10(4,3%) n=231	7 (13,7%) n=51	0,011
CIN (j)	14 (6,7%) n=208	7(15,6%) n=45	0,052

Tab. 8 Beschreibung der Kohorte in der Kombinierten Endpunktanalyse
 [MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test, X²: Chi-Quadrat-Test]

Es zeigen sich in den beiden Gruppen gemäß Tab. 8 keine signifikanten Unterschiede hinsichtlich der Alters- und Geschlechterverteilung. Patienten, die einen kombinierten Endpunkt erreichten, bekamen tendenziell häufiger eine CIN (15,6% vs.6,7%) (p=0,052) und zeichnen sich erwartungsgemäß durch eine erhöhte Morbidität aus. Diese ist z.B. an einer signifikant höheren Rate an Herzinsuffizienz (p=0,001) und Anämie (p=0,014) zu erkennen (Vgl. Tab. 8). Die Dauer des initialen

Krankenhausaufenthalts ($p=0,008$) und die Anzahl der ITS-Aufenthalte ($p=0,011$) sind ebenfalls Zeichen für höhere Morbidität.

Die niedrigere GFR ($p=0,05$) und das höhere Serumkreatinin *vor* KM ($p=0,009$) beschreiben eine signifikant schlechtere Nierenfunktion der Patienten, die einen kombinierten Endpunkt erreichten.

In den folgenden Tabellen (Tab. 9 und Tab. 10) sind die Werte von S100a12 und Calprotectin dargestellt.

kombinierte Endpunkte					
Parameter	Nein (n=222)		Ja (n=50)		p-Wert
	Median(SW)	MW± SD	Median(SW)	MW± SD	M-W-U
S100a12 <u>vor</u> KM (ng/ml)	0,39 (0,00- 285,59)	16,40 ± 48,47	1,08 (0,00- 260,96)	17,43 ±47,54	0,160
normiertes S100a12 <u>vor</u> KM	0,06 (0,00-87,13)	3,22 ±10,67	0,15 (0,00-199,71)	5,66 ± 28,27	0,194
S100a12 <u>24h nach</u> KM (ng/ml)	0,57 (0,00-336,79)	17,33 ± 49,37	0,66 (0,00-192,65)	21,56 ± 48,76	0,962
normiertes S100a12 <u>24h nach</u> KM	0,06 (0,00-125,17)	3,28 ±13,24	0,09 (0,00-159,63)	6,49 ±23,91	0,736
<u>Verlauf</u> S100a12 (ng/ml)	0,00 (-261,84- 211,58)	0,93 ±38,23	0,00 (- 136,24- 167,25)	4,12 ±42,54	0,584
<u>Verlauf</u> normiertes S100a12	0,00 (-36,75- 48,53)	0,06 ± 6,95	0,00 (-40,07- 32,82)	0,83 ±9,87	0,686

Tab. 9 S100a12-Konzentration in der Kombinierten Endpunktanalyse

[SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

kombinierte Endpunkte					
Parameter	Nein (n=222)		Ja (n=50)		p-Wert
	Median(SW)	MW± SD	Median(SW)	MW± SD	M-W-U
Calprotectin vor KM(ng/ml)	62,93 (0,17- 4200)	370,23 ± 814,35	78,03 (0,17- 4200)	498,48 ±1065,96	0,321
normiertes Calprotectin vor KM	9,12 (0,01- 753,57)	60,18 ±129,21	11,04 (0,03-3214,18)	131,04 ±467,48	0,471
Calprotectin 24h nach KM (ng/ml)	58,65 (0,17-4200)	351,70 ±810,64	42,99 (0,17-4200)	404,18 ± 889,56	0,742
normiertes Calprotectin 24h nach KM	7,21 (0,01-1445,30)	51,69 ± 151,02	8,53 (0,02-3480,23)	121,95 ±499,70	0,777
Verlauf Calprotectin (ng/ml)	0,17 (-4141,07- 3860,20)	-18,53 ±821,99	-1,74 (-3232,00- 3588,24)	-94,30 ±942,95	0,307
Verlauf normiertes Calprotectin	-0,89 (672,85- 725,08)	-8,49 ±134,96	-0,58 (-696,58- 641,87)	-9,09 ±161,40	0,667

Tab. 10 Calprotectin-Konzentration in der kombinierten Endpunktanalyse
 [SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Unerwarteterweise zeigt auch die kombinierte Endpunktanalyse keine signifikanten Unterschiede der Werte für S100a12 oder Calprotectin. Dies gilt für S100a12 und Calprotectin sowohl *vor* KM als auch *24h danach*. Somit ist die Aussagekraft der Biomarker durch die Kombination der Endpunkte nicht größer geworden als sie in der Einzelbetrachtung war.

4.5 Geschlechtsspezifische Unterschiede von S100a12 und Calprotectin

Während der Analyse der Daten zeigte sich ein geschlechtsspezifischer Unterschied der S100a12- und Calprotectin-Werte, der hier zusätzlich dargestellt wird.

Die nachfolgende Tab. 11 enthält die Kohortenbeschreibung unterteilt nach Geschlecht.

Geschlecht			
Parameter	Männer n=239 (76,1%)	Frauen n=75 (23,9%)	P-Wert t-Test/x ²
	Häufigkeit (%) oder MW ± SD		
Alter (Jahre)	68,13±10,14	71,27±7,65	0,005
BMI (kg/m²)	28,78±4,95	29,68±6,74	0,286
Diabetes mellitus (j)	117 (49%)	52 (69,3%)	0,008
Herzinsuffizienz (j)	51 (21,3%)	30 (40%)	0,001
Anämie (j)	72 (30,1%)	14 (18,7%)	0,052
Nikotin (j)	167 (71,1%)	32 (45,1%)	0,000
Alkoholabusus (j)	31 (14,6%)	0 (0%)	0,000
Kreatinin vor KM (mg/dl) (n=215/68)	1,25±0,39	1,23±0,54	0,788
GFR (ml/min pro 1,73m²) (n=215/68)	66,89±19,30	54,89±23,84	0,000
Wässerung (j/n)	126 (52,9%)	47 (62,7%)	0,140
Wässerungsmenge(ml)	1480±710	1480±660	0,996
ACC (j)	109 (46,2%)	39 (52%)	0,228
ACC-Menge (mg)	1866±684	2015±842	0,342
KM-Volumen (ml)	115,38±58,32	102,53±42,77	0,041
KH-aufenthaltsdauer (Tage)	4,66±5,10	6,59±10,10	0,115
ITS-Aufenthalt (j)	10 (4,2%)	8 (10,7%)	0,035

Tab. 11 Kohortenbeschreibung unterteilt nach Geschlecht
[MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, X²: Chi-Quadrat-Test]

In Tab. 11 lässt sich erkennen, dass das Patientenkollektiv aus ungefähr einem Viertel Frauen (23,1%) und drei Viertel Männern (76,1%) bestand. Die Frauen waren mit einem mittleren Alter von 71,27±7,65 Jahren signifikant älter als die Männer (68,13±10,14) p=0,005. Mit einem Anteil von 69,3% litten die Frauen signifikant häufiger an einem Diabetes mellitus als die männlichen Patienten (49%; p=0,008). Die weiblichen Patienten hatten signifikant häufiger eine Herzinsuffizienz (p=0,01) und benötigten vermehrt Intensivstationsaufenthalte (p= 0,035).

Zusätzlich bekamen Frauen signifikant häufiger eine CIN (p=0,009) (siehe Tab.4). Wobei der Kreatininwert vor KM bei den Frauen (n=68) (1,25±0,39mg/dl) und Männern (n=215) (1,23±0,54mg/dl) keinen signifikanten Unterschied aufweisen (p=0,788). In der GFR zeigt sich jedoch ein signifikanter Unterschied (p=0,00). Insgesamt erhielten die Männer (115,38 ± 58,32ml) signifikant mehr KM als die weiblichen Patienten (102,53±42,77ml).

Die Frauen hatten bei Einschluss in die Studie bei gleichem Kreatinin schon eine signifikant niedrigere GFR als die Männer (p= 0,000). Insgesamt litten aber signifikant mehr Männer unter Alkohol- und Nikotinabusus (p=0,000).

Die nachfolgende Tab. 12 zeigt die S100a12 Werte nach Geschlecht getrennt.

Geschlecht					
Parameter	Männer (n=239)		Frauen (n=75)		p-Wert
	Median(SW)	MW± SD	Median(SW)	MW± SD	M-W-U
S100a12 <u>vor</u> KM (ng/ml)	0,20 (0,00- 231,47)	6,50 ±27,44	7,15 (0,00- 285,59)	53,64 ± 81,32	0,000
normiertes S100a12 <u>vor</u> KM	0,25 (0,00- 35,8)	1,02 ±4,28	1,77 (0,00- 199,71)	13,13 ± 30,03	0,000
S100a12 <u>24h nach</u> KM (ng/ml)	0,31 (0,00- 243,72)	9,26 ±34,28	8,93 (0,00-336,79)	51,61 ± 76,71	0,000
normiertes S100a12 <u>24h nach</u> KM	0,04 (0,00- 45,58)	1,20 ±5,07	1,53 (0,00- 159,63)	13,22 ± 29,22	0,000
<u>Verlauf</u> S100a12 (ng/ml)	0,01 (-94,27- 211,58)	2,79 ±24,36	0,00 (-261,84- 155,24)	-2,93 ± 68,95	0,698
<u>Verlauf</u> normiertes S100a12	0,00 (-18,48-39,50)	0,20 ± 3,87	-0,12 (-40,07- 48,53)	0,10 ±13,60	0,068

Tab. 12 S100a12-Konzentration unterteilt nach Geschlecht

[SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Anhand von Tab. 12 ist zu sehen, dass sich die S100a12 Werte von Frauen und Männern hoch signifikant unterscheiden.

Obwohl *vor* KM die Spannweite der Werte zwischen Männern und Frauen vergleichbar ist, liegt der Median der S100a12-Werte der Frauen signifikant höher. Ähnliches gilt für die Werte *24h nach* KM (Vgl. Tab. 12).

Zwischen den Geschlechtern ist der Verlauf der Messwerte nicht signifikant unterschiedlich. Somit sind die Konzentrationen der Frauen zwar in der Gesamtheit *vor* und *24h nach* KM höher, die Reaktion auf das KM aber ähnlich wie bei den Männern. *Vor* KM sind die S100a12 Werte bei beiden Geschlechtergruppen im Median niedriger als *24h nach* KM.

Die Abb. 17 und Abb. 18 geben jeweils für Frauen und Männer die Verteilung der S100a12-Konzentration graphisch wieder. Für jede der beiden Gruppen werden Median, Quartile, der größte und der kleinste nicht-extreme Wert, sowie Ausreißer und extreme Werte dargestellt.

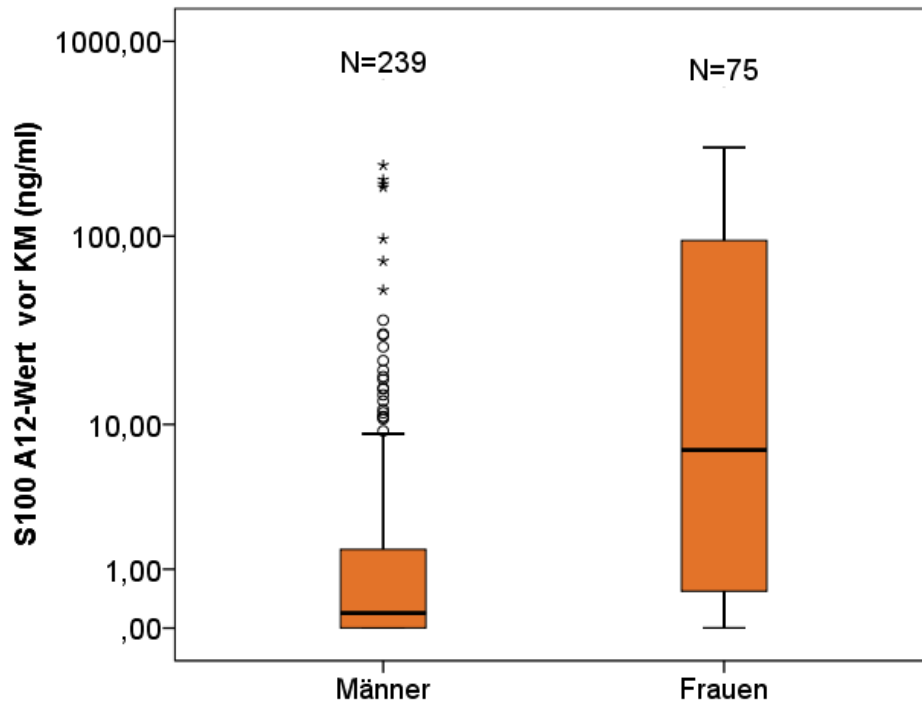


Abb. 17 S100a12-Konzentration vor KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht
 [S100a12-Achse logarithmisch skaliert]

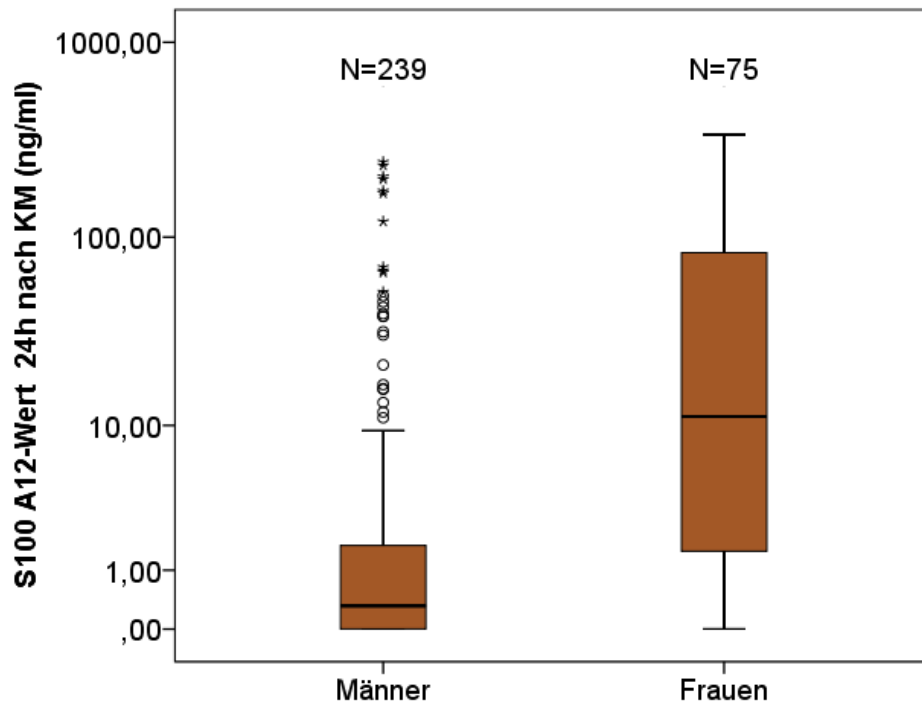


Abb. 18 S100a12-Konzentration 24h nach KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht

[S100a12-Achse logarithmisch skaliert]

Aus den Abb. 17 und Abb. 18 ist zu entnehmen, dass Frauen insgesamt einen größeren Quartilenabstand als Männer haben. Die Werte der Frauen sind auch in der Gesamtheit der Verteilung deutlich höher. So liegt die 25. Perzentile der Frauen vor KM oberhalb des Median, 24h nach KM sogar oberhalb der 75. Perzentile der Männer. Insgesamt ist die Boxhöhe bei den Männern geringer als bei den Frauen. Dennoch finden sich beim männlichen Geschlecht Ausreißer und Extremwerte nach oben, die im Wertebereich der Frauen liegen.

Vergleicht man die beiden Abb. 17 und 18, so ist der Geschlechterunterschied 24h nach KM also noch ausgeprägter.

In der Tab.13 sind die Calprotectin-Konzentrationen nach Geschlecht getrennt aufgetragen.

Geschlecht					
Parameter	Männer (n=231)		Frauen (n=71)		p-Wert
	Median(SW)	MW± SD	Median(SW)	MW± SD	M-W-U
Calprotectin <u>vor</u> KM (ng/ml)	37,78 (0,17-4200)	178,12 ±495,21	564,23 (15,57-4200)	1130,16 ±1352,72	0,000
normiertes Calprotectin <u>vor</u> KM	5,28 (0,10-491,38)	26,81 ±69,73	80,93 (1,33-3214,18)	225,20 ±415,03	0,000
Calprotectin <u>24h nach</u> KM	37,88 (0,17-4200)	209,24 ±607,53	338,20 (8,05-4200)	927,45 ±1239,44	0,000
normiertes Calprotectin <u>24h nach</u> KM	4,72 (0,01-813,56)	24,81 ±87,40	57,76 (1,66-3480,23)	213,20 ±477,71	0,000
<u>Verlauf</u> Calprotectin (ng/ml)	0,00 (-2748,84- 3860,2)	35,07 ±516,10	0,00 (-4141,07- 3588,24)	-209,76 ±1526,04	0,438
<u>Verlauf</u> normiertes Calprotectin	-0,24 (-366,43- 725,08)	-1,42 ±76,48	-17,67 (-696,58- 953,73)	-14,09 ±279,84	0,017

Tab. 13 Calprotectin-Konzentration unterteilt nach Geschlecht
 [SW : Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U : Mann-Whitney-U-Test]

Insgesamt ist der Tab. 13 zu entnehmen, dass die Calprotectin-Werte sich geschlechtsabhängig ähnlich den S100a12-Konzentrationen verhalten (Vgl. Tab 12).

Frauen haben sowohl *vor* KM als auch *24h nach* KM im Median einen hoch signifikant höheren Wert für Calprotectin als Männer. Die Spannweite der Frauen beginnt *vor* und *24h nach* KM bei höheren Werten als die der Männer (Vgl. Tab. 13). Auffällig ist, dass die Werte bei den Frauen *vor* KM höher als *24h danach* sind. Wohingegen bei den Männern die Calprotectin-Konzentration im Median *vor* und *24h nach* KM gleich bleiben.

Die nachfolgenden Graphiken veranschaulichen den Geschlechterunterschied in der Verteilung der Calprotectin Konzentrationen *vor* und *24h nach* KM.

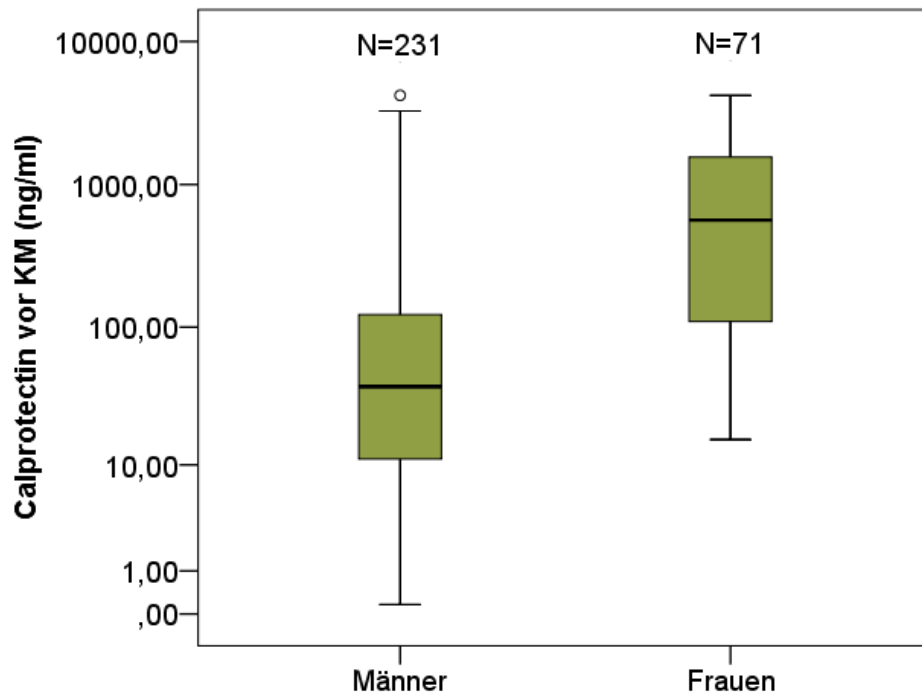


Abb. 19 Calprotectin-Konzentration vor KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht
 [Calprotectin-Achse logarithmisch skaliert]

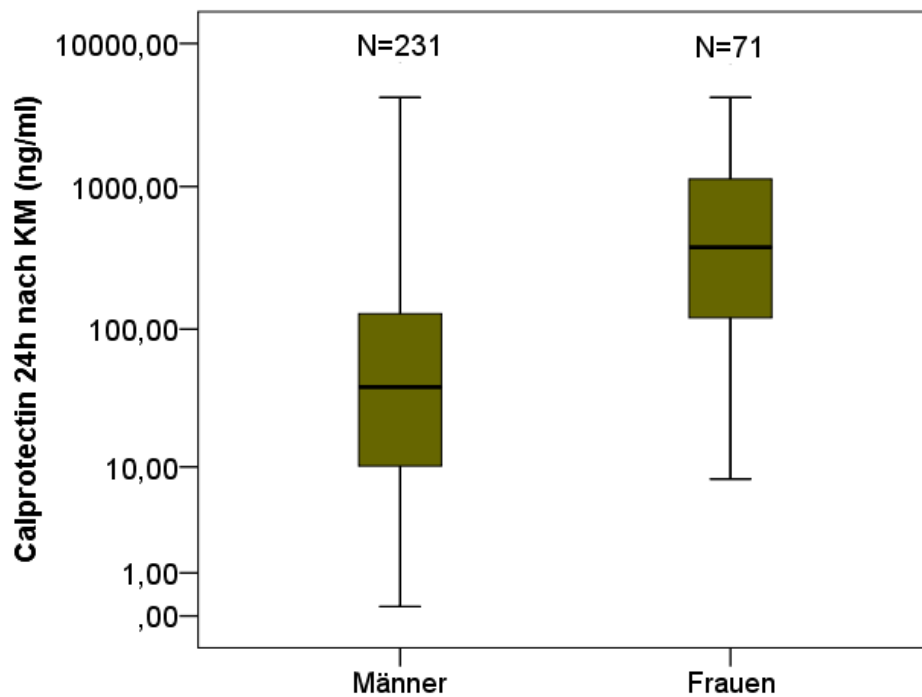


Abb. 20 Calprotectin-Konzentration 24h nach KM (ng/ml) unterteilt nach Geschlecht
 [Calprotectin-Achse logarithmisch skaliert]

Auch hier in Abb. 19 und Abb. 20 wird der große Unterschied zwischen den Geschlechtern sowohl *vor* als auch *24h nach* KM deutlich. Die 25.Perzentile der Frauen liegt zu beiden Zeitpunkten oberhalb der 75.Perzentile der Männer. Auffällig ist, dass, im Gegensatz zu den S100a12-Werten, auch die minimale Calprotectin-Konzentration der Frauen wesentlich höher ist als die der Männer.

Insgesamt betrachtet, lässt sich anhand der Tab. 10, 11 und Abb.17-20 eindeutig erkennen, dass es geschlechtsabhängig signifikante Unterschiede der Werte gibt. Dies gilt gleichermaßen für S100a12 und Calprotectin.

4.6 Zusammenfassung der Ergebnisse

Bezüglich des primären Endpunkts „CIN“ ergibt sich für Patienten mit CIN *24h nach* KM eine signifikant höhere S100a12-Konzentration im Urin gegenüber Patienten ohne CIN. Für Calprotectin kann dies nicht gezeigt werden.

Die Analyse der sekundären Endpunkte „Dialyse“, „weitere Krankenhausaufenthalte“ und „Tod“ ergibt für S100a12 und Calprotectin keine signifikanten Ergebnisse, auch wenn Patienten, die einen Endpunkt erreichten im Median generell höhere Werte haben. Eine kombinierte Analyse der Endpunkte erbringt ebenfalls nicht-signifikante Ergebnisse für S100a12 und Calprotectin sowohl *vor* als auch *24h nach* KM.

Die geschlechtergetrennte Analyse zeigt, dass sowohl die S100a12- als auch die Calprotectin-Konzentrationen bei weiblichen Patienten *vor* und *24h nach* KM signifikant höher sind, als bei den Männern.

5 DISKUSSION

Die CIN ist eine Komplikation, die nach der Applikation von jodhaltigen Kontrastmitteln auftreten kann. Risikofaktoren für ein Auftreten sind unter anderem: das Alter des Patienten (<75 Jahre), Diabetes mellitus, vorbestehende Niereninsuffizienz und hohe KM-Volumina (26) (siehe Abb. 1). Die Inzidenz dieser patientenbezogenen Risikofaktoren wird vermutlich in unserer alternden und morbider werdenden Gesellschaft zunehmen. Gleichzeitig steigt der technische Fortschritt. So werden immer kompliziertere radiologische Verfahren an mitunter sehr kranken Patienten möglich gemacht. Gerade in der interventionellen Radiologie, wie z.B. dem Stenting beim Herzkatheter, wird sehr viel KM benötigt. Folglich ist zu erwarten, dass die Inzidenz der CIN in den kommenden Jahrzehnten steigt. Eine frühe Diagnostik oder vielmehr überhaupt ein Erkennen dieser Patienten ist wichtig, da nachgewiesenermaßen das Outcome der Patienten nach einer CIN schlechter ist (4, 7-9).

5.1 Kreatinin und seine Nachteile

Die Definition der CIN basiert auf Kreatinin, einem seit langem etablierten Laborparameter. Das Zeitfenster, in dem das Kreatinin ansteigen muss, wird in der Literatur am häufigsten mit 24-72h nach KM angegeben (4, 8, 16-19). Das Kreatinin ist also ein träger Parameter, und es stellt sich daher die Frage, ob es sich noch um eine zeitgemäße Methode zur Diagnostik der CIN handelt.

Der in der heutigen Zeit immer stärker steigende Kostendruck des Gesundheitssystems führt u.a. zu einer extrem kurzen Krankenhausverweildauer. Im Durchschnitt liegt diese mittlerweile für eine unkomplizierte Herzkatheteruntersuchung bei einem Tag (20). Das bedeutet, Patienten, die einen Kreatininanstieg, respektive CIN nach 48-72h entwickeln, werden während ihres stationären Aufenthaltes gar nicht erfasst. Dem Umstand der frühzeitigen Entlassungen haben wir den Zeitrahmen der kreatininbasierten Definition von CIN in unserer Studie angepasst. Wir gehen von einer CIN aus, wenn das Serumkreatinin um 25% oder 0,5mg/dl innerhalb von 24-48 h nach KM unter Ausschluss anderer Ursachen steigt.

Auch innerhalb unserer Studie wurde die Problematik der kurzen Krankenhausverweildauer deutlich: Von den 283 Patienten, die in die in Bezug auf

den primären Endpunkt „CIN“ in die Datenanalyse eingegangen waren, waren nach 48h nur noch 86 (30,3%) Patienten in der Klinik. Das bedeutet gleichzeitig, dass bei 217 Patienten (11 Patienten hatten bereits 24h nach KM eine CIN.), zum Zeitpunkt ihrer Entlassung gemäß den kreatininbasierten Definitionen, eine CIN nicht ausgeschlossen werden kann.

Dies bestätigt noch einmal wie dringend die Suche nach neuen Biomarkern, damit diese Patienten eine Chance auf Behandlung erhalten.

5.2 Diskussion der Einschlusskriterien und Studienkohorte

In unsere Studie wurden Patienten eingeschlossen, die zum Zeitpunkt der Aufnahme entweder einen bekannten Diabetes mellitus und/oder eine Kreatininerhöhung $>1,1$ mg/dl hatten. Hierbei handelt es sich um Patienten mit einem leicht erhöhten Risikoprofil für eine CIN (siehe Abb.1). Unsere Patientenkohorte weist eine eGFR von durchschnittlich > 60 ml/min/1,73qm² vor KM auf. Das ist höher als man insgesamt bei diesen Einschlusskriterien vielleicht erwarten würde, denn eine eGFR > 60 ml/min/1,73qm² bedeutet eine nur geringfügige Nierenfunktionseinschränkung (25). Zu erklären ist dadurch, dass etwa die Hälfte der Patienten (53,8%) in unserer Studie Diabetiker sind. Diese neigen zur osmotischen Diurese oder einem Hyperfiltrationsyndrom. In diesem Fall kann die eGFR durch die von uns verwendete MDRD-Formel um 10-40% überschätzt werden (109).

Im Risikoscore von Mehran et al wird die Inzidenz der CIN beim Vorliegen von mindestens den Risikofaktoren Diabetes mellitus und/oder Niereninsuffizienz mit 7,5% angegeben (26) (Abb. 1). In unserer Gesamtkohorte lag die Inzidenz von CIN bei 7,4%. Damit konnten wir mit unserer Studienkohorte, ohne die Berücksichtigung von weiteren Details, insgesamt die angegebene Inzidenz bei diesen Risikofaktoren reproduzieren.

Unsere Gesamtkohorte hat ein Durchschnittsalter von $68,89 \pm 9,68$ Jahren und einen BMI von $28,99 \pm 5,44$ kg/m². Laut Gesundheitsberichterstattung des Bundes von 2011, basierend auf dem KORA Herzinfarktregister Augsburg des Helmholtz Zentrums München, entspricht dies dem Durchschnitt der deutschen Patienten mit koronarer Herzkrankheit (110).

Insgesamt spiegelt unsere Studienkohorte somit das kardiologische Patientengut repräsentativ wider.

5.3 S100a12 als Biomarker für CIN

Bislang gibt es keine Veröffentlichungen von Arbeitsgruppen, die S100a12 im Urin nachweisen konnten. Somit existieren momentan noch keinerlei Referenzwerte.

Die Arbeitsgruppe um Mori et al. bestimmte S100a12 im Plasma bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz unter Hämodialyse. Sie beschrieben eine positive Korrelation mit arteriosklerotischen Veränderungen der Carotiden (111). Bekannt ist, dass sie im Rahmen ihrer Studie versuchten, S100a12 auch im Urin zu messen. Laut den Ausführungen war es ihrem selbstentwickelten ELISA weder bei chronisch nierenenerkrankten Patienten noch bei einer gesunden Vergleichsgruppe möglich, S100a12 im Urin zu detektieren. Folglich stellten sie die Hypothese auf, dass S100a12 nicht im Urin enthalten ist.

Wir konnten jedoch bei jedem unserer Probanden S100a12 im Urin nachweisen. Unsere Messwerte haben eine Spannweite von 0,0015-336,79 ng/ml. Somit haben wir die von Mori et al. aufgestellte Hypothese widerlegt.

Eine der wichtigsten Erkenntnisse dieser Arbeit besteht darin, dass Patienten, die eine CIN entwickeln signifikant höhere S100a12-Werte im Urin *24h nach* KM haben als Patienten ohne CIN. Dies zeigt somit, dass S100a12 sich als Biomarker für die Diagnostik einer CIN bereits nach 24h eignen kann.

Hierzu sollten im Weiteren genauere Analysen zum zeitlichen Verlauf von S100a12 im Urin nach KM erfolgen. So könnte die Probenentnahme auf den Zeitpunkt der höchsten Konzentration im Urin optimiert werden.

Patienten, die im Verlauf eine CIN entwickelten, zeigen keine signifikant erhöhten S100a12-Werte im Urin *vor* KM. Somit ist S100a12 im Urin *vor* KM also kein Marker, anhand dessen sich bei unserer Fallzahl das patientenbezogene Risiko für eine CIN abschätzen lässt.

Die große Spannweite der Messwerte von S100a12 im Urin sowohl *vor* KM als auch *24h nach* KM kann im Rahmen unserer Studie zunächst nur als deskriptiv betrachtet werden, da wie bereits erwähnt, bisher keine Vergleichswerte beschrieben sind. Zusätzlich ist zu bedenken, dass S100a12 ein Protein der Immunreaktion ist. Somit kann es auch zu unspezifischen Erhöhungen unabhängig von der Kontrastmittelapplikation kommen. Um diesen Einfluss genauer zu beschreiben,

sollten noch weitere Studien mit wesentlich größeren Fallzahlen folgen. Auf diesen Daten basierend sollten Normwerte und Einflussfaktoren genauer bestimmt werden.

ROC-Kurven: Die ROC- Analyse stellt eine Möglichkeit dar, unabhängig von der Prävalenz einer Erkrankung einen Schwellenwert empirisch zu ermitteln. Anhand dessen können Gesunde von Kranken unterschieden werden.

Um eine ROC-Analyse durchführen zu können, muss es zwischen der Gruppe der Erkrankten und den Gesunden einen Unterschied der Mittelwerte geben. Dieses Kriterium ist in unserer Analyse der Daten gegeben. Die breite Streuung der Werte sowohl in der Gruppe der CIN Patienten als auch in der Gruppe ohne CIN führt jedoch zu einem sehr flachen Kurvenverlauf der ROC-Kurven. Zusätzlich schließen alle erstellten ROC-Kurven das Konfidenzintervall 0,5 mit ein. Somit ist S100a12 zum jetzigen Zeitpunkt basierend auf diesen Daten ein schwacher Biomarker für die CIN. Es ist jedoch der Einsatz von S100a12 in einem Pattern mit weiteren Biomarkern im Rahmen der Entwicklung eines Urintests zur Diagnostik der CIN nach 24h denkbar. Hierzu sollten weitere Studien erfolgen.

5.4 Calprotectin als Biomarker für CIN

Insgesamt hat unsere Studie gezeigt, dass die Bestimmung von Calprotectin (S100a8/9) im Urin in unserem Patientenkollektiv keine signifikanten Ergebnisse liefert. Es ist nach unserem Studienmodell weder *vor* noch *24h nach* KM möglich, Patienten, die eine CIN entwickeln oder entwickeln werden anhand eines signifikanten Unterschieds der Calprotectin-Werte zu identifizieren.

Im Gegensatz zu S100a12 wurde Calprotectin im Urin bereits in drei weiteren Studien gemessen. In zwei davon wurde, wie in unserer Studie das ELISA-Kit der Firma *Immundiagnostik Bensheim* benutzt, so dass eine Vergleichsmöglichkeit besteht.

Eine dieser beiden Studien wurde von Heller et al durchgeführt (112). Sie untersuchten Calprotectin im Urin zur Unterscheidung von prärenalem und intrinsischem akutem Nierenversagen erfolgreich an 101 Patienten.

In einer Folgestudie wurde ein Jahr später das Patientenkollektiv nach dem gleichen Studienprotokoll in der selben Klinik von Seibert et al um 87 Patienten erweitert

(113). Insgesamt konnten so zusammengefasst in der Studie von Seibert et al. 188 Patienten ausgewertet werden.

Das Einschlusskriterium beider Studien war ein akutes Nierenversagen nach den klinischen Kriterien des AKIN (acute kidney injury network) (114). Die Patienten wurden nach prärenalen und intrinsische Ursachen unterteilt. Die Urinprobenentnahme erfolgte im Durchschnitt am dritten Tag nach Diagnosestellung des akuten Nierenversagen ($3,2 \pm 3,7$ Tage).

Zusammengefasst konnte in den Studien gezeigt werden, dass Calprotectin im Urin bei intrinsischem akutem Nierenversagen gegenüber einer Kontrollgruppe erhöht ist. Die Kontrollgruppe bestand hierbei aus 15 gesunden Probanden (neun Männern und 6 Frauen) mit einem Durchschnittsalter von $33,8 \pm 10$ Jahren und einem BMI von $23,4 \pm 3,6$ kg/m². Das Serumkreatinin lag in dieser Gruppe bei $0,86 \pm 0,12$ mg/dl und die eGFR bei $96,4 \pm 22,2$ ml/min pro 1,73m².

Der Median der Calprotectin-Werte betrug bei der gesunden Vergleichskohorte 45ng/ml mit einer Spannweite von 19-139ng/ml. Die Kontrollgruppe ist mit nur 15 Probanden nicht repräsentativ für die Allgemeinbevölkerung, dennoch liefert sie einen Anhaltspunkt für die Größenordnung von Werten gesunder Menschen.

Sogar die Patienten, die in unserer Studie keine CIN entwickelten, haben verglichen zu den gesunden Probanden von Heller et al. bereits vor KM im Median höhere Calprotectin-Werte (57,19 ng/ml, Spannweite 0,017-4200ng/ml). Dies lässt vermuten, dass das Alter, die eingeschränkte GFR, ein Diabetes mellitus und andere Morbiditäten einen Einfluss auf die Calprotectin-Konzentration haben.

Die Patienten, die in der Studie von Seibert et al. an einem akuten intrinsischen Nierenversagen litten, hatten hierfür heterogene Ursachen. So wurden Patienten eingeschlossen, die ein akutes Nierenversagen aufgrund von z.B. akuten Glomerulonephritiden, Rhabdomyolyse und Hypotonie-induzierter akuter Tubulusnekrosen bekamen. Die annähernd die Hälfte der Patienten hatte jedoch ein akutes Nierenversagen aufgrund einer Urosepsis. Bei manchen Patienten lag ein medikamenteninduziertes Nierenversagen vor. Fünf dieser Patienten litten an einer CIN, die somit von Seibert et al. zu den intrinsischen Nierenversagen gezählt wird.

Nun stellt sich die Frage, warum Seibert et al. im Gegensatz zu unserer Studie einen signifikanten Unterschied der Calprotectin-Konzentration im Urin zeigen konnten.

Insgesamt wurden bei Seibert et al. 90 Patienten, davon 53 (58,9%) Männer, mit intrinsischem akutem Nierenversagen erfasst. Sie waren im Durchschnitt $69,6 \pm 6,9$ Jahre alt und hatten einen BMI von $25,7 \pm 5,6 \text{ kg/m}^2$ (113). Diese Parameter sind mit unseren 21 Patienten, die eine CIN entwickelten, vergleichbar (Alter $69,33 \pm 10,25$ Jahre, BMI $28 \pm 5,51 \text{ kg/m}^2$). Jedoch hatten die Patienten nach der Diagnose von akutem Nierenversagen in der Studien von Seibert et al. ein Serum-Kreatinin durchschnittlich $3,8 \pm 2,2$ (mg/dl) und eine eGFR von $22,3 \pm 16,9$ (ml/min pro $1,73 \text{ m}^2$) (113). Somit lag bei diesen Patienten eine deutlich schlechtere Nierenfunktion vor als bei den Patienten, die in unserer Studie eine CIN entwickelten (Kreatinin $1,18 \pm 0,68$ mg/dl, GFR $72,54 \pm 30,75$ ml/min pro $1,73 \text{ m}^2$).

Die Patienten aus der Studie von Seibert et al. zeigen wesentlich höhere Calprotectin-Werte als die Patienten mit CIN in unserer Studie (Mittelwert: $4600,9 \pm 5737,9$ ng/ml vs. $280,95 \pm 338,92$). Die Calprotectin-Werte sind insgesamt um das 16-fache höher als bei unseren CIN-Patienten.

Wie ist das zu erklären?

Entweder ist die Begründung in der sehr viel schlechteren Nierenfunktion zu suchen, oder der Entzündungsreiz, der durch das KM entsteht und zur CIN führt, kann nicht mit dem von per se entzündlichen Erkrankungen wie Glomerulonephritiden oder einer Urosepsis gleich gesetzt werden.

Einen weiteren Grund für die großen Unterschiede kann der Abnahmezeitpunkt sein. Die Urinprobenentnahme in der Studie von Heller et al. wurde im Durchschnitt erst am dritten Tag nach der Diagnosestellung des intrinsischen Nierenversagens ($3,2 \pm 3,7$ Tage) entnommen (112). Es ist also durchaus möglich, dass unsere Probenentnahme nicht im Zeitrahmen der höchsten Calprotectin-Konzentration im Urin erfolgte. Ein großer Vorteil unserer Studie ist jedoch, dass der Zeitpunkt der Nierenschädigung durch die Kontrastmittelgabe definiert ist. Dagegen besteht in den Studien von Heller et al und Seifert et al. eine zeitliche Ungewissheit über den Beginn des akuten Nierenversagens. Somit besteht die Möglichkeit, dass die reale Zeitspanne zwischen Nierenversagen und Probenentnahme in diesen Studien ggf. auch noch länger als angegeben sein kann.

Insgesamt betrachtet hat sich also gezeigt, dass man durch die großen Differenzen in den Rahmenbedingungen (Einschlusskriterien, die Nierenfunktion der untersuchten Patienten, Probenentnahme-Zeitpunkt, das Vergleichskollektiv und weitere) die Studien von Heller et al und Seifert et al. im Grunde nicht mit unserer

Studie vergleichen kann. Letztendlich kann eine Einordnung/Validierung unserer Ergebnisse somit erst erfolgen kann, wenn weitere besser vergleichbarere Studien durchgeführt wurden.

Einen Hinweis für den zeitlichen Verlauf der Calprotectin-Konzentration konnte die Arbeitsgruppe um Volz et al. in einer Studie am Mausmodell liefern. Sie konnten zeigen, dass nach ischämischem Reiz in Makrophagen in den ersten 24h zunächst nur die Genexpression der S100a8- und S100a9-Gene erhöht ist. Erst nach 48h erreicht das Calprotectin erhöhte Konzentrationen auch auf Proteinebene (89). Diese Erkenntnisse lagen zu Beginn unserer Studie noch nicht vor. Allerdings lassen unsere nicht signifikanten Messergebnisse *24h nach KM*, die Vermutung zu, dass das von Volz et al. beobachtete Phänomen für die CIN auch Gültigkeit haben kann. Dies sollte in zukünftig folgenden Studien Berücksichtigung finden.

5.5 S100a12 und Calprotectin im Serum als Studienlimitation

Im Gegensatz zu Messungen von Calprotectin und S100a12 im Urin, wurden Messungen im Serum bereits in vermehrt Studien durchgeführt. Eine Erhöhung von S100a12 und Calprotectin im Serum wurde beispielsweise bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz, Arteriosklerose und einem erhöhten Risiko für Myokardinfarkte beobachtet (115-117). Auch Diabetiker haben nachgewiesenermaßen höhere S100a12- und Calprotectin-Konzentrationen im Serum als Nicht-Diabetiker (118, 119). Da es sich hierbei um Erkrankungen handelt, unter denen ein großer Teil der Patienten unserer Studienkohorte leidet, stellt sich konsequenterweise die Frage, ob eine erhöhte Serumkonzentration Einfluss auf die Urinkonzentration hat.

Einen Hinweis darauf stellt die, bereits in Kapitel 5.4 erwähnte dritte Studie zu Calprotectin im Urin von Ortega et al. dar. Hier wurden insgesamt 298 Patienten eingeschlossen (118). Ortega et al konnten einen Zusammenhang zwischen Glucoseintolleranz, Übergewicht und Konzentrationserhöhungen von Calprotectin zeigen. Hierzu führten sie zeitgleich Serum- und Urinmessungen durch. Da sie ein anderes ELISA kit *Hycult Biotech; Uden, the Netherland*, verwendeten, sind ihre Messwerte nicht direkt mit unseren vergleichbar. Jedoch ist die Arbeitsgruppe um Ortega et al. die bislang einzige, die Calprotectin sowohl im Serum als auch im Urin gemessen hat und eine positive Korrelation dieser beiden Werte beschreibt.

Eine Limitation der vorliegenden Studie stellt somit die alleinige Messung der Biomarker im Urin dar.

In Kapitel 5.4 wurde zuvor schon beschrieben, dass unsere Studienkohorte im Vergleich zum gesunden Kollektiv von Heller et al bereits vor KM höhere Calprotectin-Werte im Urin aufwies. Dies kann ein Hinweis sein, dass durch die vergleichsweise höhere Prävalenz in unserem Patientenkollektiv von Erkrankungen (s.o.), die mit einer erhöhten Serumkonzentrationen von Calprotectin einhergehen einen Einflussfaktor auf die Urinkonzentrationen darstellen.

Da jedoch in der Analyse der Daten in unserer Studie kein gesundes Vergleichskollektiv gewählt wurde, sondern aus einem Grundkollektiv Subgruppen miteinander verglichen wurden, gehen wir von der Annahme aus, dass die Serumkonzentration in Gesamtheit keinen Einfluss auf unsere Ergebnisse hat.

5.6 S100a12 und Calprotectin als Biomarker der sekundären Endpunkte

Im Rahmen unserer Studie fand drei Monate nach KM eine Follow-Up Untersuchung statt. Hierbei wurden die Patienten anamnestisch auf das Erreichen der Endpunkte Dialyse, Tod, Kreatininverdoppelung und weitere nicht-elektive Krankenhausaufenthalte untersucht. Die Urinkonzentration von S100a12 und Calprotectin vor sowie 24h nach KM wurde im Zusammenhang mit den Endpunkten betrachtet. Die Analyse bezogen auf die Endpunkte erfolgte dabei unabhängig davon, ob ein Patient eine CIN entwickelt hatte oder nicht. Wir untersuchten somit, ob S100a12 und Calprotectin im Urin unabhängig vom Kreatininverlauf eines Patienten ein schlechteres Outcome, gemessen an den Endpunkten, anzeigen kann.

Die Analyse ergab, dass die Messwerte der Patienten, die einen Endpunkt erreichen, im Median zwar tendenziell höher liegen, insgesamt sich jedoch keine signifikanten Unterschiede ergeben.

Endpunkt „Kreatininverdoppelung“:

Die Kreatininverdoppelung ist ein häufig gewählter Endpunkt in pharmakologischen Phase III-Studien (120). Sie wurde besonders für die Testung der Wirkstoffklasse der Sartane eingesetzt. Allerdings dauert in diesen Studien der mittlere Betrachtungszeitraum zwischen 12 und 36 Monaten an.

In unserer Studie hatte nach drei Monaten nur ein Patient diesen Endpunkt erreicht. Dies legt nahe, dass der Beobachtungszeitraum unserer Studien für diesen Endpunkt

vermutlich zu kurz war. Da wir somit keine statistische Auswertung bezüglich dieses Endpunktes durchführen konnten, sollte dieser Endpunkt in einer weiteren Studie mit längerem Beobachtungszeitraum untersucht werden.

Endpunkt „Dialyse“:

Das von Mehran et al. entwickelte Punktsystem (siehe Abb. 1) gibt u.a. ein Risiko für die Dialyse bereits während des Krankenhausaufenthalts an (26). Dieses lag anhand der Einschlusskriterien bei unserem Patientenkollektiv analog zum in Abb. 1 dargestellten Punktesystem bei 0,04%. Wir haben in unserer Studie zwischen Dialysepflichtigkeit während des primären Krankenhausaufenthalts und neu aufgetretener Dialyse innerhalb der darauffolgenden drei Monate nicht differenziert. Dadurch ist die in unserer Studie reproduzierte Dialyserate von 0,04% nur als größenordnungstechnische Einordnung zu verstehen.

Der Zusammenhang von S100a12 und Calprotectin mit der Wahrscheinlichkeit einer Dialyse wurde bislang noch nicht erforscht. Somit besteht keine Vergleichsmöglichkeit. Entsprechend unserer Erwartungen haben jedoch Patienten, die innerhalb von drei Monaten dialysepflichtig werden, im Median sowohl höhere S100a12- als auch Calprotectin-Werte *vor* und *24h nach* KM. Es zeigt sich sogar eine Tendenz zur Signifikanz. Eine weitere Untersuchung der Zusammenhänge kann sich somit als lohnenswert erweisen.

Endpunkt „Weitere Krankenhausaufenthalte“:

Als Endpunkt „weitere Krankenhausaufenthalte“ erfassten wir nur nicht-elektive Ereignisse. Auch der Zusammenhang von S100a12 und Calprotectin mit diesem Endpunkt ist bislang noch nicht erforscht. In dieser Arbeit konnte gezeigt werden, dass sowohl S100a12 als auch Calprotectin im Median *vor* KM höhere Werte ergeben, bei Patienten, die diesen Endpunkt erreichten. *24h nach* KM steigen die Werte für S100a12 der Patienten ohne weiteren Krankenhausaufenthalt im Median an, hingegen fallen die Werte bei Patienten mit weiterem Krankenhausaufenthalt ab. Ähnlich verhalten sich auch die Calprotectin-Werte. Da wir zwischen den Diagnosen der Krankenhauseinweisung nicht differenziert haben, lässt sich schwer eine pathophysiologische Begründung für diese Ergebnisse finden. Es könnte also eine differenzierte Betrachtung kardiovaskulärer und renaler Einweisungsdiagnosen vermutlich eher zu einer Erklärung führen.

Endpunkt „Tod“

Auch der Zusammenhang zwischen S100a12/ Calprotectin und dem Risiko für Patienten innerhalb von drei Monaten nach KM zu versterben ist bislang noch nicht untersucht worden. Unsere Daten zeigen, dass innerhalb des Beobachtungszeitraums von drei Monaten verstorbene Patienten sowohl *vor* als auch *24h nach* KM einen erhöhtes S100a12 und Calprotectin haben. Jedoch sind die Unterscheide bezüglich der Gesamtkohorte nicht signifikant. Dies könnte u.a. an der relativ kleinen Fallzahl von nur 8 verstorbenen Patienten liegen. Als weiterer Faktor kommt der Beobachtungszeitraum hinzu. Dieser ist für die Messung der Mortalität vergleichsweise kurz. Die meisten Studien, die die Mortalität nach KM untersuchten, beziehen sich auf einen Beobachtungszeitraum von einem Jahr (4, 121). Somit besteht die Möglichkeit, dass in einer größeren Kohorte nach einem längeren Beobachtungszeitraum sich signifikante Werte für S100a12 und Calprotectin ergeben können.

Kombinierte Endpunktanalyse:

Da die Betrachtung der einzelnen Endpunkte keine signifikanten Ergebnisse bezüglich der Biomarker erbrachte, führten wir eine Analyse der Werte von S100a12 und Calprotectin bezüglich einer Kombination der Endpunkte durch. Hierbei handelt es sich um ein Verfahren, das häufig in Studien zum kardiovaskulären Outcome verwendet wird. Unter dem Begriff MACE (major adverse cardiovascular event) werden in diesen Studien z.B. die Endpunkte (kardiovaskulär bedingter) Tod, Myokardinfarkt und Schlaganfall zusammengefasst (122, 123). Dieses Verfahren dient der Fallzahlerhöhung sonst seltener Ereignisse, um bessere statistische Aussagen treffen zu können.

Wir fassten in unserer Analyse, die Endpunkte „Dialyse“, „weitere Krankenhausaufenthalte“ und „Tod“ zusammen. In unseren Werten für S100a12 und Calprotectin zeigen sich jedoch auch in der kombinierten Endpunktanalyse keine signifikanten Ergebnisse. Jedoch lagen die Messwerte beider Biomarker im Median sowohl *vor* als auch *24h nach* KM höher bei Patienten, die einen der Endpunkte erreichten.

Somit zeigt unsere Studie, dass S100a12 und Calprotectin vielversprechende Biomarker für den Langzeitverlauf nach KM sein könnten. Für einige Endpunkte ist es folglich sinnvoll, weitere Untersuchungen durchzuführen.

5.7 Geschlechtsspezifische Unterschiede

Während der Datenanalyse zeigte sich zusätzlich ein interessantes Ergebnis, dass an dieser Stelle besprochen werden soll.

Die Analyse unserer Ergebnisse ergab einen hoch signifikanten Unterschied der S100a12- und Calprotectin-Konzentrationen in Abhängigkeit vom Geschlecht. Frauen hatten hierbei sowohl *vor* als auch *24h nach* KM signifikant höhere Werte als Männer.

Bereits in der Studie von Hella et al. wird die Problematik der geschlechtsabhängigen Differenz der Werte anhand der Kontrollgruppe erwähnt (112).

Die im Rahmen ihrer Studie erstellte Kontrollgruppe bestand wie bereits in Kapitel 5.4 beschrieben aus 15 gesunden Probanden, neun Männern und 6 Frauen. Unter den sechs gesunden weiblichen Probanden fanden sich drei, die im Vergleich wesentlich höhere Calprotectin-Werte im Urin hatten als die restlichen gesunden Probanden.

Bei 15 Probanden, davon nur sechs Frauen, handelt es sich um keine repräsentative Anzahl. Somit stellt die Arbeitsgruppe von Heller et al. die Behauptung in den Raum, dass für die erhöhten Werte eine Verunreinigung mit Menstruationsblut oder eine unerkannte Bakteriurie die Ursache sein könnten.

In unserer Studienkohorte kann man bei einem Durchschnittsalter der weiblichen Patienten von $71,27 \pm 7,65$ Jahren davon ausgehen, dass es sich um ausschließlich postmenopausale Frauen handelt. Eine Verunreinigung der Proben mit Menstruationsblut kommt demnach nicht in Frage.

Wir haben bei unseren Patienten eine Bakteriurie nicht ausgeschlossen. Die Unterschiede zwischen den Geschlechtern sind allerdings, wie sich besonders den in Abb. 17-20 gezeigten Boxplots entnehmen lässt, so groß, dass ein Großteil der Frauen an einer unerkannten Bakteriurie leiden müssten um die Ergebnisse auf diese Weise erklären zu können.

Es stellt sich also die Fragen, warum die Urinausscheidung von S100a12 und Calprotectin geschlechtsabhängig signifikant verschieden ist. Dies sollte in weiteren Studien ermittelt werden.

Gleichzeitig müssen, wenn in Zukunft Studien zur Festlegung der Normwertgrenzen durchgeführt werden, die geschlechtsabhängigen Unterschiede der Werte unbedingt Berücksichtigung finden.

In unseren Analysen von S100a12 und Calprotectin bezüglich CIN und den weiteren Endpunkten haben wir das Geschlechterverhältnis stets berücksichtigt. Es zeigte sich keinen Einfluss auf die Ergebnisse.

5.8 Studienlimitationen und Wissenschaftsausblick

Bei unserer Studie handelt es sich um eine monozentrische Studie, die einer unabhängigen Bestätigung bedarf.

In der Hoffnung, einen Biomarker zu finden, der 24h nach KM bereits signifikante Ergebnisse liefert, haben wir in unserer Studie Calprotectin und S100a12 im Urin bestimmt. Genaugenommen ist dies jedoch der zweite Schritt vor dem ersten, da wir weder den zeitlichen Verlauf der Urin-Konzentrationen und somit den optimalen Abnahmezeitpunkt kennen, noch Normwerte gesunder Probanden bekannt sind. Auch fehlen ausreichende Informationen über den Einfluss von Serumerhöhungen von S100a12 und Calprotectin auf die Urinausscheidung.

In zukünftigen Studien sollten parallele Messungen von Serum- und Urinkonzentrationen durchgeführt werden, um die Erkenntnisse unserer Studie zu ergänzen. Zusätzlich können auch parallele Messungen von Entzündungsmarkern im Serum, z.B. IL-6 und CRP, als Referenz- oder Orientierungsgrößen dienlich sein.

Die Bestimmung eines lückenlosen zeitlichen Verlaufs der Urinkonzentrationen nach KM könnte die Erkenntnisse unserer Studie in einen besseren zeitlichen Kontext einordnen. Gleichzeitig kann so für zukünftige Studien der optimale Abnahmezeitpunkt mit der größten diagnostischen Aussagekraft ermittelt werden.

Insgesamt zeigen die Ergebnisse unserer Studie, dass es durchaus eine Herausforderung darstellt, in einem multimorbiden Patientenkollektiv einen Biomarker zu finden. Dieser muss klar zwischen erkrankt und gesund diskriminieren, obwohl er gleichzeitig auch in noch unbekanntem Maße von verschiedenen Erkrankungen beeinflusst wird.

Dennoch sind besonders S100a12, aber auch Calprotectin, im Urin vielversprechende Biomarker. Das Probenmaterial ist leicht zugänglich, schmerzfrei zu gewinnen, die Messung im Klinikalltag also leicht zu etablieren.

Nach Durchführung weiterer Studien auf Grundlage der Erkenntnisse dieser Arbeit und vermutlich in Kombination mit noch weiteren Biomarkern, könnte in Zukunft ein

Urinschnelltest entwickelt werden, der eine CIN früher als bisher anzeigt und somit die kontrastmittelbedingte Morbidität und Mortalität senkt.

Hierzu sind heutzutage sicherlich keine heroischen Selbstversuche wie der erste Herzkatheter von Werner Forstmann mehr notwendig. Allerdings braucht es eine große Zahl von freiwilligen Probanden, die Geduld, ihr Blut und ihren Urin zur Verfügung stellen.

Ihnen gebührt unser Dank.

Literaturverzeichnis

1. Bröer R. Der Herzkatheter-Selbstversuch: Dichtung und Wahrheit 2004 17.12.2013. Available from: <http://www.aerztezeitung.de/panorama/article/315957/herzkatheter-selbstversuch-dichtung-wahrheit.html>.
2. Buuren Fv. 25. Bericht über die Leistungszahlen der Herzkatheterlabore in der Bundesrepublik Deutschland. *Der Kardiologe*. 2010;4(6):502-8. Epub 27.10.2010.
3. Pendergrass EP CG, Godfrey EW, Burdick ED. A survey of deaths and unfavorable sequelae following administration of contrast media. *Am J Radiol*. 1942;48:741±62.
4. McCullough PA AA, Becker CR et al. . Epidemiology and prognostic implications of contrast-induced nephropathy. 2006.
5. Schissler MM, Zaidi S, Kumar H, Deo D, Brier ME, McLeish KR. Characteristics and outcomes in community-acquired versus hospital-acquired acute kidney injury. *Nephrology (Carlton)*. 2013;18(3):183-7. Epub 2013/01/23.
6. Wang Y, Cui Z, Fan M. Hospital-acquired and community-acquired acute renal failure in hospitalized Chinese: a ten-year review. *Renal failure*. 2007;29(2):163-8. Epub 2007/03/17.
7. Levy EM, Viscoli CM, Horwitz RI. The effect of acute renal failure on mortality. A cohort analysis. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 1996;275(19):1489-94. Epub 1996/05/15.
8. Dangas G, Iakovou I, Nikolsky E, Aymong ED, Mintz GS, Kipshidze NN, et al. Contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary interventions in relation to chronic kidney disease and hemodynamic variables. *The American journal of cardiology*. 2005;95(1):13-9. Epub 2004/12/28.
9. Liangos O, Wald R, O'Bell JW, Price L, Pereira BJ, Jaber BL. Epidemiology and outcomes of acute renal failure in hospitalized patients: a national survey. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2006;1(1):43-51. Epub 2007/08/21.
10. Tobias GJ, Mc LR, Jr., Hopper J, Jr. Endogenous creatinine clearance. A valuable clinical test of glomerular filtration and a prognostic guide in chronic renal disease. *The New England journal of medicine*. 1962;266:317-23. Epub 1962/02/15.
11. Calvin AD, Misra S, Pflueger A. Contrast-induced acute kidney injury and diabetic nephropathy. *Nature reviews Nephrology*. 2010;6(11):679-88. Epub 2010/09/30.
12. Jacobs RM, Lumsden JH, Taylor JA, Grift E. Effects of interferences on the kinetic Jaffe reaction and an enzymatic colorimetric test for serum creatinine concentration determination in cats, cows, dogs and horses. *Canadian journal of veterinary research = Revue canadienne de recherche veterinaire*. 1991;55(2):150-4. Epub 1991/04/01.
13. Knapp ML, Hadid O. Investigations into negative interference by jaundiced plasma in kinetic Jaffe methods for plasma creatinine determination. *Annals of clinical biochemistry*. 1987;24 (Pt 1):85-97. Epub 1987/01/01.
14. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron*. 1976;16(1):31-41. Epub 1976/01/01.
15. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Annals of internal medicine*. 1999;130(6):461-70. Epub 1999/03/13.
16. Perrin T, Descombes E, Cook S. Contrast-induced nephropathy in invasive cardiology. *Swiss medical weekly*. 2012;142:0. Epub 2012/06/21.
17. Madershahian N, Scherner M, Liakopoulos O, Rahmanian P, Kuhn E, Hellmich M, et al. Renal impairment and transapical aortic valve implantation: impact of contrast medium dose on kidney function and survival. *European journal of cardio-thoracic surgery : official journal of the European Association for Cardio-thoracic Surgery*. 2012;41(6):1225-32. Epub 2012/01/06.
18. Kandula P, Shah R, Singh N, Markwell SJ, Bhensdadia N, Navaneethan SD. Statins for prevention of contrast-induced nephropathy in patients undergoing non-emergent

- percutaneous coronary intervention. *Nephrology (Carlton)*. 2010;15(2):165-70. Epub 2010/05/18.
19. Ma G, Yu D, Cai Z, Ni C, Xu R, Lan B, et al. Contrast-induced nephropathy in postmenopausal women undergoing percutaneous coronary intervention for acute myocardial infarction. *The Tohoku journal of experimental medicine*. 2010;221(3):211-9. Epub 2010/06/17.
 20. GmbH I. Fallpauschalen-Katalog 2013. Institut für das Entgeltsystem im Krankenhaus; 2013 [cited 2013 18.12.2013]; Available from: http://www.g-drg.de/cms/G-DRG-System_2013/Fallpauschalen-Katalog/Fallpauschalen-Katalog_2013.
 21. Rao SV, Kaltenbach LA, Weintraub WS, Roe MT, Brindis RG, Rumsfeld JS, et al. Prevalence and outcomes of same-day discharge after elective percutaneous coronary intervention among older patients. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2011;306(13):1461-7. Epub 2011/10/06.
 22. Harkonen S. KC. Contrast nephropathy. *Am J Nephrol* 1 (2): 69-77. 1981.
 23. Shyu KG, Cheng JJ, Kuan P. Acetylcysteine protects against acute renal damage in patients with abnormal renal function undergoing a coronary procedure. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;40(8):1383-8. Epub 2002/10/24.
 24. Manske CL, Sprafka JM, Strony JT, Wang Y. Contrast nephropathy in azotemic diabetic patients undergoing coronary angiography. *The American journal of medicine*. 1990;89(5):615-20. Epub 1990/11/01.
 25. Bailie GR, Uhlig K, Levey AS. Clinical practice guidelines in nephrology: evaluation, classification, and stratification of chronic kidney disease. *Pharmacotherapy*. 2005;25(4):491-502. Epub 2005/06/28.
 26. Mehran R, Nikolsky E. Contrast-induced nephropathy: definition, epidemiology, and patients at risk. *Kidney international Supplement*. 2006(100):S11-5. Epub 2006/04/14.
 27. Stacul F, van der Molen AJ, Reimer P, Webb JA, Thomsen HS, Morcos SK, et al. Contrast induced nephropathy: updated ESUR Contrast Media Safety Committee guidelines. *European radiology*. 2011;21(12):2527-41. Epub 2011/08/26.
 28. Media ACoDaC. ACR Manual on Contrast Media2013; 9. Available from: http://www.acr.org/~media/ACR/Documents/PDF/QualitySafety/Resources/Contrast%20Manual/2013_Contrast_Media.pdf.
 29. Tepel M, van der Giet M, Schwarzfeld C, Laufer U, Liermann D, Zidek W. Prevention of radiographic-contrast-agent-induced reductions in renal function by acetylcysteine. *The New England journal of medicine*. 2000;343(3):180-4. Epub 2000/07/20.
 30. Diaz-Sandoval LJ, Kosowsky BD, Losordo DW. Acetylcysteine to prevent angiography-related renal tissue injury (the APART trial). *The American journal of cardiology*. 2002;89(3):356-8. Epub 2002/01/26.
 31. Allaqaband S, Tumuluri R, Malik AM, Gupta A, Volkert P, Shalev Y, et al. Prospective randomized study of N-acetylcysteine, fenoldopam, and saline for prevention of radiocontrast-induced nephropathy. *Catheterization and cardiovascular interventions : official journal of the Society for Cardiac Angiography & Interventions*. 2002;57(3):279-83. Epub 2002/11/01.
 32. Briguori C, Manganelli F, Scarpato P, Elia PP, Golia B, Riviezzo G, et al. Acetylcysteine and contrast agent-associated nephrotoxicity. *Journal of the American College of Cardiology*. 2002;40(2):298-303. Epub 2002/07/11.
 33. Oldemeyer JB, Biddle WP, Wurdeman RL, Mooss AN, Cichowski E, Hilleman DE. Acetylcysteine in the prevention of contrast-induced nephropathy after coronary angiography. *American heart journal*. 2003;146(6):E23. Epub 2003/12/09.
 34. Kelly AM, Dwamena B, Cronin P, Bernstein SJ, Carlos RC. Meta-analysis: effectiveness of drugs for preventing contrast-induced nephropathy. *Annals of internal medicine*. 2008;148(4):284-94. Epub 2008/02/20.
 35. Acetylcysteine for prevention of renal outcomes in patients undergoing coronary and peripheral vascular angiography: main results from the randomized Acetylcysteine for Contrast-induced nephropathy Trial (ACT). *Circulation*. 2011;124(11):1250-9. Epub 2011/08/24.

36. Sketch MH, Jr., Whelton A, Schollmayer E, Koch JA, Bernink PJ, Woltering F, et al. Prevention of contrast media-induced renal dysfunction with prostaglandin E1: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *American journal of therapeutics*. 2001;8(3):155-62. Epub 2001/05/10.
37. Stone GW, McCullough PA, Tumlin JA, Lepor NE, Madyoon H, Murray P, et al. Fenoldopam mesylate for the prevention of contrast-induced nephropathy: a randomized controlled trial. *JAMA : the journal of the American Medical Association*. 2003;290(17):2284-91. Epub 2003/11/06.
38. Gare M, Haviv YS, Ben-Yehuda A, Rubinger D, Bdolah-Abram T, Fuchs S, et al. The renal effect of low-dose dopamine in high-risk patients undergoing coronary angiography. *Journal of the American College of Cardiology*. 1999;34(6):1682-8. Epub 1999/11/30.
39. Esnault VL. Radiocontrast media-induced nephrotoxicity in patients with renal failure: rationale for a new double-blind, prospective, randomized trial testing calcium channel antagonists. *Nephrology, dialysis, transplantation : official publication of the European Dialysis and Transplant Association - European Renal Association*. 2002;17(8):1362-4. Epub 2002/07/31.
40. Erley CM, Duda SH, Schlepckow S, Koehler J, Huppert PE, Strohmaier WL, et al. Adenosine antagonist theophylline prevents the reduction of glomerular filtration rate after contrast media application. *Kidney international*. 1994;45(5):1425-31. Epub 1994/05/01.
41. Baris N, Ozpelit E, Dogan NB, Kangul H, Gul S, Akdeniz B, et al. The effects of chronic usage of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers on contrast-induced nephropathy in low-risk patients. *Anadolu kardiyoloji dergisi : AKD = the Anatolian journal of cardiology*. 2013;13(3):245-50. Epub 2012/12/25.
42. Majumdar SR, Kjellstrand CM, Tymchak WJ, Hervas-Malo M, Taylor DA, Teo KK. Forced euvolemic diuresis with mannitol and furosemide for prevention of contrast-induced nephropathy in patients with CKD undergoing coronary angiography: a randomized controlled trial. *American journal of kidney diseases : the official journal of the National Kidney Foundation*. 2009;54(4):602-9. Epub 2009/06/19.
43. Dabare D, Banihani M, Gibbs P, Grewal P. Does bicarbonate prevent contrast-induced nephropathy in cardiovascular patients undergoing contrast imaging? *Interactive cardiovascular and thoracic surgery*. 2013;17(6):1028-35. Epub 2013/09/03.
44. Zhang T, Shen LH, Hu LH, He B. Statins for the prevention of contrast-induced nephropathy: a systematic review and meta-analysis. *American journal of nephrology*. 2011;33(4):344-51. Epub 2011/03/25.
45. Cruz DN, Goh CY, Marenzi G, Corradi V, Ronco C, Perazella MA. Renal replacement therapies for prevention of radiocontrast-induced nephropathy: a systematic review. *The American journal of medicine*. 2012;125(1):66-78 e3. Epub 2011/12/27.
46. Donaldson I. Comparison of the renal clearance of insulin and radioactive diatrizoate as measures for glomerular filtration rate in man. *Clin Sci* 1968;35:513±9.
47. Sendeski MM. Pathophysiology of renal tissue damage by iodinated contrast media. *Clinical and experimental pharmacology & physiology*. 2011;38(5):292-9. Epub 2011/02/26.
48. Sendeski M, Patzak A, Persson PB. Constriction of the vasa recta, the vessels supplying the area at risk for acute kidney injury, by four different iodinated contrast media, evaluating ionic, nonionic, monomeric and dimeric agents. *Investigative radiology*. 2010;45(8):453-7. Epub 2010/05/12.
49. Thomsen HS, Morcos SK, Barrett BJ. Contrast-induced nephropathy: the wheel has turned 360 degrees. *Acta Radiol*. 2008;49(6):646-57. Epub 2008/06/24.
50. Brezis M, Rosen S. Hypoxia of the renal medulla--its implications for disease. *The New England journal of medicine*. 1995;332(10):647-55. Epub 1995/03/09.
51. Liu ZZ, Viegas VU, Perlewitz A, Lai EY, Persson PB, Patzak A, et al. Iodinated contrast media differentially affect afferent and efferent arteriolar tone and reactivity in mice: a possible explanation for reduced glomerular filtration rate. *Radiology*. 2012;265(3):762-71. Epub 2012/10/02.
52. Porter GA. Effects of contrast agents on renal function. *Investigative radiology*. 1993;28 Suppl 5:S1-5; discussion S6. Epub 1993/11/01.

53. Yoshioka T, Fogo A, Beckman JK. Reduced activity of antioxidant enzymes underlies contrast media-induced renal injury in volume depletion. *Kidney international*. 1992;41(4):1008-15. Epub 1992/04/01.
54. Arend LJ, Bakris GL, Burnett JC, Jr., Megerian C, Spielman WS. Role for intrarenal adenosine in the renal hemodynamic response to contrast media. *The Journal of laboratory and clinical medicine*. 1987;110(4):406-11. Epub 1987/10/01.
55. Heyman SN, Rosen S, Rosenberger C. Renal parenchymal hypoxia, hypoxia adaptation, and the pathogenesis of radiocontrast nephropathy. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2008;3(1):288-96. Epub 2007/12/07.
56. Seeliger E, Sendeski M, Rihal CS, Persson PB. Contrast-induced kidney injury: mechanisms, risk factors, and prevention. *European heart journal*. 2012;33(16):2007-15. Epub 2012/01/24.
57. Quintavalle C, Brenca M, De Micco F, Fiore D, Romano S, Romano MF, et al. In vivo and in vitro assessment of pathways involved in contrast media-induced renal cells apoptosis. *Cell death & disease*. 2011;2:e155. Epub 2011/05/13.
58. Bakris GL, Lass N, Gaber AO, Jones JD, Burnett JC, Jr. Radiocontrast medium-induced declines in renal function: a role for oxygen free radicals. *The American journal of physiology*. 1990;258(1 Pt 2):F115-20. Epub 1990/01/11.
59. Geenen RW, Kingma HJ, van der Molen AJ. Contrast-induced nephropathy: pharmacology, pathophysiology and prevention. *Insights into imaging*. 2013. Epub 2013/10/05.
60. Zhao J, Huang Y, Song Y, Zhao X, Jin J, Wang J, et al. Low osmolar contrast medium induces cellular injury and disruption of calcium homeostasis in rat glomerular endothelial cells in vitro. *Toxicology letters*. 2009;185(2):124-31. Epub 2009/01/13.
61. Romano G, Briguori C, Quintavalle C, Zanca C, Rivera NV, Colombo A, et al. Contrast agents and renal cell apoptosis. *European heart journal*. 2008;29(20):2569-76. Epub 2008/05/13.
62. Bianchi ME. DAMPs, PAMPs and alarmins: all we need to know about danger. *Journal of leukocyte biology*. 2007;81(1):1-5. Epub 2006/10/13.
63. Moore BW. A soluble protein characteristic of the nervous system. *Biochemical and biophysical research communications*. 1965;19(6):739-44. Epub 1965/06/09.
64. Isobe T, Okuyama T. The amino-acid sequence of S-100 protein (PAP I-b protein) and its relation to the calcium-binding proteins. *European journal of biochemistry / FEBS*. 1978;89(2):379-88. Epub 1978/09/01.
65. Donato R. Intracellular and extracellular roles of S100 proteins. *Microscopy research and technique*. 2003;60(6):540-51. Epub 2003/03/20.
66. Pietzsch J, Hoppmann S. Human S100A12: a novel key player in inflammation? *Amino acids*. 2009;36(3):381-9. Epub 2008/04/30.
67. Heizmann CW, Cox JA. New perspectives on S100 proteins: a multi-functional Ca(2+)-, Zn(2+)- and Cu(2+)-binding protein family. *Biometals : an international journal on the role of metal ions in biology, biochemistry, and medicine*. 1998;11(4):383-97. Epub 1999/04/07.
68. Marenholz I, Lovering RC, Heizmann CW. An update of the S100 nomenclature. *Biochimica et biophysica acta*. 2006;1763(11):1282-3. Epub 2006/08/30.
69. Donato R, Cannon BR, Sorci G, Riuzzi F, Hsu K, Weber DJ, et al. Functions of S100 proteins. *Current molecular medicine*. 2013;13(1):24-57. Epub 2012/07/28.
70. Schafer BW, Heizmann CW. The S100 family of EF-hand calcium-binding proteins: functions and pathology. *Trends in biochemical sciences*. 1996;21(4):134-40. Epub 1996/04/01.
71. Lee Y, Jang S, Min JK, Lee K, Sohn KC, Lim JS, et al. S100A8 and S100A9 are messengers in the crosstalk between epidermis and dermis modulating a psoriatic milieu in human skin. *Biochemical and biophysical research communications*. 2012;423(4):647-53. Epub 2012/06/12.
72. Guignard F, Mauel J, Markert M. Identification and characterization of a novel human neutrophil protein related to the S100 family. *The Biochemical journal*. 1995;309 (Pt 2):395-401. Epub 1995/07/15.

73. Foell D, Frosch M, Sorg C, Roth J. Phagocyte-specific calcium-binding S100 proteins as clinical laboratory markers of inflammation. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2004;344(1-2):37-51. Epub 2004/05/20.
74. Heizmann CW, Ackermann GE, Galichet A. Pathologies involving the S100 proteins and RAGE. *Sub-cellular biochemistry*. 2007;45:93-138. Epub 2008/01/16.
75. Odink K, Cerletti N, Bruggen J, Clerc RG, Tarcsay L, Zwadlo G, et al. Two calcium-binding proteins in infiltrate macrophages of rheumatoid arthritis. *Nature*. 1987;330(6143):80-2. Epub 1987/11/05.
76. Foell D, Wittkowski H, Vogl T, Roth J. S100 proteins expressed in phagocytes: a novel group of damage-associated molecular pattern molecules. *Journal of leukocyte biology*. 2007;81(1):28-37. Epub 2006/09/01.
77. Hofmann MA, Drury S, Fu C, Qu W, Taguchi A, Lu Y, et al. RAGE mediates a novel proinflammatory axis: a central cell surface receptor for S100/calgranulin polypeptides. *Cell*. 1999;97(7):889-901. Epub 1999/07/10.
78. Xie J, Burz DS, He W, Bronstein IB, Lednev I, Shekhtman A. Hexameric calgranulin C (S100A12) binds to the receptor for advanced glycated end products (RAGE) using symmetric hydrophobic target-binding patches. *The Journal of biological chemistry*. 2007;282(6):4218-31. Epub 2006/12/13.
79. Ravasi T, Hsu K, Goyette J, Schroder K, Yang Z, Rahimi F, et al. Probing the S100 protein family through genomic and functional analysis. *Genomics*. 2004;84(1):10-22. Epub 2004/06/19.
80. Robinson MJ, Hogg N. A comparison of human S100A12 with MRP-14 (S100A9). *Biochemical and biophysical research communications*. 2000;275(3):865-70. Epub 2000/09/07.
81. Marenholz I, Heizmann CW, Fritz G. S100 proteins in mouse and man: from evolution to function and pathology (including an update of the nomenclature). *Biochemical and biophysical research communications*. 2004;322(4):1111-22. Epub 2004/09/01.
82. Fuellen G, Nacken W, Sorg C, Kerkhoff C. Computational searches for missing orthologs: the case of S100A12 in mice. *Omics : a journal of integrative biology*. 2004;8(4):334-40. Epub 2005/02/11.
83. Moroz OV, Burkitt W, Wittkowski H, He W, Ianoul A, Novitskaya V, et al. Both Ca²⁺ and Zn²⁺ are essential for S100A12 protein oligomerization and function. *BMC biochemistry*. 2009;10:11. Epub 2009/04/24.
84. Edgeworth J, Gorman M, Bennett R, Freemont P, Hogg N. Identification of p8,14 as a highly abundant heterodimeric calcium binding protein complex of myeloid cells. *The Journal of biological chemistry*. 1991;266(12):7706-13. Epub 1991/04/25.
85. Hessian PA, Edgeworth J, Hogg N. MRP-8 and MRP-14, two abundant Ca(2+)-binding proteins of neutrophils and monocytes. *Journal of leukocyte biology*. 1993;53(2):197-204. Epub 1993/02/01.
86. Zwadlo G, Bruggen J, Gerhards G, Schlegel R, Sorg C. Two calcium-binding proteins associated with specific stages of myeloid cell differentiation are expressed by subsets of macrophages in inflammatory tissues. *Clinical and experimental immunology*. 1988;72(3):510-5. Epub 1988/06/01.
87. Foell D, Wittkowski H, Kessel C, Luken A, Weinlage T, Varga G, et al. Proinflammatory S100A12 can activate human monocytes via Toll-like receptor 4. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 2013;187(12):1324-34. Epub 2013/04/25.
88. Santhanagopalan V, Hahn BL, Dunn BE, Weissner JH, Sohnle PG. Antimicrobial activity of calprotectin isolated from human empyema fluid supernatants. *Clinical immunology and immunopathology*. 1995;76(3 Pt 1):285-90. Epub 1995/09/01.
89. Volz HC, Laohachewin D, Seidel C, Lasitschka F, Keilbach K, Wienbrandt AR, et al. S100A8/A9 aggravates post-ischemic heart failure through activation of RAGE-dependent NF-kappaB signaling. *Basic research in cardiology*. 2012;107(2):250. Epub 2012/02/10.
90. Rahimi F, Hsu K, Endoh Y, Geczy CL. FGF-2, IL-1beta and TGF-beta regulate fibroblast expression of S100A8. *The FEBS journal*. 2005;272(11):2811-27. Epub 2005/06/10.

91. Zhang PL, Lun M, Schworer CM, Blasick TM, Masker KK, Jones JB, et al. Heat shock protein expression is highly sensitive to ischemia-reperfusion injury in rat kidneys. *Annals of clinical and laboratory science*. 2008;38(1):57-64. Epub 2008/03/05.
92. Ehrchen JM, Sunderkotter C, Foell D, Vogl T, Roth J. The endogenous Toll-like receptor 4 agonist S100A8/S100A9 (calprotectin) as innate amplifier of infection, autoimmunity, and cancer. *Journal of leukocyte biology*. 2009;86(3):557-66. Epub 2009/05/20.
93. Anders HJ, Banas B, Schlondorff D. Signaling danger: toll-like receptors and their potential roles in kidney disease. *Journal of the American Society of Nephrology : JASN*. 2004;15(4):854-67. Epub 2004/03/23.
94. Boyd JH, Kan B, Roberts H, Wang Y, Walley KR. S100A8 and S100A9 mediate endotoxin-induced cardiomyocyte dysfunction via the receptor for advanced glycation end products. *Circulation research*. 2008;102(10):1239-46. Epub 2008/04/12.
95. Ryckman C, Vandal K, Rouleau P, Talbot M, Tessier PA. Proinflammatory activities of S100: proteins S100A8, S100A9, and S100A8/A9 induce neutrophil chemotaxis and adhesion. *J Immunol*. 2003;170(6):3233-42. Epub 2003/03/11.
96. Turovskaya O, Foell D, Sinha P, Vogl T, Newlin R, Nayak J, et al. RAGE, carboxylated glycans and S100A8/A9 play essential roles in colitis-associated carcinogenesis. *Carcinogenesis*. 2008;29(10):2035-43. Epub 2008/08/12.
97. Dessing MC, Pulskens WP, Teske GJ, Butter LM, van der Poll T, Yang H, et al. RAGE does not contribute to renal injury and damage upon ischemia/reperfusion-induced injury. *Journal of innate immunity*. 2012;4(1):80-5. Epub 2011/11/10.
98. Viemann D, Barczyk K, Vogl T, Fischer U, Sunderkotter C, Schulze-Osthoff K, et al. MRP8/MRP14 impairs endothelial integrity and induces a caspase-dependent and -independent cell death program. *Blood*. 2007;109(6):2453-60. Epub 2006/11/11.
99. Yang Z, Yan WX, Cai H, Tedla N, Armishaw C, Di Girolamo N, et al. S100A12 provokes mast cell activation: a potential amplification pathway in asthma and innate immunity. *The Journal of allergy and clinical immunology*. 2007;119(1):106-14. Epub 2007/01/09.
100. Baniyash M, Sade-Feldman M, Kanterman J. Chronic inflammation and cancer: suppressing the suppressors. *Cancer immunology, immunotherapy : CII*. 2013. Epub 2013/08/31.
101. Steinbakk M, Naess-Andresen CF, Lingaas E, Dale I, Brandtzaeg P, Fagerhol MK. Antimicrobial actions of calcium binding leucocyte L1 protein, calprotectin. *Lancet*. 1990;336(8718):763-5. Epub 1990/09/29.
102. Gottsch JD, Eisinger SW, Liu SH, Scott AL. Calgranulin C has filariacidal and filariastatic activity. *Infection and immunity*. 1999;67(12):6631-6. Epub 1999/11/24.
103. Lim SY, Raftery MJ, Goyette J, Hsu K, Geczy CL. Oxidative modifications of S100 proteins: functional regulation by redox. *Journal of leukocyte biology*. 2009;86(3):577-87. Epub 2009/02/25.
104. Ikemoto M, Murayama H, Itoh H, Totani M, Fujita M. Intrinsic function of S100A8/A9 complex as an anti-inflammatory protein in liver injury induced by lipopolysaccharide in rats. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*. 2007;376(1-2):197-204. Epub 2006/10/03.
105. Vieira A, Fang CB, Rolim EG, Klug WA, Steinwurz F, Rossini LG, et al. Inflammatory bowel disease activity assessed by fecal calprotectin and lactoferrin: correlation with laboratory parameters, clinical, endoscopic and histological indexes. *BMC research notes*. 2009;2:221. Epub 2009/10/31.
106. Vaos G, Kostakis ID, Zavras N, Chatzemichael A. The role of calprotectin in pediatric disease. *BioMed research international*. 2013;2013:542363. Epub 2013/11/01.
107. Sidler MA, Leach ST, Day AS. Fecal S100A12 and fecal calprotectin as noninvasive markers for inflammatory bowel disease in children. *Inflammatory bowel diseases*. 2008;14(3):359-66. Epub 2007/12/01.
108. Jaffe M. Ueber den Niederschlag welchen Pikrinsäure in normalen Harn erzeugt und ueber eine neue Reaktion des Kreatinins. *Z Physiol Chem* 1886;10:391-400.

109. Macisaac RJ, Premaratne E, Jerums G. Estimating glomerular filtration rate in diabetes using serum cystatin C. *The Clinical biochemist Reviews / Australian Association of Clinical Biochemists*. 2011;32(2):61-7. Epub 2011/05/26.
110. Bundes Gd. Daten zu Herzinfarkten in der Region Augsburg. 2013 [updated 28.02.2013; cited 2013 17.12.2013]; Available from: http://www.gbe-bund.de/gbe10/ergebnisse.prc_tab?fid=6770&suchstring=KORA&query_id=&sprache=D&fund_typ=TAB&methode=2&vt=1&verwandte=1&page_ret=0&seite=&p_lfd_nr=1&p_news=&p_sprachkz=D&p_uid=gast&p_aid=21800217&hlp_nr=3&p_janein=J.
111. Mori Y, Kosaki A, Kishimoto N, Kimura T, Iida K, Fukui M, et al. Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in hemodialysis patients with atherosclerosis. *American journal of nephrology*. 2009;29(1):18-24. Epub 2008/07/30.
112. Heller F, Frischmann S, Grunbaum M, Zidek W, Westhoff TH. Urinary calprotectin and the distinction between prerenal and intrinsic acute kidney injury. *Clinical journal of the American Society of Nephrology : CJASN*. 2011;6(10):2347-55. Epub 2011/09/03.
113. Seibert FS, Pagonas N, Arndt R, Heller F, Dragun D, Persson P, et al. Calprotectin and neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the differentiation of pre-renal and intrinsic acute kidney injury. *Acta Physiol (Oxf)*. 2013;207(4):700-8. Epub 2013/01/23.
114. Mehta RL, Kellum JA, Shah SV, Molitoris BA, Ronco C, Warnock DG, et al. Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury. *Crit Care*. 2007;11(2):R31. Epub 2007/03/03.
115. Katashima T, Naruko T, Terasaki F, Fujita M, Otsuka K, Murakami S, et al. Enhanced expression of the S100A8/A9 complex in acute myocardial infarction patients. *Circulation journal : official journal of the Japanese Circulation Society*. 2010;74(4):741-8. Epub 2010/03/02.
116. Hara M, Ando M, Morito T, Nokiba H, Iwasa Y, Tsuchiya K, et al. S100A12 gene expression is increased in peripheral leukocytes in chronic kidney disease stage 4-5 patients with cardiovascular disease. *Nephron Clinical practice*. 2013;123(3-4):202-8. Epub 2013/08/08.
117. Gawdzik J, Mathew L, Kim G, Puri TS, Hofmann Bowman MA. Vascular remodeling and arterial calcification are directly mediated by S100A12 (EN-RAGE) in chronic kidney disease. *American journal of nephrology*. 2011;33(3):250-9. Epub 2011/03/05.
118. Ortega FJ, Sabater M, Moreno-Navarrete JM, Pueyo N, Botas P, Delgado E, et al. Serum and urinary concentrations of calprotectin as markers of insulin resistance and type 2 diabetes. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 2012;167(4):569-78. Epub 2012/07/24.
119. Kosaki A, Hasegawa T, Kimura T, Iida K, Hitomi J, Matsubara H, et al. Increased plasma S100A12 (EN-RAGE) levels in patients with type 2 diabetes. *The Journal of clinical endocrinology and metabolism*. 2004;89(11):5423-8. Epub 2004/11/09.
120. Health USNlo. U.S. National Institutes of Health; 2013 [cited 2013 17.12.2013]; Available from: <http://clinicaltrials.gov/ct2/results?term=Doubling+of+Serum+Creatinine&Search=Search>.
121. Gruberg L, Mintz GS, Mehran R, Gangas G, Lansky AJ, Kent KM, et al. The prognostic implications of further renal function deterioration within 48 h of interventional coronary procedures in patients with pre-existent chronic renal insufficiency. *Journal of the American College of Cardiology*. 2000;36(5):1542-8. Epub 2000/11/18.
122. Westin GG, Armstrong EJ, Bang H, Yeo KK, Anderson D, Dawson DL, et al. Association Between Statin Medications and Mortality, Major Adverse Cardiovascular Event, and Amputation-Free Survival Rates in Patients with Critical Limb Ischemia. *Journal of the American College of Cardiology*. 2013. Epub 2013/12/10.
123. Celik T, Kaya MG, Akpek M, Gunebakmaz O, Balta S, Sarli B, et al. Predictive Value of Admission Platelet Volume Indices for In-hospital Major Adverse Cardiovascular Events in Acute ST-Segment Elevation Myocardial Infarction. *Angiology*. 2013. Epub 2013/12/05.

Anhang

Anhang 1: Aufklärungsbogen

**Patienteninformation**

- Version vom 17.07.2009 -

CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
 CAMPUS CHARITÉ MITTE
 CENTER FOR CARDIOVASCULAR RESEARCH
 AG PROF. DR. MED. B. HOCHER
 HESSISCHE STR. 3-4 | 10115 BERLIN
 FON (030) 450 – 514 236/ -238
 FAX (030) 450 – 514 938

**Die Identifizierung von prädiktiven Biomarkern oder Proteommustern in Serum
 und Urin für das Auftreten und die Prognose des kontrastmittelinduzierten
 akuten Nierenversagens**

**Sehr geehrte Patientin,
 sehr geehrter Patient,**

dieses Informationsblatt unterrichtet Sie, worum es bei der oben genannten Untersuchung geht und worauf besonders zu achten ist. Bitte lesen Sie die beiliegende Information sorgfältig, für weitere Fragen stehen wir Ihnen selbstverständlich gerne zur Verfügung.

Es wird ausdrücklich darauf hingewiesen, dass die Teilnahme an der hier geplanten Studie freiwillig ist und für Sie keinerlei Nachteile entstehen, wenn Sie sich gegen eine Teilnahme entscheiden.

Wer führt die Studie durch?

Leiter dieser Studie ist PROF. DR. MED. B. HOCHER (Charité, Center for Cardiovascular Research), weitere Studienärzte sind PD DR. MED. TH. DSCHIETZIG (Charité, Medizinische Klinik mit Schwerpunkt Kardiologie und Angiologie) und DR. MED. M. ALTER (Charité, Center for Cardiovascular Research). Die Studie findet in Kooperation mit PROF. DR. F. SCHWEIGERT (Universität Potsdam, Lehrstuhl für Physiologie und Pathophysiologie der Ernährung, A.-Scheunert-Allee 114-116, 14558 Rehbrücke bei Potsdam) statt.

Warum soll diese Untersuchung durchgeführt werden?

Wir möchten Messwerte in Blut und Urin finden und erkennen können, die uns das Eintreten und den Verlauf eines Nierenversagens vorhersagen, wie es als Komplikation eines Herzkathetereingriffs auftreten kann.

Was wissen bzw. vermuten wir zurzeit?

Das akute Nierenversagen ist eine häufige Komplikation nach Untersuchungen und Eingriffen, bei denen Röntgen-Kontrastmittel verabreicht wird. Bei einem akuten Nierenversagen handelt es sich um eine schnell eintretende Nierenfunktionsverschlechterung, die im ungünstigen Fall zu zeitweiligen bis lebenslänglichen Dialysebehandlungen oder zum Tode führen kann. Insbesondere bei Patienten, die unter einem Diabetes oder einer vorbestehenden eingeschränkten Nierenfunktion leiden, können

PATIENTENINFORMATION | VERSION VOM 17.07.2009

DIE IDENTIFIZIERUNG VON PRÄDIKTIVEN BIOMARKERN ODER PROTEOMMUSTERN IN SERUM UND URIN FÜR DAS AUFTRETEN UND DIE
 PROGNOSE DES KONTRASTMITTELINDUZierten AKUTEN NIERENVERSAGENS

sich hieraus aufwendige und verlängerte Krankenhausaufenthalte und weitere schwerwiegende Komplikationen ergeben. Daraus wird ersichtlich, dass die Vorbeugung eines kontrastmittelverursachten Nierenversagens einen hohen Stellenwert für die Prognose der Betroffenen hat. Im klinischen Alltag nimmt die Bedeutung des kontrastmittelverursachten Nierenversagens stetig zu, da einerseits in einer alternden Gesellschaft die Häufigkeit von Diabetes und Niereninsuffizienz zunimmt, andererseits durch den medizinischen Fortschritt die Anzahl an kontrastmittelbasierten Untersuchungen und Eingriffen steigt.

Was sind unsere Ziele?

Die Entstehung eines kontrastmittelverursachten Nierenversagens ist recht komplex und noch nicht endgültig geklärt. Trotz zahlreicher Untersuchungen gibt es noch immer viele offene Fragen, wenngleich auch Konsens in vielen Aspekten erzielt werden konnte. Die Zielsetzung dieses Projekts besteht in der Identifizierung von Biomarkern bzw. Proteommustern im menschlichen Blut und Urin, das heißt chemischen Bestandteilen, die als Blut- oder Urin-Messwerte verwendet werden können, um das Risiko für ein Nierenversagen nach Kontrastmittelgabe vorherzusagen und eine Abschätzung über den weiteren Verlauf zu geben. So könnten diese Messwerte als wichtige diagnostische Werkzeuge im klinischen Alltag eingesetzt und als entscheidende Wegweiser in der Vorbeugung und Therapie des kontrastmittelverursachten Nierenversagens dienen.

Welche Untersuchungen werden durchgeführt?

Es werden insgesamt jeweils fünf Blut- und Urinproben (paarweise) abgenommen: Eine Abnahme erfolgt noch vor der Herzkatheteruntersuchung, die weiteren vier erfolgen 24 Stunden, 48 Stunden, 72 Stunden und ca. drei Monate nach der Untersuchung. Bis auf die letzte Abnahme (drei Monate nach Untersuchung) erfolgen sämtliche Blutentnahmen im Rahmen der sowieso erfolgenden morgendlichen Routine-Blutentnahmen auf Station. Zum Sammeln der Urinproben werden Ihnen entsprechende Gefäße bereitgestellt. Die gewonnenen Proben werden anschließend chemisch und physikalisch auf ihre Zusammensetzung untersucht. Darüberhinaus werden einige wenige Angaben zu Ihrer Person (Alter, Geschlecht, Herkunft, ggf. Vorerkrankungen, Erkrankungen der Eltern und Großeltern, ggf. eingenommene Medikamente) sowie zu Ihrem jetzigen Krankheitsverlauf erhoben. **Nach drei Monaten erfolgt eine abschließende Überprüfung** mittels einer Blut- und Urinprobe sowie der Auswertung Ihres Krankheitsverlaufs bezüglich der Länge Ihres/ r Krankenhausaufenthalts/ e, dem Verlauf Ihrer Nierenfunktion, ggf. der Anzahl der erforderlichen Dialysebehandlungen und Versterben. **Hierzu werden wir uns erneut bei Ihnen melden.**

Die während der Studie gewonnenen Blut- und Urinproben werden an die Arbeitsgruppe von PROF. DR. F. SCHWEIGERT (Universität Potsdam, Lehrstuhl für Physiologie und Pathophysiologie der Ernährung) weitergegeben, welche weitere Untersuchungen hierzu durchführt. Die weitergegebenen Proben sind lediglich mit einer Nummer beschriftet (Pseudonymisierung), sodass die dortigen Mitarbeiter keinen Zugriff auf Ihren Namen oder Ihre persönlichen Daten haben. **Es wird darauf hingewiesen, dass mit dem Probenmaterial keine anderen Untersuchungen als die im Studienziel genannten geplant bzw. durchgeführt werden. Durch die Teilnahme an der Studie entsteht kein zusätzliches Risiko für Sie.**

PATIENTENINFORMATION | VERSION VOM 17.07.2009

DIE IDENTIFIZIERUNG VON PRÄDIKTIVEN BIOMARKERN ODER PROTEOMMUSTERN IN SERUM UND URIN FÜR DAS AUFTRETEN UND DIE
2
PROGNOSE DES KONTRASTMITTELINDUZIERTEN AKUTEN NIERENVERSAGENS

Welche Vorkehrungen werden zum Datenschutz getroffen?

Die im Rahmen dieser Studie gewonnenen Daten werden von Personen erhoben und verschlüsselt, die der **ärztlichen Schweigepflicht** unterstehen. Verantwortlich für die Datenerhebung sind PROF. DR. B. HOCHER, PD DR. TH. DSCHIETZIG und DR. M. ALTER. Unter der obenstehenden Anschrift können Sie jederzeit Kontakt zu den Studienleitern aufnehmen. Zweck der Studie ist die Identifizierung von Messwerten in Blut und Urin, die uns das Eintreten und den Verlauf eines Nierenversagens vorher-sagen.

Die während der Studie gewonnenen Blut- und Urinproben werden **pseudonymisiert**, das heißt nur mit einer Codenummer beschriftet, sodass zunächst kein Bezug zu Ihnen hergestellt werden kann. Erst mithilfe einer passwortgeschützten Datei, die einen Code enthält, kann ein Bezug zwischen Patient und Material hergestellt werden. Dieses Vorgehen stellt die ärztliche Schweigepflicht sicher und verhindert, dass sich Unberechtigte Zugang zu Ihren medizinischen Daten verschaffen.

Die an die Universität Potsdam weitergegebenen Proben enthalten nicht Ihren Namen oder persönlichen Daten, sondern sind lediglich mit einer Codenummer (Pseudonymisierung) beschriftet. Auf den Codeschlüssel, der es erlaubt, die Proben mit Ihnen in Verbindung zu bringen, haben nur der Studienarzt und seine Mitarbeiter Zugriff, nicht aber die Mitarbeiter der Universität Potsdam. So möchten wir sicherstellen, dass Ihre patientenbezogene Daten maximal vertraulich behandelt werden.

Die im Rahmen der geplanten Untersuchung gewonnenen Ergebnisse sind primär wissenschaftlicher Natur und haben in keinem Fall für Sie persönlich irgendeine Konsequenz. Es entstehen Ihnen keine Nachteile, wenn Sie sich gegen die Teilnahme an der Studie entscheiden. Sollten Sie unabhängig davon an den Ergebnissen der Untersuchungen interessiert sein, können Sie die Informationen unter der obenstehenden Adresse schriftlich erfragen. Bitte beachten Sie, dass die Ergebnisse der Studie in der medizinischen Fachliteratur veröffentlicht werden können, wobei Ihre Identität jedoch anonym bleibt.

Das von Ihnen gewonnene Probenmaterial (Blut und Urin) wird **bis einschließlich 2020** im *Center for Cardiovascular Research/* Institut für Pharmakologie und Toxikologie der Charité Berlin von Prof. Dr. B. Hocher archiviert und **danach vernichtet**.

Als Studienteilnehmer haben Sie das Recht, dass Sie auch nach vorheriger Einwilligung zur Teilnahme an der Studie jederzeit ohne Angabe eines Grundes von der Studienteilnahme zurücktreten und die Vernichtung der bereits gewonnenen Blut- und Urinproben, einschließlich der Kurzdokumentation, verlangen können. Sie haben das Recht auf Auskunft über alle beim Studienarzt vorhandenen personenbezogenen Daten über Sie. Sie haben auch das Recht auf Berichtigung unrichtiger personenbezogener Daten. In diesen Fällen wenden Sie sich bitte an den Studienarzt. Die Adresse des Studienverantwortlichen/ Studienarztes finden Sie in der Kopfzeile dieses Formblatts.

Die Beachtung des Bundesdatenschutzgesetzes ist in vollem Umfang sichergestellt. Bitte fragen Sie, wenn Sie etwas nicht verstanden haben oder wenn Sie mehr über die Untersuchungen wissen möchten. **Fragen Sie bitte bei allem nach, was Ihnen wichtig erscheint.**

PATIENTENINFORMATION | VERSION VOM 17.07.2009

DIE IDENTIFIZIERUNG VON PRÄDIKTIVEN BIOMARKERN ODER PROTEINMUSTERN IN SERUM UND URIN FÜR DAS AUFTRETEN UND DIE PROGNOSE DES KONTRASTMITTELINDUZIERTEN AKUTEN NIERENVERSAGENS

Anhang 2: Anamnesebogen



Anamnesebogen

CIN-Studie

CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
 CAMPUS CHARITÉ MITTE
 CENTER FOR CARDIOVASCULAR RESEARCH
 AG PROF. DR. MED. B. HOCHER
 HESSISCHE STR. 3-4 | 10115 BERLIN
 FON (030) 450 – 514 236/ -238
 FAX (030) 450 – 514 938

SEITE 1

ID	Namen Geburtsdatum	Datum
Größe Gewicht BMI (errechnet)	Anschrift, <u>Rufnummer(n)</u>	
Datum Follow-Up		
Ethnic <input type="checkbox"/> Caucas. <input type="checkbox"/> Asia <input type="checkbox"/> Black <input type="checkbox"/> Andere: Geschlecht (<u>m</u> <u>w</u>) Alter Interviewer	Hausarzt <u>Anschrift, Rufnummer</u>	

Eigenanamnese (Erkrankungen und Medikamente):

Ggf. Rückseite verwenden; bitte „(u)“ kennzeichnen, wenn unbekannt, kein Kreuz = nein! Unterstrichene Fragen sind obligat.

aktuell: (Indikation)	<input type="checkbox"/> elektiv <input type="checkbox"/> notfallmäßig (u)
Herz-Kreislauf (VHF, Interventionen, sonstiges?)	<input type="checkbox"/> KHK (u) <input type="checkbox"/> AVK (u) <input type="checkbox"/> art. HT (u) <input type="checkbox"/> Herz-Insuff. (u) <input type="checkbox"/> MI (u) <input type="checkbox"/> Apoplex (u)
Pulmo (Asthma, COPD, Malignome?)	
Diabetes mellitus (bisherige Th., sonstiges)	<input type="checkbox"/> Typ I <input type="checkbox"/> Typ II (u) <input type="checkbox"/> Adipositas (u) aktuelle Therapie: <input type="checkbox"/> keine <input type="checkbox"/> Diät <input type="checkbox"/> oral <input type="checkbox"/> Insulin (u) <u>ED:</u> <u>HbA1C:</u>
Metabolisch (Thyreose, sonstiges)	<input type="checkbox"/> HLP (u) <input type="checkbox"/> Dyslipidämie (u) <input type="checkbox"/> Hyperurikämie (u) Adipositas <input type="checkbox"/> Prä <input type="checkbox"/> I° <input type="checkbox"/> II° <input type="checkbox"/> III° (u)
Ren (Zysten, Autoimmun, NTx, sonstiges)	<input type="checkbox"/> ANV in Anamn. (u) GFR n. <input type="checkbox"/> MDRD <input type="checkbox"/> Cockcroft <input type="checkbox"/> SU <input type="checkbox"/> sonstige: <u>NI ED:</u> <u>Genese:</u> <u>Krea:</u> <u>GFR:</u>
GI-Trakt (Leber- zirrhose, sonst.)	
sonstiges (Genussmittel, sonst. Erkrankungen)	<input type="checkbox"/> Alkohol (u) <input type="checkbox"/> Nikotin (u) <input type="checkbox"/> EX-Nikotin (u) <u>Packyears:</u>
aktuelle Medikation	

ANAMNESEBOGEN | SEITE 1

DIE IDENTIFIZIERUNG VON PRÄDIKTIVEN BIOMARKERN ODER PROTEOMMUSTERN IN SERUM UND URIN FÜR DAS AUFTRETEN UND DIE
 PROGNOSE DES KONTRASTMITTELINDUZIERTEN AKUTEN NIERENVERSAGENS (CIN-STUDIE)



Anamnesebogen

CIN-Studie

CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
CAMPUS CHARITÉ MITTE
CENTER FOR CARDIOVASCULAR RESEARCH
AG PROF. DR. MED. B. HOCHER
HESSISCHE STR. 3-4 | 10115 BERLIN
FON (030) 450 – 514 236/ -238
FAX (030) 450 – 514 938

SEITE 2

ID	Namen Geburtsdatum	Datum
----	----------------------	-------

Renales Scoring:

<p><u>Hypotension*</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Intra-aortaler Ballon</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Stauungsherz-Insuffizienz</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Alter</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Anämie*</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Diabetes mellitus</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Kontrastmittel-Volumen</u> <input type="checkbox"/></p> <p><u>Serum-Krea</u> <input type="checkbox"/></p>	3	<p><i>Risk Factors</i></p> <p>Hypotension <input type="checkbox"/> 5</p> <p>IABP <input type="checkbox"/> 5</p> <p>CHF <input type="checkbox"/> 5</p> <p>Age >75 years <input type="checkbox"/> 4</p> <p>Anemia <input type="checkbox"/> 3</p> <p>Diabetes <input type="checkbox"/> 3</p> <p>Contrast media volume <input type="checkbox"/> 1 for each 100 cc³</p> <p>Serum creatinine >1.5mg/dl <input type="checkbox"/> 4</p> <p>OR</p> <p>eGFR <60 ml/min/1.73 m² <input type="checkbox"/> 4 for 20 - 40</p> <p><small>eGFR (ml/min/1.73 m²) = 186 x (SCr)^{-1.154} x (Age)^{0.202} x (0.742 if female) x (1.210 if African American)</small></p> <p>6 for < 20</p>	<p><i>Integer Score</i></p> <p>5</p> <p>5</p> <p>5</p> <p>4</p> <p>3</p> <p>3</p> <p>1 for each 100 cc³</p> <p>4</p> <p>2 for 40 - 60</p> <p>4 for 20 - 40</p> <p>6 for < 20</p>	<p>Calculate</p> <table border="1"> <thead> <tr> <th>Risk Score</th> <th>Risk of CIN</th> <th>Risk of Dialysis</th> </tr> </thead> <tbody> <tr> <td>≤ 5</td> <td>7.5%</td> <td>0.04%</td> </tr> <tr> <td>6 to 10</td> <td>14.0%</td> <td>0.12%</td> </tr> <tr> <td>11 to 16</td> <td>26.1%</td> <td>1.09%</td> </tr> <tr> <td>≥ 16</td> <td>57.3%</td> <td>12.6%</td> </tr> </tbody> </table>	Risk Score	Risk of CIN	Risk of Dialysis	≤ 5	7.5%	0.04%	6 to 10	14.0%	0.12%	11 to 16	26.1%	1.09%	≥ 16	57.3%	12.6%
Risk Score	Risk of CIN	Risk of Dialysis																	
≤ 5	7.5%	0.04%																	
6 to 10	14.0%	0.12%																	
11 to 16	26.1%	1.09%																	
≥ 16	57.3%	12.6%																	
Summe:		Risiko:																	

Hypotension: systolic blood pressure <80 mm Hg for at least 1 h requiring inotropic support with medications or intra-aortic balloon pump (IABP) within 24 h periprocedurally | **Anämie:** baseline hematocrit value <39% for men and <36% for women

Kontrastmittel Volumen: Art: Applikation:

Nephroprotektion Wässerung nein | ja (u). Menge: Dosierung:
Medikation ACC | Ca-Antag.* | Theophyllin (u) | sonst.:

Weiterer stationärer Verlauf:

Krea b. Aufn.	1. Tag n. Coro	2. Tag n. Coro	3. Tag n. Coro	4. Tag n. Coro	5. Tag n. Coro
	6. Tag n. Coro	7. Tag n. Coro	8. Tag n. Coro	9. Tag n. Coro	10. Tag n. Coro
BEs Anzahl	BE vor Coro	BE 24 Std.	BE 48 Std.	BE 72 Std.	BE 3 Mo.
Urin Anzahl	Urin vor Coro	Urin 24 Std.	Urin 48 Std.	Urin 72 Std.	Urin 3 Mo.
ANV stat (ja/ nein)	ITS Aufn.-Datum	ITS Dauer	Tod Datum	Dialyse Dauer/Anz.	Entlassbrief (j/ n)

Krea in mg/dl (falls mmol/l, bitte kennzeichnen) | **BE und Urin:** Probennummer eintragen. Falls Zeiten abweichen, bitte kennzeichnen | **ITS Aufnahme-/ Tod-Datum:** Falls kein ITS-Aufenthalt, bitte kennzeichnen | **ANV:** Krea $\hat{=}$ $\geq 0,5$ mg/dl oder HSt $\hat{=}$ ≥ 50 mg/dl od. Oligurie.

ITS-Indikation:
(streichen, falls keine ITS)

Aufnahme Datum	Entlassung Datum	Aufenthalt Dauer
-----------------------	-------------------------	-------------------------

ANAMNESEBOGEN | SEITE 2

DIE IDENTIFIZIERUNG VON PRÄDIKTIVEN BIOMARKERN ODER PROTEOMMUSTERN IN SERUM UND URIN FÜR DAS AUFTRETEN UND DIE PROGNOSE DES KONTRASTMITTELINDUZIERTEN AKUTEN NIERENVERSAGENS (CIN-STUDIE)



Anamnesebogen

CIN-Studie

 CHARITÉ – UNIVERSITÄTSMEDIZIN BERLIN
 CAMPUS CHARITÉ MITTE
 CENTER FOR CARDIOVASCULAR RESEARCH
 AG PROF. DR. MED. B. HOCHER
 HESSISCHE STR. 3-4 | 10115 BERLIN
 FON (030) 450 – 514 236/ -238
 FAX (030) 450 – 514 938

FOLLOW UP | SEITE 3

ID	Namen Geburtsdatum	Datum Follow Up
----	----------------------	-----------------

Follow Up

Interviewer:

ANV (ja nein)	ANV Datum	ANV Verlauf*	Term NI (ja nein)	Dialyse Anzahl	Dialyse Art*
Anamnese Quelle*	FA durch:	Vermutliche Genese ANV			

*ANV Verlauf: vollst. reversibel (1), Restschaden (2), temporäre (3) oder permanente (4) Dialysepflichtigkeit resultierend, sonstige:

*Dialyse Art: Hämodialyse (HD), Peritonealdialyse (PD), sonstige:

*Quelle: Eigenanamnese (EA), Fremdanamnese (FA), Hausarzt (HA), Entlassbriefe (B), sonstige:

Eher progredientes NV statt ANV?:

Kommentare/ Ergänzungen:

Krea b. Follow up	GFR b. Follow up	Khs-Aufenthalte	Tod Datum	Tod Ursache
-------------------	------------------	-----------------	-----------	-------------

GFR nach Cockcroft | MDRD | SU | sonstige:

Krea-Verlauf:

Krankenhausaufenthalte:

(Anzahl, jw, Dauer, Indikationen)

Kommentare/ Ergänzungen:

Anhang 3: Tabellen

Dialyse					
Parameter	Nein (n=290)		Ja (n=11)		p-Wert
	Median(SW)	MW±SD	Median(SW)	MW±SD	M-W-U
S100a12 vor KM(ng/ml)	0,44 (0,00-285,59)	16,52 ±47,61	0,79 (0,00-260,96)	27,70 ±77,72	0,311
normiertes S100a12 vor KM	0,06 (0,00-101,35)	3,20 ±11,20	0,20 (0,00-199,71)	19,46 ±59,83	0,125
S100a12 24h nach KM(ng/ml)	0,56 (0,00- 366,79)	18,77 ±50,34	3,28 (0,00-192,65)	36,59 ±71,53	0,271
normiertes S100a12 24h nach KM	0,70 (0,00- 125,17)	3,62 ±13,27	1,03 (0,00-159,63)	16,62 ±47,70	0,164
Verlauf S100a12 KM (ng/ml)	0,00 (-261,84- +211,58)	1,19 ±37,01	0,11 (-68,31- +167,25)	8,89 ±56,63	0,414
Verlauf normiertes S100a12	0,00 (-36,75- 48,53)	0,37 ±6,94	0,00 (-40,07-17,06)	-2,84 ±13,61	0,489

Tab. Anhang 1 S100a12-Konzentration, Vergl. Patienten mit Endpunkt „Dialyse“ und ohne

[SW:Spannweite, MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Dialyse					
Parameter	Nein (n=290)		Ja (n=11)		p-Wert
	Median(SD)	MW±SD	Median	MW±SD	M-W-U
Calprotectin vor KM(ng/ml)	62,93 (0,17-4200)	374,84 ±834,19	60,79 (12,22- 4200)	818,20 ±1404,45	0,296
normiertes Calprotectin vor KM	8,98 (0,01- 753,57)	59,19 ±128,22	22,32 (1,06- 3214,18)	418,07 ±952,84	0,072
Calprotectin 24h nach KM (ng/ml)	57,14 (0,17- 4200)	375,73 ±845,74	105,04 (5,42- 4200)	530,13 ±1241,12	0,629
normiertes Calprotectin 24h nach KM	7,02 (0,01- 1589,83)	60,19 ±173,32	16,92 (0,53- 3480,23)	336,23 ±1043,03	0,252
Verlauf Calprotectin (ng/ml)	0,00 (-4141,07- 3890,20)	-0,70 ±845,88	-1,96 (-2695,22- 830,15)	-288,08 -911,10	0,420
Verlauf normiertes Calprotectin	-0,57 (-672,85- 953,73)	-0,19 ±144,10	-3,82 (-696,58- 266,05)	-81,83 ±250,58	0,541

Tab. Anhang 2 Calprotectin-Konzentration, Vergl. Patienten mit Endpunkt „Dialyse“ und ohne

[SW: Spannweite, MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

weitere Krankenhausaufenthalte					
Parameter	Nein (n=223)		Ja (n=43)		p-Wert M-W-U
	Median(SW)	MW±SD	Median(SW)	MW±SD	
S100a12 vor KM(ng/ml)	0,36 (0,00-285,59)	15,72 ±48,36	1,09 (0,00-168,59)	13,53 ±34,28	0,077
normiertes S100a12 vor KM	0,06 (0,00-199,71)	3,82 ±16,69	0,16 (0,00- 18,55)	1,73 ±4,02	0,154
S100a12 24h nach KM (ng/ml)	0,54 (0,00- 366,79)	17,25 ±49,11	0,78 (0,00-172,16)	19,39 ±44,61	0,917
normiertes S100a12 24h nach KM	0,05 (0,00-159,63)	3,82 ±16,50	0,09 (0,00-51,01)	3,67 ±9,68	0,609
Verlauf S100a12 (ng/ml)	0,00 (-261,84- +211,58)	0,78 ±37,52	0,00 (-136,24- +167,25)	6,31 ±44,42	0,879
Verlauf normiertes S100a12	0,00 (-40,07- 48,53)	-0,10 ±7,39	0,00 (-15,71-32,82)	2,00 ±8,45	0,953

Tab. Anhang 3 S100a12-Konzentration, Vergl. Patienten mit Endpunkt „weitere Krankenhausaufenthalte“ und ohne

SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test

weitere Krankenhausaufenthalte					
Parameter	Nein (n=223)		Ja (n=43)		p-Wert M-W-U
	Median(SW)	MW±SD t	Median(SW)	MW±SD	
Calprotectin vor KM (ng/ml)	58,63 (0,17- 4200)	360,27 ±810,94	81,39 (0,17- 4200)	453,15 ±980,35	0,170
normiertes Calprotectin vor KM	8,48 (0,01- 3214,18)	71,82 ±246,10	11,98 (0,03- 715,37)	68,97 ±147,08	0,346
Calprotectin 24h nach KM (ng/ml)	57,14 (0,165- 4200)	338,97 ±788,52	45,33 (0,17- 4200)	355,47 ±742,20	0,877
normiertes Calprotectin 24h nach KM 24h nach KM	7,12 (0,01- 3480,23)	63,64 ±268,91	8,53 (0,01- 3480,23)	58,52 ±129,01	0,402
Verlauf Calprotectin (ng/ml)	0,00 (-4141,07- 3860,20)	-27,98 ±809,74	-10,00 (-3232,00- 3588,24)	-89,41 ±1008,71	0,422
Verlauf normiertes Calprotectin	-1,23 (-672,85-725,08)	-10,26 ±136,30	-0,64 (-696,58- 641,87)	-9,09 ±161,75	0,591

Tab. Anhang 4 Calprotectin-Konzentration, Vergl. Patienten mit Endpunkt „weitere Krankenhausaufenthalte“ und ohne

[SW: Spannweite, MW ± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Tod					
Parameter	Nein (n=293)		Ja (n=8)		p-Wert
	Median(SW)	MW±SD	Median(SW)	MW±SD	
S100a12 vor KM (ng/ml)	0,45 (0,00-285,59)	16,38 ±47,39	3,55 (0,00-260,96)	36,85 ±90,74	0,406
normiertes S100a12 vor KM	0,065 (0,00- 101,35)	3,20 ±11,15	0,42 (0,00- 199,71)	25,73 ±70,31	0,276
S100a12 24h nach KM (ng/ml)	0,55 (0,00- 366,79)	19,02 ±50,84	10,05 (0,00-192,65)	33,94 ±65,39	0,087
normiertes S100a12 24h nach KM	0,065 (0,00- 125,17)	3,63 ±13,23	1,21 (0,00- 159,63)	21,13 ±55,99	0,106
Verlauf S100a12 (ng/ml)	0,00 (-261,84- +211,58)	2,27 ±38,05	0,13 (-68,31- +22,83)	-2,92 ±28,03	0,615
Verlauf normiertes S100a12	0,00 (-36,75- 48,53)	0,38 ±6,98	0,0093 (-40,07- 2,10)	-4,60 ±14,38	0,915

Tab. Anhang 5 S100a12-Konzentration, Vergl. Patienten mit Endpunkt „Tod“ und ohne

[SW: Spannweite, MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Tod					
Parameter	Nein (n=293)		Ja (n=8)		p-Wert
	Median(SW)	MW±SD	Median(SW)	MW±SD	
Calprotectin vor KM(ng/ml)	62,25 (0,17-4200)	375,76 ±831,68	117,97 (0,17- 4200)	950,94 ±1619,79	0,317
normiertes Calprotectin vor KM	8,94 (0,01-753,56)	60,59 ±128,86	17,65 (0,07- 3214,18)	501,44 ±1123,32	0,315
Calprotectin 24h nach KM (ng/ml)	56,27 (0,17- 4200)	373,81 ±842,63	135,08 (0,17-4200)	661,36 ±1437,28	0,479
normiertes Calprotectin 24h nach KM	7,30 (0,01- 1589,83)	59,89 ±172,53	17,29 (0,02- 3480,20)	451,34 ±1223,98	0,533
Verlauf Calprotectin (ng/ml)	0,00 (-4141,07- 3860,20)	-3,60 ±845,35	1,59 (-2695,22- 165,20)	-289,58 ±975,02	0,733
Verlauf normiertes Calprotectin	-0,64 (-672,85- 953,73)	-1,90 ±145,07	5,54 (-696,58- 266,05)	-50,10 ±276,88	0,406

Tab. Anhang 6 Calprotectin-Konzentration, Vergl. Patienten mit Endpunkt „Tod“ und ohne

[SW: Spannweite, MW± SD: Mittelwert ± Standardabweichung, M-W-U: Mann-Whitney-U-Test]

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Gina Franziska von Einem, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Eignen sich die Proteine S100a12 und Calprotectin bei kontrastmittelinduziertem Nierenversagen als Biomarker im Urin? –Untersuchung anhand einer prospektiven klinischen Studie“ selbstständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

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

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit der Betreuer, 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

Anteilerklärung an etwaigen erfolgten Publikationen

Gina Franziska von Einem hatte folgenden Anteil an den folgenden Publikationen:

1. Heunisch F, von Einem G, Alter M, Weist A, Dschietzig T, Kretschmer A, et al. Urinary ET-1 excretion after exposure to radio-contrast media in diabetic patients and patients with preexisting mild impaired renal function. Life sciences. 2014. Epub 2014/01/16.

Beitrag im Einzelnen: Datenerhebung, Statistik, Recherche

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Lebenslauf

Gina-Franziska von Einem

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

Publikationsliste

1. Heunisch F, von Einem G, Alter M, Weist A, Dschietzig T, Kretschmer A, et al. Urinary ET-1 excretion after exposure to radio-contrast media in diabetic patients and patients with preexisting mild impaired renal function. Life sciences. 2014. Epub 2014/01/16.
2. von Einem G, Denecke T, Grieser C, Glanemann M, Andreou A, et al. Stump Appendicitis: Does it occur more frequently after laparoscopic or conventional appendectomy?-Report of a case. The Open Surgery Journal. 2011,5, 19-23

Danksagung

Mein besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr.med. Berthold Hoher für den Grundstein dieser Arbeit. Er war mit seinem einmaligen Engagement stets für mich erreichbar und hat mir geduldig beratend zur Seite gestanden. -Seine besten Lehrer vergisst man nie.

Des Weiteren danke ich Herrn Dr. med. Markus Alter für die Betreuung in der klinischen Phase der Studie.

Ein großer Dank geht auch an die weiteren Doktoranden der CIN-Studie, die nur in Teamarbeit erstellt werden konnte. Im Besonderen danke ich Fabian Heunisch für die Motivation, die Wochenenden vor den Tiefkühlern, die gemeinsame penetrant pedantische Arbeitsweise bei der Sortierung der Proben und Eingabe der Daten, sowie für die zahllosen, zielführenden telefonischen Diskussionen.

Zu danken ist auch den weiteren Mitgliedern der AG Pfab, für die Geduld in den Besprechungen und die stetige Hilfsbereitschaft, denn es scheitert ja bekanntlich oft an den kleinen Dingen.

Ein weiterer Dank geht an das Pflegepersonal der kardiologischen Stationen 132 und 133 der Berliner Charité Campus Mitte.

Zu besonderem Dank verpflichtet bin ich Michael Janietz und Heike Frank, die mich auch in angespannter und gestresster Laune ertrugen und mich mit Korrekturen und hilfreichen Hinweisen bei der Erstellung dieser Arbeit unterstützten.

Nicht zuletzt gilt ein tiefer Dank meiner Mutter und meinem Vater, ohne deren seelische und finanzielle Unterstützung diese Arbeit nicht entstanden wäre.

*Wenn einer, der mit Mühe kaum
gekrochen ist auf einen Baum,
Schon meint, daß er ein Vogel wär,
So irrt sich der.*

Wilhelm Busch (1832 - 1908), aus: Hernach (1908) - Der fliegende Frosch.